

PRODUCCIÓN DE BIOPLÁSTICO POR UNA CEPA DE *Azotobacter vinelandii* QUE SOBRE-EXPRESA LA PROTEÍNA PhbP3 ASOCIADA AL GRÁNULO DE POLÍMERO BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE OXÍGENO

Rosa Elia Quiroz¹, Jessica Ruíz², Daniel Segura², Tania Castillo¹, Enrique Galindo¹ y Carlos Peña¹

Instituto de Biotecnología, Departamentos de ¹Ingeniería Celular y Biocatálisis y ²Microbiología Molecular, Universidad Nacional Autónoma de México. Cuernavaca, Morelos, 62210.

rosa.quiroz@ibt.unam.mx

Palabras clave: P3HB, VTO, peso molecular

Introducción. El poli-3-hidroxibutirato (P3HB) es un biopolímero con propiedades físicas y termo-mecánicas dependientes del peso molecular. *Azotobacter vinelandii* acumula P3HB como reserva de carbono y energía en forma de gránulos que representan hasta el 80 % del peso seco celular [1]. En *A. vinelandii* se ha encontrado, asociada a los gránulos de P3HB, a la proteína denominada phasina P3, y en estudios previos se ha demostrado que la sobreexpresión provoca una mayor acumulación de P3HB sugiriendo un papel regulador en la síntesis y degradación del polímero [2]. Por otro lado, la velocidad de transferencia de oxígeno (VTO) juega un papel importante en la producción y el peso molecular del P3HB [1].

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la VTO sobre la producción y el peso molecular del P3HB sintetizado por la cepa que sobre-expresa la proteína PhbP3 de *A. vinelandii*.

Metodología. Se realizaron cultivos de la cepa PhbP3+ y la cepa parental OP en matraces agitados de 250 mL con diferentes volúmenes de llenado (100 y 50 mL para una baja y alta transferencia de oxígeno respectivamente) en el equipo RAMOS (Respirometric Activity Monitoring System) para la determinación de los parámetros respirométricos [3]. Paralelamente, se realizaron experimentos fuera de línea para determinar el crecimiento celular, la producción y el peso molecular del P3HB con técnicas analíticas reportadas previamente [1,2].

Resultados. Bajo la condición de 100 mL, la VTO_{máx} alcanzada fue de $2.80 \pm 0.06 \text{ mmol O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; mientras que, en los cultivos desarrollados con 50 mL, la VTO_{máx} fue de $6.0 \pm 0.04 \text{ mmol O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Fig. 1a y 1c). No se observan diferencias significativas en la evolución de la VTO entre la cepa PhbP3+ y la cepa control OP en las condiciones de baja y alta transferencia de oxígeno. El crecimiento en ambas condiciones de cultivo fue superior en la cepa PhbP3+, donde se alcanzó un μ dos veces mayor que en los cultivos de la cepa OP. En contraste, no se observó un efecto de la VTO sobre la μ en los cultivos con la cepa PhbP3+.

La producción volumétrica de P3HB se favoreció en ambas cepas con los cultivos en alta transferencia (Fig.

1d), encontrándose que con la cepa PhbP3+ produjo más del 100 % de biopolímero en comparación con lo obtenido con la cepa OP durante la fase de crecimiento exponencial (0 – 36 h) y más de 80 % durante la fase estacionaria (48 h).

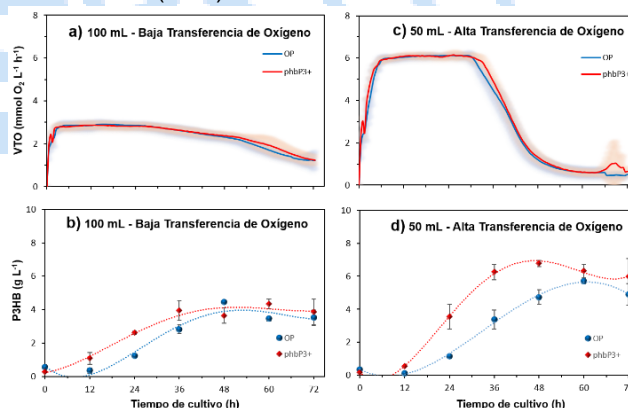


Fig. 1. Perfiles de velocidad de transferencia de oxígeno y evolución de la producción de P3HB en cultivos con a,b) 100 mL y c,d) 50 mL de volumen de llenado.

Con ambas cepas el peso molecular del P3HB se incrementó al aumentar la VTO, obteniéndose valores de 6,000 kDa en los cultivos con una VTO_{máx} de $6.0 \pm 0.04 \text{ mmol O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Tabla 1).

Tabla 1. Velocidad de crecimiento específica (μ) y peso molecular del P3HB a las 72 h de cultivo.

Condición (mL)	Cepa	μ (h^{-1})	Mw (kDa)
100	OP	0.05 ± 0.00	$5,721 \pm 208$
	PhbP3+	0.11 ± 0.02	$5,384 \pm 114$
50	OP	0.07 ± 0.01	$6,273 \pm 73$
	PhbP3+	0.12 ± 0.01	$6,065 \pm 549$

Conclusiones. La cepa PhbP3+ muestra un mejor desempeño en crecimiento y producción de P3HB de alto peso molecular cuando es cultivada en condiciones de alta transferencia de oxígeno.

Agradecimiento. Apoyo financiero de PAPIIT-DGAPA de la UNAM (proyecto BG200222).

Bibliografía.

- Peña *et al* (2014). *Microbial technology*, 7(4), 278-293.
- Sotelo, P. (2022). *Tesis de licenciatura, IBT – UNAM*.
- Anderlei, T. & Büchs, J. (2001). *Biochemical Engineering Journal* 7; 157-162.