



Área IX

Biotecnología microbiana



Contenido

DISEÑO Y CARACTERIZACIÓN DE UN VECTOR PARA LA GENERACIÓN DE PRODUCTOS DE PCR Y SU INTEGRACIÓN EN EL CROMOSOMA DE UNA LEVADURA NO CONVENCIONAL AUTÓCTONA DE MÉXICO Andrea Sabido-Ramos, Adán Málaga Olín, Sylvie Le Borgne	307
ESTUDIO DE LA BIOTRANSFORMACIÓN DE FURFURAL EN <i>Acinetobacter baylyi</i> ADP1. José Eduardo Arteaga Gómez, Sylvie Le Borgne, Ernesto Rivera Becerril, Juan Carlos Sigala Alanís	308
LA COMUNICACIÓN CELULAR REGULA LA DISPERSIÓN Y FITNESS DE BIOPELÍCULAS DE <i>Bacillus thuringiensis</i> A TRAVÉS DE LA SÍNTESIS DE UN SURFACTANTE Abel Verdugo-Fuentes, Mayra de la Torre, Jorge Rocha	309
AISLAMIENTO DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS DEL TRACTO INTESTINAL DE TILAPIA NILOTICA (<i>Oreochromis niloticus</i>) Y SU ACTIVIDAD ENZIMÁTICA (PROTEASAS, LIPASAS Y CARBOHIDRASAS). Arelly Anahi Itzá Colli, Ruth López Alcántara, Maurilio Lara Flores	310
BÚSQUEDA Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS CEPAS DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS PRODUCTORAS DE EXOPOLISACÁRIDOS AISLADAS DE SEDIMENTOS. Cristian Jesús Medina Dzul, Tania González Flores, María de los Ángeles Sánchez Contreras	311
CARACTERIZACIÓN DE CONSORCIOS MICROBIANOS CAPACES DE PRODUCIR CELULOSA A PARTIR DE LA FERMENTACIÓN DE MORINGA. Juan Pablo Hernández Rodríguez, Andrea Franco Moreno, Alexei Fedorovich Licea Navarro, Mayra Zulema Treviño Garza, Celestino García Gómez, Beatriz Adriana Rodríguez Romero, Julia Mariana Márquez Reyes	312
ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE LA EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE GENES EN CULTIVOS DE PRODUCCIÓN DE BIOLÍPIDOS EN <i>Yarrowia lipolytica</i> . Juan Luis Ávila González, Alan Kevin Pineda, Enya Arantza Cárcamo, Víctor Sánchez Santos, Aurora Antonio Pérez	313
DESARROLLO DE UN INMUNOENSAYO PARA DETECTAR LA RESPUESTA INMUNE ESPECÍFICA PARA LAS TOXINAS APX DE <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> L. Monserrath Mora Gálvez, Héctor M. Castañeda Aponte, Calef Sánchez Trasviña, G. Priscila Galaviz Martínez, Isaac L. Solorio Hernández, Maritza Guzmán Cervantes, Karla P. Mayolo-Deloisa, Cuauhtémoc Licon Cassani	314
ANÁLISIS COMPARATIVO DE FACTORES DE VIRULENCIA EN <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : IDENTIFICACIÓN DE BLANCOS PARA ESTRATEGIA ANTI-VIRULENCIA P.S. Lucero-Hernández, ME Pérez-Galván, S Zarazúa-Guzman, F.R. Ceballos-Huerta, VA Hernández-Aranda, R Jarquin-Galvez, G Aguilar-Benítez, JP Lara-Ávila	315



FUNCIONALIDAD DE LA REGIÓN TERMINADORA DEL GEN GAP EN UN CASSETTE DE EXPRESIÓN CON PROMOTOR GAP EN CEPAS RECOMBINANTES DE <i>Pichia pastoris</i> (<i>Komagataella spp.</i>) Nancy Pentón-Piña, Martha Guerrero-Olazarán, José María Viader-Salvadó	316
EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE EXOPOLISACÁRIDOS SINTETIZADOS POR UN CONSORCIO NATIVO. Alina Sosa, Araceli González, Rafael Rojas, Rodrigo Guzmán, Mónica Sánchez	317
CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE LA SECUENCIA PROMOTORA Y TERMINADORA DE UN GEN DE <i>Pichia pastoris</i> (<i>Komagataella spp.</i>) NO DEPENDIENTES DE METANOL Yanelis Robainas-del-Pino, Ana Lucia Herrera-Estala, José María Viader-Salvadó, Martha Guerrero-Olazarán	318
EVALUACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN DEL REGULADOR TRANSCRIPCIONAL <i>sco3986</i> SOBRE EL PROCESO DE REPRESIÓN CATABÓLICA. Berenice Hernández Cordero, Beatriz Ruiz Villafán y Sergio Sánchez	319
ANÁLISIS COMPARATIVO DE SIMILITUD Y NOVEDAD DE CLUSTERS BIOSINTÉTICOS PRESENTES EN CEPAS DE <i>Streptomyces venezuelae</i> . Viridiana Pérez García, Luz Ángela González Salazar, Lorena Rodriguez Orduña, Karina Verdel Aranda, Valeria Souza Saldívar, Cuauhtémoc Licona Cassani	320
AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y PRODUCCIÓN DE LEVADURAS NO- <i>Saccharomyces</i> UTILIZANDO SUERO DE LECHE COMO SUSTRATO ALTERNATIVO Kevin Arenas, Leticia Casas-Godoy, Iliana Barrera Martínez	321
MODIFICACIÓN GENÉTICA DE <i>Azotobacter vinelandii</i> PARA LA SOBREPDUCCIÓN DE LÍPIDOS ANTIFÚNGICOS ALQUILRESORCINOLES. Andrea Moyao, Josefina Guzmán, Soledad Moreno, Guadalupe Espín, Daniel Segura	322
COMPOSICIÓN Y ESTRUCTURA DE LOS CUERPOS DE INCLUSIÓN DE LA PROTEÍNA rHuGM-CSF OBTENIDOS EN <i>E. coli</i> USANDO UN SISTEMA TERMOINDUCIBLE Sara Restrepo-Pineda, Norma A. Valdez-Cruz, Néstor O. Pérez, Mauricio A. Trujillo-Roldán	323
BIOSENSOR FLUORESCENTE DEL METABOLISMO AERÓBICO DE GLICEROL EN <i>Escherichia coli</i> José Ignacio Rodríguez Ochoa, Luz María Martínez Mejía, Georgina Hernández-Chávez, José Utrilla Carreri, Guillermo Gosset Lagarda	324
ESTUDIO Y CARACTERIZACIÓN DEL SISTEMA DE DOS COMPONENTES SCO6162/SCO6163 PARA ELUCIDAR SU PARTICIPACIÓN EN LA REPRESIÓN CATABÓLICA POR CARBONO EN <i>Streptomyces coelicolor</i> Rodrigo Cruz-Bautista, Beatriz Ruiz-Villafán y Sergio Sánchez	325
EFFECTO DE LA LONGITUD DE ONDA Y DEL MEDIO DE CULTIVO PARA LA PRODUCCIÓN DE PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS A PARTIR DE UN CONSORCIO DE MICROALGAS ALCALÓFILAS PROVENIENTE DEL EX LAGO DE TEXCOCO Karina Mera-Viveros, Alejandro Téllez-Jurado, Rocío Ramírez-Vargas	326



