

## PRODUCCIÓN DE ADN PLASMÍDICO UTILIZANDO CEPAS DE *Escherichia coli* MODIFICADAS GENÉTICAMENTE.

Fabiola Islas Lugo<sup>1</sup>, Daniela Velázquez<sup>1</sup>, Guillermo Gosset<sup>2</sup>, Alvaro R. Lara<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa, Departamento de Procesos y Tecnología, Ciudad de México

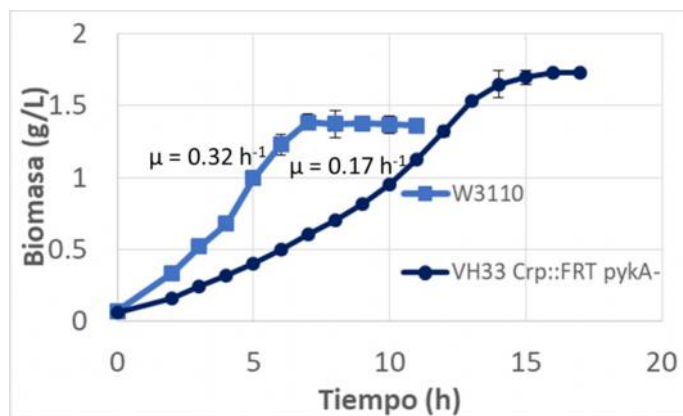
<sup>2</sup>Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología-UNAM, Cuernavaca, Morelos  
fabi\_il@hotmail.com.

*Palabras clave:* ADN plasmídico, *Escherichia coli*, VH33 Crp::FRT *pykA*

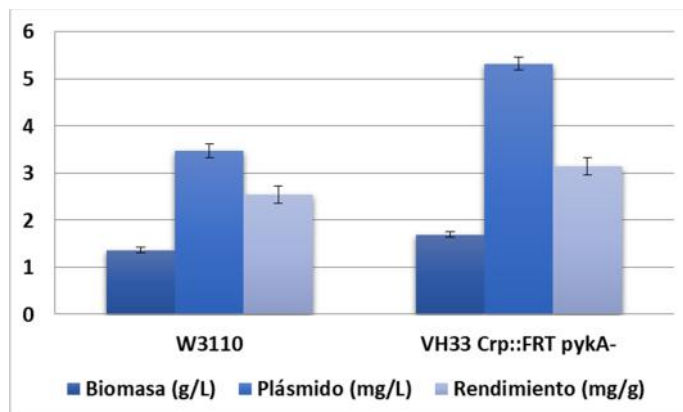
**Introducción.** La producción de ADN plasmídico se ve afectada por varios factores, como son la cepa hospedera, el tipo y tamaño de plásmido, las condiciones y el tipo de cultivo, así como el medio de cultivo (1). Generalmente la producción de ADN plasmídico se lleva a cabo por cultivos de alta densidad celular de *Escherichia coli*. Este tipo de cultivos presentan la desventaja de requerir altas cantidades de oxígeno, así como la acumulación de acetatos (2). La cepa *E. coli* W3110, así como cepas derivadas de esta (VH33, VH34) han sido estudiadas, con las cepas modificadas se han podido obtener cultivos de alta densidad celular, con baja acumulación de acetatos (3), debido al uso de un sistema alterno de transporte de glucosa (PTS<sup>+</sup>GalP<sup>+</sup>). El objetivo de este trabajo fue probar una cepa de *Escherichia coli* modificada (VH33 Crp::FRT *pykA*), con el fin de incrementar la producción de plásmido. La proteína Crp está relacionada con la velocidad de transporte de la glucosa, mientras que el gen *pykA* regula la actividad de la piruvato cinasa.

**Metodología. Cepa y plásmido:** Las cepas utilizadas fueron *Escherichia coli* W3110 y una cepa derivada de esta (VH33 Crp::FRT *pykA*). Las cepas fueron transformadas con el plásmido pUC57mini (GenScript, NJ, USA) de 1835 pb con marcador de resistencia a ampicilina. **Medios y cultivo:** Medio mineral (4) suplementado con 2.5 g/L de glucosa y 1 g/L de extracto de levadura. Los cultivos se llevaron a cabo en matraces bafleados de 250 ml con 30 ml de medio a 250 rpm y 37°C, el cultivo se inició a 0.2 DO<sub>600nm</sub>. Los cultivos se realizaron por triplicado. **Métodos analíticos:** El plásmido se obtuvo con el kit QIAgen Spin Miniprep (Qiagen, Hilden, Germany) y se midió espectrofotométricamente utilizando el NanoDrop One (Thermo Scientific, MA, USA).

**Resultados.** En la Fig. 1 se presenta la cinética de crecimiento, donde observamos que la cepa nativa crece a una velocidad mayor (0.32 h<sup>-1</sup>), sin embargo, alcanza un crecimiento menor (1.37 g/L), comparada con la cepa modificada (1.7 g/L). En la Fig. 2 podemos observar el crecimiento, la producción de plásmido y el rendimiento específico que se obtienen con la cepa nativa (W3110) y la cepa genéticamente modificada (VH33 Crp::FRT *pykA*), la gráfica nos muestra que con la cepa modificada se obtiene la mayor biomasa (1.7 g/L), la mayor concentración de plásmido (5.32 mg/L) y por lo tanto el mayor rendimiento específico (3.14 mg/g). Comparando los resultados con otras cepas modificadas de *Escherichia coli* W3110, la producción de plásmido es menor en un 53 y 73% con respecto a VH33 y VH34 respectivamente, sin embargo, el rendimiento es mayor en 55 y 24% con respecto a VH33 y VH34 respectivamente (3).



**Fig. 1.** Cinética de crecimiento de las cepas de *Escherichia coli* W3110 y VH33 Crp::FRT *pykA*.



**Fig. 2.** Crecimiento, producción de plásmido y rendimiento de las cepas de *Escherichia coli* W3110 y VH33 Crp::FRT *pykA*.

**Conclusiones.** La cepa modificada genéticamente mejora la producción de plásmido, por lo que es una buena candidata para la producción de ADNp.

**Agradecimientos.** A la UAM por la beca posdoctoral otorgada a FIL.

### Bibliografía.

- Islas-Lugo F et al. (2016) *Journal of Biotechnol* 233: 66-73
- Lara AR et al. (2008) *Biotechnol. Bioeng.* 99: 893-901
- Pablos TE et al. (2012) *Journal of Biotechnol* 158(4): 211-4
- Jaén K et al. (2017) *BMC Biotechnology*. 17(60): 1-12.

