

GENERACION DE FENOTIPOS INDUCIBLES EN *Escherichia coli*: ESTUDIO SOBRE LAS REGIONES DE REGULACION DE LOS OPERONES *xyiAB* Y *xyiFGH*

Montserrat Orencio, Beatriz Palmeros, Francisco Bolívar, Guillermo Gosset. Departamento de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, UNAM. Apdo. Postal 510-3, Cuernavaca Morelos, CP 62210, México. Fax (7) 3 17 23 88 mon@ibt.unam.mx.

Palabras clave: xilosa, *fenotipos inducibles*, *mutaciones condicionales*.

Introducción. Durante el desarrollo o mejoramiento de una cepa, el objetivo que se persigue es lograr dirigir la totalidad o la mayor parte de los flujos de carbono, energía y poder reductor hacia la síntesis del metabolito de interés. Estos cambios en el metabolismo se logran mediante la alteración de los niveles de expresión de genes que codifican para enzimas que participan en el control de flujos metabólicos. Conforme se va logrando redireccionar los flujos de carbono hacia la síntesis de un metabolito específico, se reduce la cantidad de recursos metabólicos necesarios para el crecimiento balanceado de la bacteria. Esta relación inversa entre el rendimiento en la síntesis de un metabolito y la capacidad de crecimiento, será un problema común durante el desarrollo de cepas de producción para cualquier compuesto. La solución que se plantea a este problema es la posibilidad de inducir fenotipos específicos durante el proceso fermentativo de producción. Idealmente, se desearía contar con la posibilidad de eliminar actividades que compitan por precursores para el metabolito de interés mediante la generación de mutaciones condicionales que dependan de una señal que pueda controlarse fácilmente. Para lograr lo anterior, es necesario poder silenciar o encender la expresión de los genes que codifican para enzimas que compiten por substratos con la vía biosintética de interés.

El objetivo general, es realizar un estudio sobre las regiones de regulación de los operones *xyiAB* y *xyiFGH* como elementos de control para generar fenotipos inducibles en *Escherichia coli*.

Metodología. La primera parte de este estudio consistió en realizar un análisis de las secuencias de las regiones de regulación de los operones *xyiAB* y *xyiFGH* de *E. coli*, (*Fig 1*) considerándose los datos existentes sobre los sitios de interacción con la proteína reguladora *xyiR* y la posición de los promotores identificados (1). Con base en este análisis, se definieron las regiones suficientes para mantener la regulación de los promotores por *xyiR*. Estas regiones se aislaron por PCR y se colocaron controlando la expresión del gene *lacZ* de *E.coli*.

Resultados y Discusión. Las construcciones donde *lacZ* se encuentra bajo los promotores de xilosa, fueron transformadas en la cepa XLI Blue y PB103, comprobándose de manera cualitativa la actividad de β -galactosidasa en medio que contenía glucosa y xilosa. Se observó que la expresión de *lacZ* se induce en presencia de xilosa y se reprime en presencia de glucosa, además se observó una mayor fuerza del promotor *XylA* con respecto al promotor *XylF*.

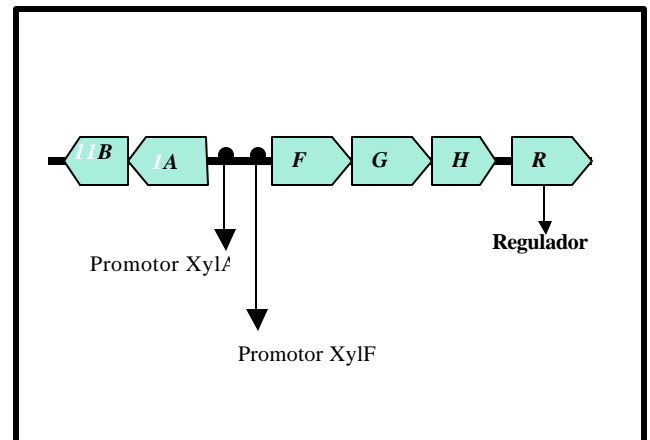


Fig. 1. Operón de xilosa

Conclusiones. De acuerdo a los resultados hasta ahora obtenidos, será posible generar un nuevo vehículo de expresión, el cual permitiría, encender o apagar genes durante un proceso fermentativo de producción.

Agradecimiento. A Mercedes Enzaldo por su asistencia técnica. Este proyecto es financiado por CONACyT con registro número NC-230.

Bibliografía.

1. Song S. Park C. 1997. Organization and Regulation of the D-Xylose Operons in *Escherichia coli* K-12: XylR Acts as a Transcriptional Activator. *J. Bacteriol.* 179:7025-7032