

LA RESONANCIA ACÚSTICA INCREMENTA LA PRODUCCIÓN DE VESÍCULAS EXTRACELULARES EN CULTIVOS BACTERIANOS

Laura María Muñoz-Echeverri; Mayra Herrera-De los Santos; Mauricio Trujillo-Roldan; Norma Adriana Valdez-Cruz

Departamento de Biología Molecular y Biotecnología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, CD MX, C.P. 04510, México.

adri@iibiomedicas.unam.mx

Palabras clave: Agitación por resonancia acústica, agitación orbital, vesículas extracelulares bacterianas

Introducción. La agitación por resonancia acústica (RAMbio) es un tipo de agitación en la que un campo acústico de baja frecuencia da lugar a la formación de pequeñas burbujas mejorando la transferencia de oxígeno en matraces (1-2). Nuestro grupo reportó que con RAMbio se incrementa la concentración de biomasa en cultivos de *Escherichia coli*, en comparación con cultivos bajo agitación orbital (AO) (2).

Por otro lado, las vesículas extracelulares (VEs) son nanoestructuras liberadas al ambiente extracelular por distintas células, las cuales han tomado relevancia debido a sus funciones biológicas y aplicaciones (3). En este trabajo se evaluó la producción de VEs en cultivos de *E. coli* bajo RAMbio comparado con AO, así como las características de las VEs obtenidas.

Metodología. *E. coli* fue cultivada bajo RAMbio (7.5 g y 18 g) y agitación orbital (200 rpm). Las VEs fueron recuperadas desde los sobrenadantes de los cultivos mediante ultrafiltración (4). Una vez aisladas las vesículas se realizó una cuantificación indirecta mediante determinación de proteína total, se determinaron distribuciones de tamaños por dispersión dinámica de luz, morfología mediante microscopía electrónica de transmisión, y se analizaron los perfiles proteicos por electroforesis (SDS-PAGE) (5).

Resultados. RAMbio incrementa hasta cuatro veces el crecimiento de biomasa (figura 1A). Así como hasta dos veces la cantidad de VEs (figura 1B).

Las VEs presentaron dos poblaciones de tamaños bajo las condiciones de agitación evaluadas, con tamaños promedio entre 28 y 39 nm para las poblaciones A, y entre 269 y 328 nm para las poblaciones B, siendo las VEs obtenidas en RAMbio 18 g las de menor diámetro hidrodinámico. Las micrografías electrónicas corroboran la presencia de VEs predominantemente esféricas. Los perfiles proteicos presentaron bandas con intensidad diferencial, particularmente en RAMbio 18g.

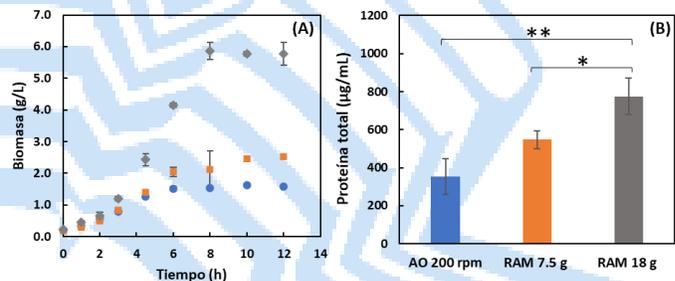


Fig. 1. Cinéticas de crecimiento de *E. coli* (A) y cuantificación de VEs en términos de proteína total (B). Círculos azules AO 200 rpm, cuadrados naranjas RAMbio 7.5 g y rombos grises RAMbio 18 g.

Conclusiones. RAMbio es una estrategia efectiva para incrementar la productividad de VEs, asociado a una mayor producción de biomasa y no a un efecto hidrodinámico. Importammente el tamaño y composición de las VEs si fue dependiente del sistema de agitación. Observamos cambios en la composición proteica de las VEs producidas, por lo que será importante determinar profundamente los cambios mediante proteómica.

Agradecimiento. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología – CONACyT (LMME 1102921). Este proyecto está desarrollado bajo el programa institucional del “IIB-UNAM”: “La producción de biomoléculas de interés biomédico en bacterias y hongos” PAPIIT de la UNAM: IN210822; IV201220.

Bibliografía

- Reynoso G. I., García R. I., Valdez N. A., Trujillo M. A. (2016) *Biochem. Eng. J.*, vol. 105, pp. 379–390.
- Valdez, N. A., Reynosa, G. I., Pérez, S., Restrepo, S., González, J., Olvera, A., Alagón, G., Trujillo, M. A. (2017) *Microb. Cell Fact.*, vol. 16, no. 1, pp. 1–12.
- Liu, H., Li, M., Zhang, T., Liu, X., Zhang, H., Geng, Z., Su, J. (2022) *Chem. Eng. J.*, vol. 450, pp. 138309
- Maccelli, A., Carradori, S., Puca, V., Sisto, F., Lanuti, P., Crestoni, M. E., Lasalvia, A., Muraro, R., Bysell, H., Sotto, A. Di, Roos, S., Grande, R. (2020). *Microorganisms*, vol 8, no 11, pp. 1–22.
- Wei, S., Jiao, D., Xing, W. (2022) *Front. Immunol.*, vol. 13, pp. 1–13.