CANTIDAD E IDENTIDAD; LA DANZA DE DOS VARIABLES EN EL TRANSPORTE DE α GLUCÓSIDOS DE <i>Saccharomyces pastorianus</i> César I. Hernández-Vásquez, Jorge H. García-García, Esmeralda R. Pérez-Ortega, Daniel Villarreal García, Luis C. Damas-Buenrostro, Benito Pereyra-Alfárez	327
AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA Y MOLECULAR DE BIFIDOBACTERIAS DEL TRACTO GASTROINTESTINAL DE NEONATOS Raquel González Vázquez, Lino Mayorga Reyes, Pedro Reyes-Castillo, Martha Leyte Lugo, Alejandro Azaola Espinosa	328
CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS HOMOLÁCTICAS FRUCTANOLÍTICAS DE <i>Agave salmiana</i> Diego Gallardo Martínez, Dra. Alma Elizabeth Cruz Guerrero, Dr. Gustavo Viniegra González, Dr. Jorge Gustavo Rocha Estrada	329
EVALUACIÓN DE CEPAS DE <i>Escherichia coli</i> MODIFICADAS GENÉTICAMENTE PARA PRODUCIR LA PROTEÍNA ADHESIVA MRCP-19K DEL PERCEBE <i>Megabalanus rosa</i> . Gustavo Zamudio-Cortés, Luz María Martínez-Mejía, Guillermo Gosset-Lagarda, José Campos-Terán, Andrea Sabido-Ramos	330
EVOLUCIÓN ADAPTATIVA DE <i>Clavispora lusitaniae</i> CDBB-L-2031 PARA ACELERAR EL CONSUMO DE XILOSA Erika Alfayuset Ochoa Chacón, David Guzmán Hernández, Ana Ramos Valdivia, Alfredo Martínez, Teresa Ponce Noyola	331
PERFIL TRANSCRIPTÓMICO DE UNA CEPA MUTANTE DE <i>Geobacter sulfurreducens</i> CON AUMENTO EN LA REDUCCIÓN DE Fe(III), FORMACIÓN DE BIOPELÍCULA Y PRODUCCIÓN DE BIOELECTRICIDAD Juan Bernardo Jaramillo Rodríguez, Alberto Hernández Eligio, Katy Juárez López	332
SELECCIÓN DE MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE EXOPOLISACÁRIDOS. Lorena Pedraza, Ruth Pedroza, Karina Maldonado, Manuel Kirchmayr	333
ACTINOMICETOS: AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO DE INSECTOS VECTORES Y BACTERIAS PATÓGENAS Daniela Cerda Apresa, María Guadalupe Maldonado Blanco, Katiushka Arévalo Niño, Verónica Almaguer Cantú, Ma Guadalupe Rojas Verde	334
MICROORGANISMOS PROMOTORES DEL CRECIMIENTO: ACTINOMICETOS Daniela Cerda Apresa, Itzeel Rosalina Ramírez Hernández, Katiushka Arévalo Niño, Verónica Almaguer Cantú, Ma Guadalupe Rojas Verde	335
PRODUCCION DE CUTINASAS EN <i>Pichia pastoris</i> : DIFERENCIAS DE COMPORTAMIENTO ENTRE CEPAS HOSPEDERAS. Andrea Sabido, Montserrat Tagle, Krystel León, José Augusto Castro y Amelia Farrés	336
NANOENSAMBLAJES SUPRAMOLECULARES PARA CAPTURA DE ANTICUERPOS EN EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS. Juan Patiño Cárdenas, Luz María López Marín	337



EVALUACIÓN DE *Bacillus* sp. PARA EL CONTROL DE ENFERMEDADES EN POSCOSECHA DE AGUACATE HASS

Lorena María López Lujan, Cristina Calle Henao, Maria Paulina Montoya Vargas, Juan Carlos Bedoya Pérez, Sinar David Granada García

338

CUPREDOXINAS DE PARED CELULAR DE HONGOS FILAMENTOSOS: DEMOSTRACIÓN DE SU LOCALIZACIÓN E INDAGACIÓN DE SU PAPEL BIOLÓGICO

Jesús Urbar-Ulloa, Elizabeth Chavira-Espinoza, Alejandro Pereira-Santana, Jorge Verdín

339

DISEÑO Y CARACTERIZACIÓN DE UN VECTOR PARA LA GENERACIÓN DE PRODUCTOS DE PCR Y SU INTEGRACIÓN EN EL CROMOSOMA DE UNA LEVADURA NO CONVENCIONAL AUTÓCTONA DE MÉXICO

Andrea Sabido-Ramos¹, Adán Málaga Olín², Sylvie Le Borgne¹. ¹Departamento de Procesos y Tecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa, ²Licenciatura en Ingeniería Biológica. Universidad Autónoma Metropolitana Cuajimalpa, Ciudad de México 05348

asabido@cua.uam.mx

Palabras clave: *K. marxianus*, integración cromosomal, gen LAC4.

