

ACUMULACIÓN INTRACELULAR DE TREHALOSA EN *Saccharomyces cerevisiae* BAJO LIMITACION POR FUENTES DE NITROGENO Y CARBONO.

Juan Aranda⁽¹⁾, Patricia Taillandier⁽²⁾, Jean-Pierre Riba⁽²⁾.

- (1) Departamento de Bioingeniería, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del IPN, México.
Av. Acueducto de Guadalupe s/n, Barrio La Laguna Ticomán, G.A. Madero, México D.F., C.P. 07340.
Teléfono/Fax 57 29 60 00 ext 56 338, jaranda@acei.upibi.ipn.mx.
- (2) Groupe Fermentations et Bioréacteurs, Ecole Nationale Supérieure d'Ingénieurs de Génie Chimique, Institut National Polytechnique de Toulouse, France.
18, Chemin de la loge, 31078 Toulouse Cedex 04, Francia.

Introducción. La trehalosa es un dímero de glucosa sintetizado en el citoplasma de *Saccharomyces cerevisiae* a partir de la glucosa-6-fosfato (G-6-P) y de la uridin-difosfo-glucosa (UDPG). La trehalosa tiene dos funciones en la célula [1], la de carbohidrato de reserva y la de protector contra la deshidratación. Durante la producción de levadura viable, el secado reduce el número de células viables en el producto final (levaduras secas activas, LSA). La función termoprotectora de la trehalosa tiene un potencial interés en la producción de LSA puesto que un alto contenido intracelular de trehalosa (12 %) permite a las células resistir mejor las condiciones de secado, y por lo tanto aumenta la fracción de células viables en la LSA. Por esta razón debe buscarse que el proceso de producción de biomasa se realice bajo condiciones de cultivo que favorezcan la acumulación intracelular de la trehalosa. Se ha puesto de manifiesto, en experimentos realizados en matraz, que la acumulación de trehalosa se intensifica cuando el cultivo celular se limita en ciertos substratos [2]. Sin embargo, pocos trabajos han sido efectuados en condiciones similares a las establecidas en cultivos celulares a escala mayor.

En este trabajo se exploraron las condiciones de suministro de substratos (fuente de N y C) en cultivos celulares por lote alimentado, bajo las cuales se incrementa la fracción de trehalosa en las células durante un proceso de producción de biomasa.

Metodología. Los experimentos realizados consistieron en cultivos de *S. cerevisiae* por lote alimentado en los que se suspendió el suministro de la fuente de N o C (según el experimento) a un determinado tiempo del cultivo. Los cultivos fueron hechos maximizando la producción de biomasa, de manera similar a los protocolos empleados en los procesos industriales de producción de levadura. En cada cultivo celular se midieron en el medio de cultivo la concentración de glucosa, etanol, biomasa y la concentración intracelular de trehalosa. Se utilizaron para todos los cultivos celulares una cepa industrial producida por Lallemand (Francia) y un medio de cultivo sintético.

Resultados y Discusión. En la figura 1 se muestran la evolución de concentraciones de biomasa, glucosa y contenido intracelular de trehalosa en un cultivo limitado por la fuente de nitrógeno. Puede notarse claramente un

incremento significativo de la trehalosa en la célula desde el momento en que se suprime el suministro de la fuente de N.

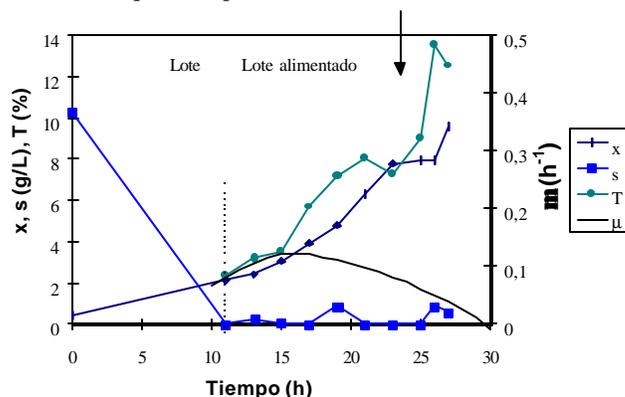


Fig. 1 Cultivo por lote alimentado de *S. cerevisiae* la flecha indica el momento en que se suspende el suministro de N.

Los cultivos efectuados con limitación por la fuente de C (no mostrados) permitieron observar un incremento menos significativo que para el caso de la limitación por nitrógeno.

Conclusiones. La limitación de un cultivo celular (lote alimentado) de levadura por la fuente de N se traduce en un incremento en el contenido intracelular de trehalosa. La supresión de la fuente de N al cultivo celular detiene la producción de biomasa, por lo que debe hacerse cuando se haya alcanzado una concentración celular adecuada. La limitación por fuente de carbono induce una menor respuesta en la acumulación de trehalosa dentro de las células. Las bajas velocidades específicas de crecimiento también parecen favorecer en general una síntesis intensificada de la trehalosa.

Agradecimientos. Este trabajo fue financiado por el Conseil National de la Recherche Scientifique (Francia) y por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (México).

Bibliografía.

- Panek, AD y Panek, AC. (1990). Metabolism and thermotolerance function of trehalose in *Saccharomyces cerevisiae*: a current perspective. *J. Biotech.* 14:229-238.
- Lillie, SH y Pringle, JR. (1980). Reserve carbohydrate metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*: Response to nutrient limitation. *J. Bacteriol.* 143: 1384-1394.