

CO-METABOLISMO DE MEZCLAS DE AZÚCARES POR CEPAS DE *Escherichia coli* INACTIVADAS EN EL SISTEMA DE LA FOSFOTRANSFERASA (PTS).

Verónica Hernández*, Fernando Valle[†], Francisco Bolívar* y Guillermo Gosset*. Genencor International[‡]. Depto. de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, UNAM. 62210 Cuernavaca, Morelos. México. Fax: 01 73 17 23 88. vhm@ibt.unam.mx

Palabras clave: *pentosas, PTS, asimilación simultánea*

Introducción. El uso de mezclas de azúcares derivadas de biomasa como sustrato para cultivos microbianos posee gran interés industrial, biológico y económico, por su precio y disponibilidad. Sin embargo, debido a los sistemas regulatorios que controlan la expresión génica en los microorganismos, estas mezclas no pueden ser asimiladas en forma rápida y eficiente, limitando con ello su uso en procesos fermentativos comerciales. Los mecanismos principales por los cuáles las células seleccionan el orden en el que los azúcares son metabolizados son represión catabólica y exclusión del inductor (1). Esta respuesta es mediada principalmente por una de las enzimas del sistema de la fosfotransferasa (PTS), la enzima IIA^{Glc} (2).

En el presente estudio, caracterizamos la utilización de mezclas de azúcares por una cepa de *E. coli* que carece del sistema PTS (NF9). Esta cepa es capaz de utilizar glucosa (fenotipo PTS^{Glc}) (3) tan rápido como su cepa parental PTS⁺ (PB103) por un mecanismo no-PTS.

Metodología. Los cultivos se realizaron en fermentadores de 1 l de volumen operacional, con condiciones controladas de pH (7), temperatura (37 °C), a 1 vvm y 600 rpm. Utilizando medio mínimo M9 suplementado con 2 g/l de cada azúcar (glucosa, arabinosa y xilosa) ó 1 g/l de cada azúcar para las mezclas.

Resultados y Discusión. Crecimiento y consumo de mezclas de azúcares en cepas PTS⁺ y PTS^{Glc}. Para determinar los parámetros cinéticos de los cultivos con un solo azúcar, se realizaron fermentaciones de las cepas PTS⁺ y PTS^{Glc} en M9 suplementado con uno solo de los tres azúcares. Los parámetros evaluados fueron velocidad específica de crecimiento, consumo específico de sustrato y su conversión en biomasa. Para las mezclas de azúcares utilizadas, la cepa PTS⁺ presenta un claro crecimiento diauxico en cultivos con mezclas de glc-xyl ó glc-ara. Mientras que la mutante PTS^{Glc} presenta un efecto de represión menor al de la cepa silvestre para los cultivos de la mezcla glc-xyl. Por otro lado la curva de crecimiento de esta mutante en cultivos de glc-ara no muestra crecimiento diauxico, sugiriendo consumo simultáneo de ambos azúcares.

Para los cultivos realizados en presencia de los tres azúcares, la cepa silvestre consume secuencialmente glucosa, arabinosa y xilosa. Mientras que la mutante, consume

simultáneamente glucosa y arabinosa, finalmente xilosa es utilizada hasta que arabinosa desaparece del medio.

Experimentos de transporte de xilosa en presencia y ausencia de glucosa con las cepas silvestre y mutante, sugieren de forma importante que el efecto represor de glucosa sobre el consumo de xilosa en la cepa mutante PTS^{Glc} es dependiente de la presencia intracelular de glucosa, sin embargo el mecanismo es desconocido.

Los resultados presentados en este trabajo muestran que la mutante PTS^{Glc} cuando es cultivada en mezclas de azúcares como única fuente de carbono es capaz de asimilarlos simultáneamente manteniendo un alto valor de μ por mayor tiempo que la cepa silvestre. Siendo esta una característica importante para su uso a nivel industrial, ya que el tiempo de fermentación de la mutante es 16% más corto que el de la cepa silvestre.

Conclusiones. En un fondo PTS^{Glc} no se lleva a cabo el efecto de represión catabólica por glucosa sobre el consumo de arabinosa, sin embargo en presencia de mezclas de glucosa-xilosa, aún se presenta cierto grado de represión sobre el consumo de esta pentosa. Pero este efecto represor es menor que el desarrollado por la cepa silvestre y depende de la presencia intracelular de glucosa. La mutante es capaz de co-asimilar mezclas de glucosa y pentosas a la misma velocidad que una cepa silvestre, sin embargo desarrolla una velocidad de crecimiento mayor.

Agradecimiento. Noemí Flores proporcionó las cepas PB103 y NF9. Agradecemos a Georgina Hernández por las determinaciones en HPLC y a Mercedes Enzaldo por su ayuda técnica. Este trabajo fue soportado por CONACYT (25375N) y parcialmente por Genencor Int.

Bibliografía

1. Saier, M.N., Ramseier, T.M., Reizer, J. (1996). Regulation of carbon utilization, *Escherichia coli and Salmonella*. Neidhardt, F.C. (ed. In chief). Cellular Molecular Biology. American Society for Microbiology, Washington, DC. USA p. 1325-1343.
2. Postma PW, Lengeler JW. (1993). Phosphoenolpyruvate. Carbohydrate phosphotransferase system of bacteria. *Microbiol Rev.* 57: 543-594.
3. Flores, N., Xiao, J., Berry, A., Bolívar, F., Valle, F. (1996). Pathway engineering for the production of aromatic compounds in *Escherichia coli*. *Nature* 4:620-623.