Introducción. La atención en el estudio de las levaduras se ha centrado históricamente en *Saccharomyces cerevisiae* y la disponibilidad de herramientas moleculares para estudiar y manipular levaduras no *Saccharomyces*, también denominadas levaduras no convencionales son limitada. Entre estas levaduras, *K. marxianus* es de interés debido a sus excelentes capacidades secretoras, de termotolerancia, asimilación de una variedad de fuentes de carbono de bajo costo, entre otras propiedades. A medida que se disponga de más herramientas de manipulación genética, existirá mayor probabilidad de que *K. marxianus* tenga un impacto significativo en los sectores biotecnológicos y biofarmacéuticos.

El objetivo de este trabajo consistió en desarrollar e implementar una herramienta molecular propia para la integración de genes en el genoma de la levadura *K. marxianus* aislada de la planta de agave, buscando valorizar el microbiota mexicano.

Metodología. El plásmido templado pASKanMX que contiene el casete LAC4 de interrupción (Fig. 1), se diseñó con base en una estrategia previamente reportada (1) y se introdujo en *K. marxianus* mediante quimiotransformación (2). LAC4 codifica para la β -galactosidasa y KanMX confiere resistencia a geneticina.

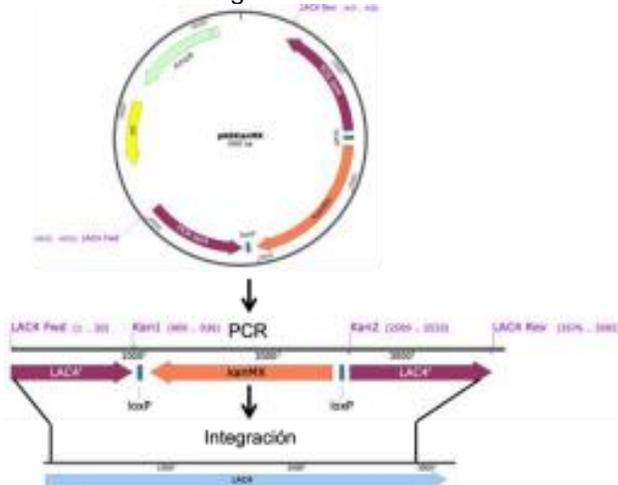


Figura 1. Mapa de pASKanMX. Se muestra la estrategia para la integración del casete de inactivación en el gen cromosomal LAC4 de *K. marxianus* 24. Los primers utilizados se resaltan en morado.

Resultados. Confirmación de la integración del casete por PCR. La integración del casete LAC4 se confirmó por PCR

utilizando los primers LAC4 Fwd y LAC4 Rev (con homología al gen LAC4) y Kan1 y Kan2 (con homología al marcador de resistencia KanMX) (Fig. 1). LAC4 Fwd y LAC4 Rev amplifican un fragmento de 2.5 Kb para el alelo silvestre de LAC4 y de 4.0 Kb cuando este gen está interrumpido por KanMX. Por su parte, Kan1 y Kan2 sólo deben amplificar un fragmento de 1.6 Kb que corresponde a KanMX. Al analizar las transformantes, observamos la presencia del alelo de tipo silvestre en todas las candidatas, así como también un fragmento correspondiente al casete de interrupción (Fig. 2, carril 4 y 9), lo cual es posible ya que sabemos que la cepa utilizada es diploide. Por otro lado, con los primers para KanMX, se observa una banda a partir del DNA genómico (Fig. 2, carril 5 y 8), confirmando que el casete se integró en el locus de interés.

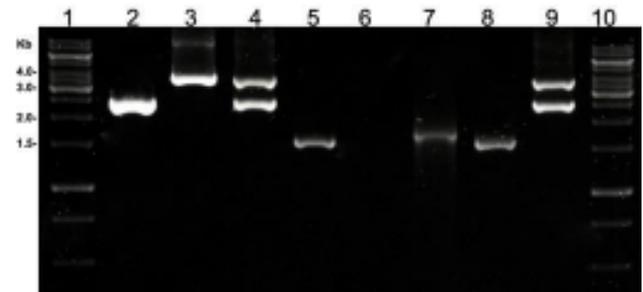


Fig. 2. Confirmación de la integración del casete de inactivación en *K. marxianus* 24. Con oligos LAC4 Fwd y LAC4 Rev: 2. Cepa silvestre, 3. pASKanMX, 4 y 9. Transformantes. Con oligos Kan1 y Kan2: 5 y 8. Transformantes, 6. Cepa silvestre, 7. pASKanMX. Marcador: 1 y 10.

Conclusiones. La integración de genes con este sistema requiere de una gran homología en las regiones que flanquean el casete, ya que existe una predominancia por la recombinación no homóloga en esta levadura. Este es el primer trabajo en el que se demuestra que es factible introducir DNA exógeno en cepas autóctonas de *K. marxianus*. El siguiente paso consistirá en la edición del sistema de recombinación.

Agradecimiento. Apoyo PRODEP 47410680 y proyecto divisional "Microbiología de Bioprocesos" del DPT de la UAM Cuajimalpa.

Bibliografía.

1. Ribeiro O, Gombert AK, Teixeira JA, Domingues L. (2007). *J Biotechnol.* 131: 20–26.
2. Cernak R, Estrela R, Poddar S, Skerker JM, Cheng YF, Carlson AK, et al. (2018). *MBio.* 9: 1–16.



ESTUDIO DE LA BIOTRANSFORMACIÓN DE FURFURAL EN ACINETOBACTER BAYLYI ADP1.

