

ESTUDIO DEL METABOLISMO DE LACTOSA EN *Actinobacillus succinogenes* 130Z

Nadia Mariela Varela Pérez^a, Angélica Vallejo Giraldo^a, Juan Carlos Fragoso Jiménez^a, Luz María Martínez^a, Georgina Hernandez-Chavez, Claire Vielle^b, Alfredo Martinez^a, Guillermo Gosset Lagarda^a.

^aDepartamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, UNAM, Avenida Universidad 2001, Cuernavaca, Morelos 62210, México, guillermo.gosset@ibt.unam.mx

^bDepartamento de Microbiología y Genética Molecular, Colegio de Ciencias Naturales, MSU, East Lansing, Michigan 48824, USA.

Palabras clave: *Actinobacillus succinogenes*, lactosa, β -galactosidasa

Introducción. *Actinobacillus succinogenes* es una bacteria aislada del rumen bovino, considerada como uno de los productores de ácido succínico más eficiente [1]. El análisis de su genoma ha identificado la presencia de genes con posibles funciones para el consumo de lactosa, sin embargo, estos aún no se han verificado experimentalmente. El objetivo de este trabajo es identificar los genes involucrados en el transporte y metabolismo de lactosa en *A. succinogenes* 130Z.

Metodología.

Se realizó un análisis transcriptómico a partir de muestras provenientes de fermentaciones en medio de producción con glucosa o lactosa.

Resultados. Las curvas de crecimiento de *A. succinogenes* 130Z en medio de producción con glucosa o lactosa en fermentador mostraron velocidades específicas de crecimiento (μ) similares, 0.83 y 0.72 h⁻¹ respectivamente.

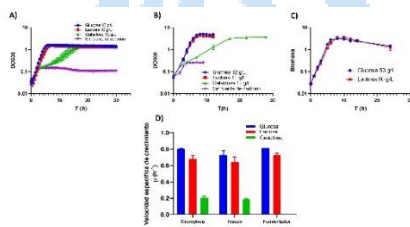


Fig. 1. Curvas de crecimiento de cultivos *A. succinogenes* 130Z en medio de producción en diferentes fuentes de carbono en microplaca (A), frasco (B) y fermentador (C) y sus velocidades específicas de crecimiento (D).

Los resultados del análisis transcriptómico mostraron expresión diferencial de 34 genes. Se detectó la sobreexpresión de las secuencias Asuc_1397 y Asuc_1398 con posibles funciones de lactosa permeasa (LacY) y β -galactosidasa (LacZ) respectivamente.

Clasificación COG	Vía	Asac.	Fold Change (FT en lactosa vs FT en glucosa)
Regulación, mantenimiento y reparación	Regulación de la expresión de genes	Asuc_1397	2.87
	Regulación de la expresión de genes	Asuc_1398	2.60
Movilidad celular, expresión celular, metabolismo	Transporte de moléculas	Asuc_1397	2.21
	Transporte de moléculas	Asuc_1398	2.42
	Transporte de moléculas	Asuc_1397	2.14
	Transporte de moléculas	Asuc_1398	2.15
Transporte y metabolismo de carbohidratos	Transporte de moléculas	Asuc_1397	2.82
	Transporte de moléculas	Asuc_1398	2.82
	Transporte de moléculas	Asuc_1397	2.80
	Transporte de moléculas	Asuc_1398	2.21
	Transporte de moléculas	Asuc_1397	2.14
	Transporte de moléculas	Asuc_1398	2.14
	Transporte de moléculas	Asuc_1397	2.14
	Transporte de moléculas	Asuc_1398	2.14
	Transporte de moléculas	Asuc_1397	2.14
	Transporte de moléculas	Asuc_1398	2.14
Producción y mantenimiento de energía	Producción de ATP	Asuc_1397	3.71
	Producción de ATP	Asuc_1398	4.43
Transporte y metabolismo de aminoácidos	Transporte de moléculas	Asuc_1397	4.34
	Transporte de moléculas	Asuc_1398	4.34
Transporte y metabolismo de nucleótidos	Transporte de moléculas	Asuc_1397	2.81
	Transporte de moléculas	Asuc_1398	2.81
Transporte y metabolismo de lípidos	Transporte de moléculas	Asuc_1397	2.71
	Transporte de moléculas	Asuc_1398	2.71
Transducción	Transducción	Asuc_1397	1.40
	Transducción	Asuc_1398	1.40
Producción de factor general	Producción de factor general	Asuc_1397	2.20
	Producción de factor general	Asuc_1398	2.20
Proteína descombinada	Proteína descombinada	Asuc_1397	2.17
	Proteína descombinada	Asuc_1398	2.17

Fig. 2. Cambios en la expresión de genes de cultivos con lactosa comparado con glucosa. Rojo: sobreexpresión. Verde: menor expresión.

Mediante recombinación homóloga se generó la mutante $\Delta lacZ$. Esta cepa mostró incapacidad para crecer en un medio con lactosa y no presentó actividad β -galactosidasa.

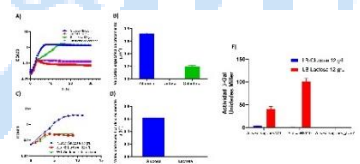


Fig. 3. Curvas de crecimiento de cultivos *A. succinogenes* $\Delta lacZ$ en medio de producción con glucosa, lactosa o galactosa como fuente de carbono en microplaca (A) o frasco (C), y sus velocidades específicas de crecimiento (B y D). Actividad enzimática β -galactosidasa de cultivos de *A. succinogenes* 130Z y $\Delta lacZ$ en medio LB con glucosa o lactosa (E).

Conclusiones. Los resultados del análisis transcriptómico mostraron la sobreexpresión de los posibles genes *lacY* y *lacZ*. La eliminación de este último incapacita al microorganismo para consumir lactosa, sugiriendo que *lacZ* participa en su consumo.

Agradecimiento. Al CONACyT por el apoyo económico brindado durante la realización de este proyecto y a la UNAM por el donativo PAPIIT-UNAM AG200322.

Bibliografía.
 (1) McKinlay, J. B., Laivenieks, M., Schindler, B. D., McKinlay, A. A., Siddaramappa, S., Challacombe, J. F., Lowry, S. R., Clum, A., Lapidus, A. L., Burkhart, K. B., Harkins, V., y Vielle, C. (2010). *BMC genomics*. Vol. (11): 680.