

LA AUSENCIA DE LA PHASINA P3, PROTEÍNA ASOCIADA AL GRANULO DEL BIOPLÁSTICO POLI-3 HIDROXIBUTIRATO (P3HB), PROVOCA UNA DISMINUCIÓN EN LA SINTESIS Y PESO MOLECULAR DEL POLÍMERO

¹Claudia Aguirre, ²Jessica Ruiz, ¹ Enrique Galindo, ² Daniel Segura, ¹ Carlos Peña

Instituto de Biotecnología, ¹Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis y ²Departamento de Microbiología Molecular, UNAM Cuernavaca, Morelos, 62100.

claudia.aguirre@ibt.unam.mx

Palabras clave: A. vinelandii, phasina P3, phasina P2.

Introducción. Las phasinas son un conjunto de proteínas asociadas a gránulos (PAG) del bioplástico degradable poli-3-hidroxibutirato (P3HB). En microorganismos productores de este biopolímero su presencia se ha asociado a funciones estructurales y de distribución de los gránulos dentro de las células, y al control de la actividad de las P3HB sintetas y P3HB depolimerasas (1). En *A. vinelandii* las phasinas P2 y P3 son de reciente descubrimiento, por lo tanto, se han generado cepas mutantes que tienen inactivado el gen que codifica a la phasina P2 (mutante phbP2-), y el gen que codifica a la phasina P3 (mutante phbP3-) (2). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la ausencia de las phasinas P2- y P3- sobre la cantidad de polímero producido y el peso molecular del P3HB.

Metodología.

Se llevaron a cabo cultivos lote de las cepas OP (cepa control), phbP2- y phbP3- en biorreactores de 3 L utilizando medio PYS (Peptona, Extracto de levadura, Sacarosa), T= 29°C, pH= 7.2, agitación de 500 rpm, un volumen de llenado de 2 L y 1 vvm durante 72 h. Se evaluó el crecimiento con base en proteína (método Lowry) (3), el crecimiento con base en biomasa (peso seco), el consumo de sacarosa (método DNS) (4), la concentración de P3HB mediante HPLC y el peso molecular del P3HB mediante GPC.

Resultados. A partir de los datos cinéticos generados en los cultivos, se observó que la mutación en las cepas phbP2- y phbP3- no afectó de manera significativa el crecimiento con base en proteína durante la fase exponencial (tabla 1). La producción volumétrica, productividad de P3HB y rendimiento fueron similares en los cultivos de la cepa OP y la mutante phbP2-; mientras que con cepa phbP3- se observó un descenso significativo en los tres parámetros (figura 1, tabla 1).

En cuanto a los pesos moleculares, se observó que el

Tabla 1. Evaluación de crecimiento, producción y peso molecular de P3HB.

Cepa	μ (h ⁻¹)	Q P3HB (g/L x h)	$\gamma_{P3HB/Sac}$	Peso molecular (MDa)
OP	0.09± 0.02	0.06	0.26	3.7
phbP2-	0.11± 0.01	0.06	0.24	3.5
phbP3-	0.08± 0.03	0.04	0.17	3.1

polímero sintetizado por la cepa mutante phbP3- tuvo un valor inferior (3100 kDa) al obtenido con la cepa control (3700 kDa) y con la cepa phbP2- (3500 kDa) (Tabla 1).

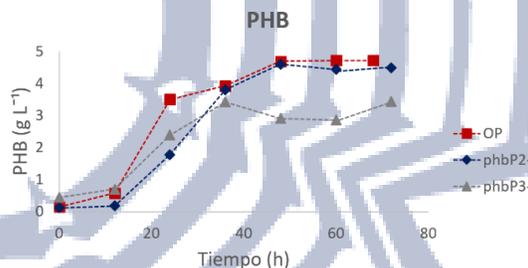


Fig. 1. Producción volumétrica de P3HB en los cultivos con la cepa OP, phbP2- y phbP3-.

Conclusiones. La ausencia de las phasina P2- y P3- no tuvieron un efecto relevante sobre el crecimiento celular. En contraste, la ausencia de la phasina P3 impacta negativamente la producción volumétrica, productividad y el peso molecular del P3HB en *A. vinelandii*.

Agradecimiento. A CONACyT por el apoyo con la beca otorgada núm. 1176564 y a PAPIIT-UNAM por el financiamiento del proyecto BG200222.

Bibliografía.

1. Mezzina, M. P., Pettinari, M. J., (2016) *Environmental Microbiology*, 82(17), pp. 5060–5067.
2. Ruiz Escobedo, J. (2009) *Tesis de maestría*, IBt, UNAM.
3. Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, L., Randall, R., (1951) *Journal of Biological Chemistry*. 193 (1), 265-275.
4. Miller, G. L., (1959) *Analytical Chemistry*, 31(3), 426-428.