¹José Eduardo Arteaga Gómez, ¹Sylvie Le Borgne, ²Ernesto Rivera Becerril, ¹Juan Carlos Sigala Alanís,

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Cuajimalpa, ¹Departamento de Procesos y Tecnología, ²Departamento de Ciencias Naturales, Ciudad de México, CP 05348

eduardo.arteaga1711@gmail.com, jsigala@correo.cua.uam.mx

Palabras clave: *Acinetobacter*, furfural, acetato

Introducción. Las cepas del género *Acinetobacter* se caracterizan por ser estrictamente aerobias, no fermentativas, Gram negativas y saprófitas de vida libre. Son de interés biotecnológico por su buena capacidad de transformación, recombinación genética eficiente (1) y algunas degradan compuestos aromáticos, furanos y ácidos orgánicos (2). La biomasa lignocelulósica se puede usar como materia prima para generar productos de valor agregado pero debe someterse a un pretratamiento para poder extraer los hidratos de carbono que se utilizan como sustrato (3). Los pretratamientos más comunes tienen la desventaja de generar compuestos tóxicos para los microorganismos usados en su aprovechamiento (4). No obstante, existen microorganismos capaces de tolerar estos compuestos e inclusive, catabolizarlos o biotransformarlos en compuestos menos tóxicos (5). En este trabajo se evaluó la capacidad detoxicadora de la cepa *A. baylyi* ADP1 sobre el furfural, en presencia de acetato como única fuente de carbono. Estos compuestos son dos de los inhibidores más comunes generados tras el pretratamiento ácido a altas temperaturas de biomasa lignocelulósica.

Objetivo: Determinar en la cepa de *A. baylyi* ADP1 el compuesto al que es biotransformado el furfural (F), su velocidad de biotransformación y los posibles genes involucrados en dicho proceso. Evaluar el papel del alcohol furfúrico (FOH) como intermediario durante la biotransformación.

Metodología. Cinéticas de crecimiento. 30°C y 250 rpm en medio líquido M9 en presencia de F o FOH 1 g/L y acetato 2 g/L. La concentración de estos analitos se monitoreó mediante HPLC. Tras 8 horas, se obtuvieron los sobrenadantes y se aisló el compuesto proveniente de la biotransformación de F y FOH, se analizó mediante FT-IR, ¹H-NMR y ¹³C-NMR. La velocidad de biotransformación de F se determinó una vez que las células alcanzaron la fase estacionaria solo en presencia de acetato 4 g/L; después, se añadieron pulsos de F 0.5 g/L y mediante un método colorimétrico se determinó su presencia. Posibles genes involucrados en la biotransformación. Se realizó un análisis transcripcional mediante RT-qPCR (2^{-ΔΔ}CT) sin y con F en el medio.

Resultados. La figura 1 muestra el comportamiento de *A. baylyi* ADP1 en presencia de acetato y F o FOH.

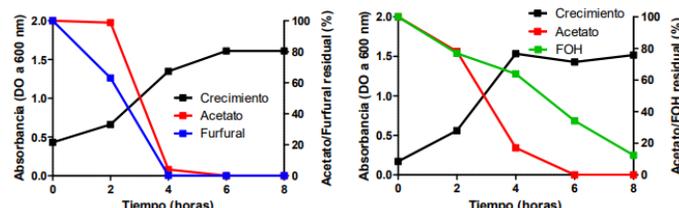


Fig. 1. ADP1 en presencia de acetato 2 g/Ly F o FOH 1 g/L. Porcentaje de acetato y F o FOH residual.

A medida que el F o FOH se agotó, se identificó por HPLC un nuevo compuesto, el cual, se analizó mediante IR, ¹H-NMR y ¹³C-NMR y se determinó que se trataba del difurfúrico éter.

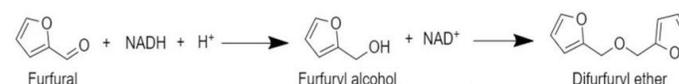


Fig. 2. Reacciones propuestas durante la biotransformación del F.

En la fase estacionaria del cultivo se determinó que la velocidad de biotransformación del furfural es de 1 g/L/h. El análisis transcripcional reveló un aumento en la expresión de los genes *frmA*, *areB*, *pntA-1* y *pntA-2*.

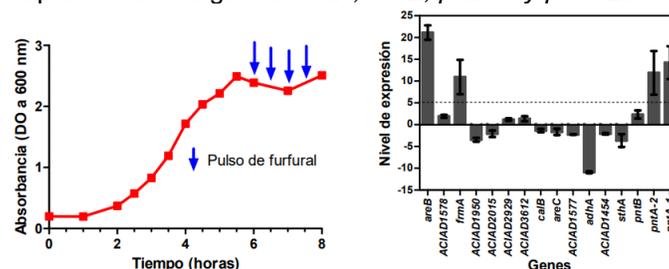


Fig. 3. Izquierda: pulsos de F 0.5 g/L. Derecha: Nivel de expresión de genes

Conclusiones. *A. baylyi* ADP1 detoxifica el F a una velocidad de 1g/L/h, siendo el intermediario de este proceso y obteniéndose difurfúrico éter como producto final. Dos de las alcohol deshidrogenasas responsables de la biotransformación del F son *FrmA* y *AreB*.

Agradecimientos. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) [CB- 2012-01/183 813]. Programa Especial de Apoyo a la Investigación Básica 2019 Rectoría General Universidad Autónoma Metropolitana.

Bibliografía.

1. Sigala, J. et al. (2017). *Microbiology*. 163(7): 1052-1064.
2. P Palmqvist, E., Hahn, B. (2000). *Bioresour. Technol.* 74(2000): 25-33.
3. Suárez, B. (2015). Tesis Maestría. UAM.
4. Furkan, H., Remzi, B. (2015). *Polym. Chem.* 6(25): 4497-45.
5. Jönson, L., Martin, C. (2016). *Bioresour. Technol.* 199(2016): 103-112.

LA COMUNICACIÓN CELULAR REGULA LA DISPERSIÓN Y *FITNESS* DE BIOPELÍCULAS DE *Bacillus thuringiensis* A TRAVÉS DE LA SÍNTESIS DE UN SURFACTANTE

Abel Verdugo-Fuentes^{1,2}, Mayra de la Torre^{1,2} y Jorge Rocha³

¹Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Unidad Regional Hidalgo. San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo, Mexico, 42163; ²Departamento Ciencias de los Alimentos, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Hermosillo, Sonora, Mexico, 83304; ³CONACYT- Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Unidad Regional Hidalgo. San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo, Mexico, 42163

jorge.rocha@ciad.mx

Palabras clave: comunicación celular, *Bacillus thuringiensis*, dispersión.

