

OBTENCIÓN DEL GEN DE LA ERITROSA REDUCTASA EN *Clavispora lusitaniae* CDBB-L-2031

Brenda Angulo-Olguín¹, Alejandro Lara-Meléndez¹, Teresa Ponce-Noyola¹ ¹Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV Zacatenco CDMX CP 07360
banguloo1400@alumno.ipn.mx

Palabras clave: *Clavispora lusitaniae*, Eritrosa reductasa, Eritritol

Introducción. El eritritol es un polialcohol de cuatro carbonos utilizado en la industria alimentaria, farmacéutica y en la biorrefinería. Este metabolito puede sintetizarse de forma química y biotecnológica, este último por levaduras como *Clavispora lusitaniae* (1). *C. lusitaniae* produce diferentes metabolitos como etanol, xilitol y eritritol (2). Sin embargo, para la obtención de este último se sabe que se necesitan dos enzimas clave: eritrosa 4-fosfato quinasa y eritrosa reductasa, a pesar de esto no se encuentra caracterizada la ruta metabólica ni los genes implicados en la misma en *C. lusitaniae* (3). Por lo antes mencionado, el objetivo del presente trabajo es amplificar el gen de la eritrosa reductasa (ER) de *Clavispora lusitaniae* como primer paso en la investigación de su ruta metabólica.

Metodología. Se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica de la secuencia del gen de la eritrosa reductasa en otras levaduras. Con la secuencia obtenida se realizó un blast para localizar un fragmento de secuencia similar en el genoma de *C. lusitaniae*. Con lo anterior se identificó la secuencia putativa del gen de interés. Se prosiguió a hacer el diseño *in silico* de los iniciadores para la amplificación por PCR punto final de dicho gen.

Resultados.

Se obtuvo por análisis bioinformático la secuencia de ER en el genoma de *C. lusitaniae* (Fig. 1)

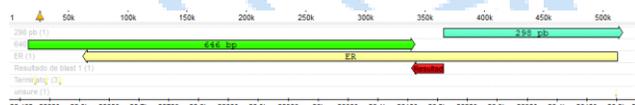


Fig. 1. Secuencia putativa de la ER (amarillo), junto con la secuencia alineada por blast (rojo), la secuencia río arriba (verde) y la secuencia río abajo (azul) de ER *Moniliella megachiliensis*.

Con esta secuencia se diseñaron los iniciadores para amplificar secuencias de este gen (Tabla 1)

Tabla 1. Secuencia de los iniciadores diseñados para la amplificación de ER.

Oligos	Secuencia	No. pb
Fw Eritrosa Reductasa	TCTGTGAACCTCAACAAGC	19
Rv Eritrosa Reductasa	ATCACATAGCAITTAAGTAGCT	22
Fw ER_1	GGCAACGGAAACAAAATTC	20
Rv ER_1	GCATCAAGTACAAGTCGAGGTA	22
Fw ER_2	ACCCGAATTGTCAACTATCG	21
Rv ER_2	GAGAACCTTCCTCTGTCTCAA	22
Fw ER_3	CAAGTGCAGCCTTGAGAAAT	21
Rv ER_3	GGTTGGTCAACAATGGG	18

Se espera obtener la amplificación del gen de la eritrosa reductasa y fragmentos del mismo con los iniciadores previamente mencionados (Fig. 2).

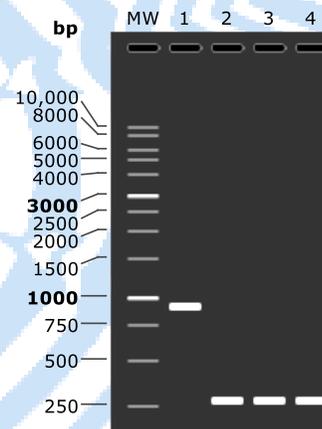


Fig 2. Simulación *in silico* del gel de agarosa (1) Amplificación del gen de eritrosa reductasa, (2, 3, 4) Amplificación de fragmentos del gen de la eritrosa reductasa.

Conclusiones. El análisis bioinformático mostró la presencia de la secuencia putativa de la eritrosa reductasa en el genoma de *Clavispora lusitaniae*.

Bibliografía.

- Rzechonek, D. A., Dobrowolski, A., Rymowicz, W., & Mirończuk, A. M. (2018). Recent advances in biological production of erythritol. *Critical Reviews in Biotechnology*, 38(4), 620-633.
- Shukla, R., Hemansi, Kumar, G., Shukla, S., Saini, J. K., & Kuhad, R. C. (2021). Biorefinery potential of newly isolated yeast *Clavispora lusitaniae* for co-production of erythritol and ethanol. *Biomass Conversion and Biorefinery*.
- Nakagawa, Y., Kasumi, T., Ogihara, J., Tamura, M., Arai, T., & Tomishige, K. (2020). Erythritol: Another C4 Platform Chemical in Biomass Refinery. *ACS omega*, 5(6), 2520-2530.