Introducción. *Quorum sensing* (QS) son mecanismos de comunicación celular que coordinan la expresión genética bacteriana en respuesta a moléculas de señalización [1]. En *Bacillus thuringiensis* (Bt) el sistema de QS NprR-NprRB actúa como regulador transcripcional y/o como modulador del inicio de la esporulación [2]. Bt es el microorganismo más utilizado en biotecnología y se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, sin embargo, poco se sabe sobre su ecología o sobre la regulación de las funciones que permiten su supervivencia en hábitats distintos a los de los insectos-hospedadores, como el suelo, las raíces de las plantas o como endófito vegetal [3].

El objetivo del trabajo fue evaluar la participación del sistema de QS NprR-NprRB sobre el fenotipo de dispersión y *fitness* de Bt.

Metodología. Se realizaron diversos ensayos de dispersión y *fitness* de biopelículas de Bt utilizando las cepas Bt8741 silvestre y mutantes derivadas con delección en el casete *nprR-nprRB* y complementadas con los genes *nprR* y *nprR-nprRB*. Para ello, se realizaron mediciones del radio de las colonias y se contabilizaron las UFC, después de 7 días de incubación a 30° C en medios convencionales y extracto de suelo. Se realizaron ensayos de interacción para evaluar la participación de componentes extracelulares y se evaluó el efecto de la adición exógena del péptido sintético de NprRB (SKPDIVG) y del lipopéptido surfactina.

Resultados. Se requiere de la presencia de los genes *nprR* y *nprRB* para la dispersión de la biopelícula de Bt, tanto en medios convencionales como en el suelo (Figura 1). En los ensayos de interacción entre la cepa Wt y la cepa mutante complementada con el receptor NprR, no se logró rescatar el fenotipo de dispersión. Este resultado se corroboró mediante imágenes de fluorescencia, donde se observó que la cepa mutante permaneció localizada en el centro de la biopelícula mientras que la cepa Wt se dispersó en la superficie del agar; sin embargo, el fenotipo se recuperó al añadirse de forma exógena una concentración de 500 nM del péptido sintético de NprRB (SKPDIVG). La adición del péptido no tuvo ningún efecto en el fenotipo de dispersión cuando el

receptor NprR está ausente. Por lo que el fenotipo de dispersión requiere, tanto el péptido de señalización maduro como su reconocimiento por el receptor NprR. Se encontró que la dispersión de la biopelícula es proporcional al *fitness*, por lo que la cepa Wt tuvo un mejor *fitness* que las cepas mutantes. Dado que NprR regula la síntesis del lipopéptido kurstakina [4], se hipotetizó que este biosurfactante podría participar en la dispersión, la adición de surfactina exógena restauró el fenotipo de dispersión en la cepa mutante. Estos hallazgos no habían sido reportados previamente y demuestran la relevancia y la esencialidad del sistema de QS NprR-NprRB en la evolución y ecología del estilo de vida libre de Bt.

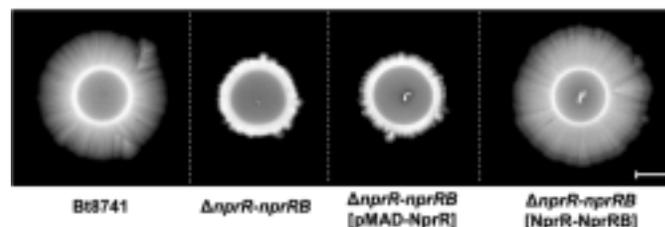


Figura 1. Fenotipo de dispersión de la cepa Wt y mutantes derivadas. La escala indica 5 mm.

Conclusiones. El sistema de QS NprR-NprRB participa en la dispersión de biopelículas de Bt. El mecanismo molecular podría ser mediado por la regulación de la síntesis de kurstakina o alguna otra molécula surfactante. Finalmente, el fenotipo de dispersión podría jugar un papel relevante en la ecología y estadios de vida libre de la bacteria.

Agradecimiento. Al CONACYT, por la beca de posgrado No. 449242 a Abel Verdugo Fuentes y por el financiamiento del proyecto No. 267837 a cargo de la Dra. Mayra de la Torre.

Bibliografía.

1. Rutherford S, Bassler B. (2012). *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2 (11): a012427.
2. Cabrera R, Rocha J, Flores V, Vázquez-Moreno L, Guarneros G, Olmedo G, de la Torre M. (2014). *Appl Microbiol Biotechnol.* 98 (22): 9399-9412.
3. Argólo-Filho R, Loguercio L. (2014). *Insects.* 5 (1):62-91.
4. Perchat S, Talagas A, Poncet S, Lazar N, Li de la Sierra-Gallay I, Gohar M, Lereclus D, Nessler S. (2016). How quorum sensing connects sporulation to necrotrophism in *Bacillus thuringiensis*. *PLOS Pathog* 12 (8):e1005779.

AISLAMIENTO DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS DEL TRACTO INTESTINAL DE TILAPIA NILOTICA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*) Y SU ACTIVIDAD ENZIMÁTICA (PROTEASAS, LIPASAS Y CARBOHIDRASAS).

Arely Anahi Itzá Colli¹, Ruth López Alcántara², Maurilio Lara Flores¹

¹Instituto de Ecología, Pesquerías y Oceanografías del Golfo de México (EPOMEX), Campus VI de la Universidad Autónoma del Estado de Campeche, Facultad de Ciencias Químico – Biológicas. ²Centro de Investigaciones Biomédicas, UAC. Av. Héroe de Nacozari 480, C.P. 24079. San Francisco de Campeche, Campeche.

E-mail: anahi210496@gmail.com.

Palabras clave: Bacterias ácido lácticas, *Lactobacillus plantarum*, enzimas

Introducción. Los efectos de los probióticos derivados de bacterias ácido lácticas (BAL), se han relacionado con la modulación de la microbiota intestinal, el establecimiento de microorganismos benéficos y actividades enzimáticas digestivas, esto aumenta la digestibilidad de nutrientes y la utilización de alimentos [1]. Los microorganismos probióticos han tenido un crecimiento exponencial, por las propiedades benéficas que confieren dentro del sector acuícola [1,3]. Los probióticos proporcionan un beneficio real y son una alternativa viable y sobre todo sustentable [2]. El presente trabajo, tiene como objetivo Aislador BAL de la microflora gastrointestinal de tilapia nilótica y determinar su capacidad proteolítica, lipolítica y carbohidrasa

Metodología. Se emplearon intestinos de alevines de tilapia en etapa exponencial de crecimiento, el aislamiento de bacterias ácido lácticas se llevó a cabo en medio agar MRS incubados a temperatura ambiente por 48 h tal como señala Bustos Gutiérrez [2]. Para la identificación primaria de las bacterias se empleó la técnica bacteriológica de tinción diferencial de Gram. La identificación bioquímica de las cepas de BAL se realizó con el sistema API 50 CHL, las galerías fueron incubadas por 48 horas a 35°C. Las actividades enzimáticas [4] se determinaron cualitativamente de acuerdo con métodos modificados. Los extractos proteicos de BAL fueron obtenidos por medio de lisozima y precipitados a diferentes concentraciones de sulfato de amonio [5].

Resultados. Las morfologías bacterianas encontradas coinciden con las características de BAL [1,2]. Se aislaron colonias bacterianas Gram (+) con morfología de bacilos y cocos y se sometieron a análisis cualitativo ante inductores como la leche descremada, nata de leche o sacarosa. De acuerdo al resultado se seleccionaron 3 de los aislados que presentaron la mayor actividad enzimática medida como tamaño de halo de hidrólisis. Las pruebas bioquímicas de los aislados seleccionados identificaron los aislados como *Lactobacillus plantarum* 1. Por otro lado, a partir del fraccionamiento del cultivo se observó que la

mayor actividad enzimática residió en el paquete celular, sugiriendo que la actividad fue asociada a la biomasa.



Fig. 1. Caseinólisis radial de *L. plantarum* aislada de Tilapia nilotica PC (paquete celular), SN (Sobrenadante), SOL (Solución)

Tabla 1. Actividad hidrolítica (en milímetros de halo de hidrólisis) del paquete celular del *L. plantarum* (aislado 16)

Lipasa	Proteasa	Carbohidrasa
26 mm	20 mm	23 mm

Conclusiones. Se aislaron e identificaron *Lactobacillus plantarum* provenientes del tracto intestinal de Tilapia nilótica que mostraron las mejores actividades de proteasas, lipasas y carbohidrasas.

Agradecimiento. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada: 1002067 entre 2019 y 2021.

Bibliografía.

1. Akhter, N., Wu, B., Memon, AM y Mohsin, M. (2015). Inmunología de pescados y mariscos, 45 (2), 733-741.
- 2- Ferrero, M. A. (1995). Estudios de producción de proteasas en especies del género Bacillus, 7027-7035
- 3- Ramírez-López, C., & Vélez-Ruiz, J. F. (2016). Aislamiento, caracterización y selección de bacterias lácticas autóctonas de leche y queso fresco artesanal de cabra. Información tecnológica, 27(6), 115-128.
- 4- García Ibarra, J. A. (2007). Identificación de bacterias ácido lácticas mediante perfiles de fermentación y ribotipificación. 28, 300-307
- 5- Quintín Bueno, N. P. (2010). Extracción de la fracción proteica utilizando dos solventes (agua y tris hcl). 125, 325-341.

BÚSQUEDA Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS CEPAS DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS PRODUCTORAS DE EXOPOLISACÁRIDOS AISLADAS DE SEDIMENTOS.

Cristian Jesús Medina Dzul¹, Tania González Flores², María de los Ángeles Sánchez Contreras², 1. Instituto Tecnológico Superior del Sur del Estado de Yucatán, Oxxutzcab 97880, 2. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ) Subsección Sureste,

msanchez@ciatej.mx.

Palabras clave: Exopolisacáridos, Bacterias ácido-lácticas, sedimentos costeros

Introducción. Las bacterias ácido lácticas (BAL) son consideradas GRAS (*Generally Recognized as Safe*) y son un amplio grupo de microorganismos en forma de cocos y bacilos de longitud y grosor variable (0.5 – 0.8 μm); con fisiología uniforme, no formadoras de esporas, de pared Gram-positiva, anaerobias facultativas, catalasa negativa e inmóviles (1,2). En su superficie algunas BAL producen de manera natural polisacáridos de cadena larga con unidades repetidas de azúcares denominados exopolisacárido (EPS) (2,3). Dentro de este grupo se han aislado e identificado BAL del género *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* y *Weissella*, proveniente de sedimentos costeros (4).

Nuestro objetivo es buscar nuevas cepas BAL productoras de EPS aislados de sedimentos.

Metodología. Se utilizaron 17 cepas aisladas previamente de sedimentos costeros de la Península de Yucatán y una cepa aislada de residuos cítricos. Las cepas se sembraron en medio sólido MRS usando el método de estriado, incubando a 35°C por 48 horas. Se tomaron colonias aisladas del cultivo anterior y se llevaron a cabo las siguientes pruebas de identificación: tinción de Gram, prueba de catalasa y morfología de colonia. Se seleccionaron dos cepas para evaluar la producción de EPS. Se usó un medio mínimo líquido ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y Na_2HPO_4) suplementado con sacarosa en dos concentraciones (50 y 200 g/L). Se incubaron a 40°C, 150 rpm durante 48 horas. Se utilizó una adaptación del método de precipitación con etanol (etanol al 96% a -17.1°C durante 24 h) (5) para obtener el EPS producido a las 48 horas y la cantidad de EPS (mg) se determinó por peso en una estufa a 70°C. Se utilizó un analizador bioquímico YSI 2900 para cuantificar los azúcares del medio durante el crecimiento de cada cepa.

Resultados. Todas las bacterias aisladas de los sedimentos dieron una respuesta positiva a la tinción Gram y negativa a la prueba de catalasa, con forma de cocos, con colonias uniformes y de aspecto Mucoide (Fig. 1); reconociendo claramente las características de BAL (Tabla 1). El EPS producido por CSI27 se estimó en 25.82 g/L, mientras que la cepa Xer-19 produjo 28.42 g/L, valores similares reportados en aislamientos de BAL de lácteos crudos (3). El análisis bioquímico de la fermentación reportó la presencia de glucosa y sacarosa, por lo que se concluye que el EPS

producido podría ser un heteropolisacárido compuesto por unidades de glucosa y fructosa.

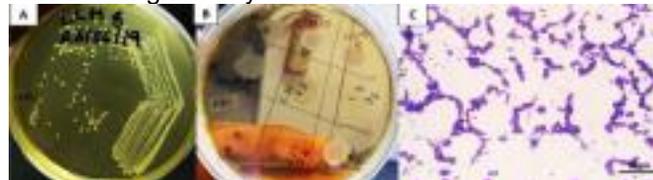


Fig. 1. Estriado de las cepas (A). Aislamiento de colonias puras de las cepas (B). Vista microscópica óptica 100X de la cepa CSI27 con tinción Gram (C).

Tabla 1. Caracterización microscópica y macroscópica de las cepas.

Cepa	Catalasa	Gram	Forma	Rasgo
CLM1, CLM2, CLM3, CLM4, CLM8, CLM9, CLM10	–	+	Cocos	Mucoide
CSI27, CSI28, CSI29, CSI30, CSI31, CSI32, CSI33, CSI34, CSI35, CSI36	–	+	Cocos	Mucoide
Xer-19	–	+	Bacilo	Mucoide

*CLM= Cepa aislada de sedimentos de la Laguna Maravillas, *CSI= Cepa aislada de sedimentos de la Laguna de Silvituc, *Xer-19= *Bacillus sp.* aislada de residuos agroindustriales cítricos.

Conclusiones. En este estudio, una de las 17 cepas aisladas de sedimentos costeros identificadas como BAL (CSI27), demostró mejor capacidad para producir EPS con un rendimiento de producción de 25.82 g/L. en comparación con los 28.42 g/L que produjo la aislada de residuos cítricos. Lo que indica que la diversidad bacteriana de los sedimentos presenta un potencial uso para su aplicación biotecnológica debido a su capacidad de producción de EPS.

Agradecimiento. FOSEMARNAT-2004-01-280 por las cepas aisladas de sedimentos, proporcionadas para realizar este trabajo en el CIATEJ Subsección Sureste.

Bibliografía.

- (1) Du, C., & Webb, C. (2011). *Comprehensive Biotechnology*. 2: 11-23
- (2) Parra, R. (2010). *Facultad de Ciencias Agropecuarias*. 8(1): 93-105
- (3) Gayathiri, E., Bharathi, B., Velu, S., Siva, N., Natarajan S, Prabavathi, S., & Selvadhas, S. (2017). *International Journal of Pharma And Chemical Research I*. 3(2): 202-211
- (4) Sica, M., Olivera, N., Brugnoli, L., Marucci, P., López, A., & Cubitto, M. (2010). *R. de Biol. Marina y Oceanografía*. 45(3): 387-397.
- (5) Bajpai, V., Majumder, R., Rather, I., & Kim, K. (2016). *Bangladesh Journal of Pharmacology*. 11(3): 573-576.



CARACTERIZACIÓN DE CONSORCIOS MICROBIANOS CAPACES DE PRODUCIR CELULOSA A PARTIR DE LA FERMENTACIÓN DE MORINGA.

Juan Pablo Hernández Rodríguez¹, Andrea Franco Moreno², Alexei Fedorovich Licea Navarro², Mayra Zulema Treviño Garza³, Celestino García Gómez¹, Beatriz Adriana Rodríguez Romero¹, Julia Mariana Márquez Reyes¹. ¹Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León. Escobedo, Nuevo León. 66050. ²Departamento de Innovación Biomédica, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Carretera Ensenada-Tijuana, Ensenada. 22860. ³Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. San Nicolás de los Garza, Nuevo León. 66455.
pablodx486@gmail.com.

Palabras clave: kombucha, moringa, celulosa microbiana.

Introducción. Kombucha es una bebida fermentada elaborada mediante una simbiosis de bacterias y levaduras, donde se genera dos productos: una bebida fermentada y celulosa microbiana (CM) esta última tiene propiedades como gran capacidad de absorción de agua y resistencia a la tracción. Por lo cual la CM ha tenido diferentes aplicaciones en el área biomédica, nanotecnología, como ingrediente alimentario y como material de envasado (1). La moringa (*Moringa oleifera*) es una planta reconocida mundialmente por sus grandes beneficios a la salud destacando su capacidad antioxidante y antimicrobiana (2) pero existe poco aprovechamiento de su tallo.

El objetivo de este proyecto es identificar los géneros de bacterias presentes en los consorcios y la producción de CM utilizando como medio de fermentación tallo de moringa.

Metodología. Se utilizaron cinco consorcios microbianos denominados original (COR), piña (CPN), uva (CUV), frambuesa (CFM) y frutos rojos (CFR). Un análisis metagenómico por 16S rRNA para las bacterias, con un kit de secuenciación para 16S A26216 y un análisis bioinformático. El fermentado de moringa se elaboró con sacarosa, moringa y agua destilada a 85°C. Posteriormente se inoculó el medio con cada consorcio y se incubó a 25 °C por un periodo de 13 días. Finalmente se cuantificó el peso de la CM en condiciones húmedas y secas a 44 °C por 48h.

Resultados. El análisis metagenómico mostró que los cinco consorcios de kombucha coincidieron que el filo más abundante fue *Proteobacteria*, clase *Alphaproteobacteria* y géneros *Acetobacter* y *Gluconobacter* (Fig. 1) que son los más abundantes en general en kombucha (3). La principal bacteria encargada de la síntesis de celulosa es *Acetobacter xylinum* (1). Para la biomasa generada en cada consorcio se evaluaron dos factores: el espesor y el peso húmedo y seco (Tabla 1). En el peso seco y húmedo hay una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre cada película generada, mediante una comparación de medias se demostró que en peso húmedo las que presentan mayor masa son COR y CPN, en cuanto a el peso seco hay una gran diferencia donde

COR tiene mayor biomasa. El incremento de la biomasa es debido a la cantidad de microorganismos productores de la celulosa. Se observó el mayor desarrollo de la biomasa a los 14 días indicando que el tiempo de fermentación es proporcional a la cantidad de biomasa generada durante la duración del experimento (4). Por último, el espesor se relaciona con el peso obtenido de la celulosa, siendo COR el que presenta mayor espesor y peso en comparación a los otros consorcios.

Tabla 1. Peso seco (PS), húmedo (PH) y espesor (E) promedio de los cinco consorcios

Consorcio	PS (g)	PH (g)	E (mm)
CFM	0.085 ± 0.017 b	2.627 ± 0.792 b	0.097 ± 0.021 b
CFR	0.165 ± 0.091 b	3.166 ± 2.302 b	0.100 ± 0.016 b
COR	0.321 ± 0.072 a	8.222 ± 1.573 a	0.188 ± 0.022 a
CPN	0.129 ± 0.036 b	4.325 ± 2.977 a	0.108 ± 0.013 b
CUV	0.1211 ± 0.030 b	4.081 ± 2.353 b	0.099 ± 0.019 b

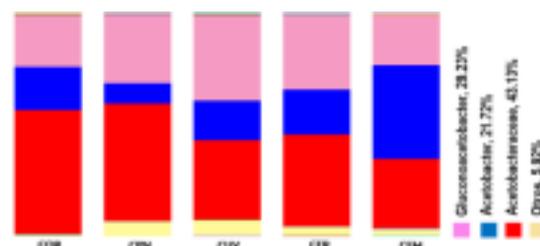


Fig. 1. Abundancia relativa de familias y géneros, detectada para los cinco consorcios analizados.

Conclusiones. La presencia de *Acetobacter* en los cinco consorcios promueve la producción de celulosa en medio de moringa, siendo COR y CPN los que tienen mayor abundancia de *Acetobacter* y por ende mayor producción de CM.

Agradecimiento. Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICSE), por la colaboración en el área de metagenómica.

Bibliografía.

- Martínez Leal, J., Valenzuela Suárez, L., Jayabalan, R., Huerta Oros, J., & Escalante-Aburto, A. (2018). *CyTA - Journal of Food*, 16(1), 390–399.
- Abdull Razis, A. F., Ibrahim, M. D., & Kntayya, S. B. (2014). *Asian Pac J Cancer Prev*, 15(20), 8571–8576.
- Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & Sathishkumar, M. (2014). *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 13(4), 538–550.
- Kallel, L., Desseaux, V., Hamdi, M., Stocker, P., & Ajandouz, E. H. (2012). *Food Res. Int.*, 49(1), 226–232



ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE LA EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE GENES EN CULTIVOS DE PRODUCCIÓN DE BIOLÍPIDOS EN *Yarrowia lipolytica*.

Juan Luis Ávila González, Alan Kevin Pineda, Enya Arantza Cárcamo, Víctor Sánchez Santos, Aurora Antonio Pérez. Tecnológico de Monterrey, Escuela de Ingeniería y Ciencias, Campus Estado de México. Carretera Lago de Guadalupe Km.3.5 Atizapán de Zaragoza Col. Margarita Maza de Juárez. CP 52926, Atizapán de Zaragoza, Estado de México. a.antonio@tec.mx.

Palabras clave: DEGs, *Yarrowia lipolytica*, Biolípidos.

Introducción. En los últimos años ha aumentado el interés en el uso de *Yarrowia lipolytica* por sus características bioquímicas y capacidades metabólicas que le permiten asimilar diferentes fuentes de carbono, incluyendo materiales hidrofóbicos e hidrofílicos conduciendo a su aplicación en la producción de metabolitos y particularmente de biolípidos (1,2). Este trabajo se centra en la aplicación de diversas herramientas bioinformáticas para obtener una visualización más clara y concisa de lo que está ocurriendo a nivel bioquímico, metabólico y transcripcional durante la producción de biolípidos en *Y. lipolytica*, mediante el análisis de expresión diferencial de genes a partir del análisis del microarreglo GSE35447 ([GEO Accession viewer \(nih.gov\)](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE35447))

Metodología. El análisis se realizó a través de una base de datos de muestras obtenida de GEO dataset con ID "GSE35447" ejecutado en la plataforma GPL15177 Agilent-031148 *Y. lipolytica* V2. Se hizo el seguimiento de los DEGs analizados durante la etapa de producción de biolípidos de *Y. lipolytica* en configuración D-stat. Acorde a los datos del microarreglo los experimentos D Stat se realizaron en un biorreactor de tanque agitado de 3 L con Vop de 1.5 L, Oxígeno mayor a 20% (oxígeno no limitante), temperatura de 28 °C y pH 5.6. A partir de las características de los datos del microarreglo, se hizo la construcción de grupos con base en los tiempos de producción partiendo de 119 h (referencia) y de 139 h a 189 h (tiempos indicados en Fig. 1). Los datos obtenidos se procesaron y filtraron mediante la aplicación de las librerías 'GEOquery', 'limma' y 'umap'. de la plataforma RStudio en GEO2R. A partir del microarreglo normalizado se seleccionaron genes con $P < 0.05$. Se obtuvo una lista de DEGs los cuales se analizaron en GeneBank, STRING y GO. Recursos que permitieron un análisis sistemático y biológico molecular de los DEGs.

Resultados. En la figura 1 se muestran las gráficas de volcán que permiten apreciar la expresión diferencial de genes de *Y. lipolytica* a diversos tiempos de producción de biolípidos. En la tabla adjunta en Fig. 1, se presentan la cuantificación de DEGs con sub o sobre expresión. En los tiempos de 165 a 190 se observa la activación de muchos más genes (2819 a 1728),

señalando que *Y. lipolytica* activa una mayor cantidad de genes al momento de sintetizar lípidos.

Se obtuvo una lista de 15 DGEs más significativos ($P < 0.05$). Para comprender la relación de funcionalidad de los 15 DEGs se analizaron redes de interacción en STRING y GO (Fig. 2).

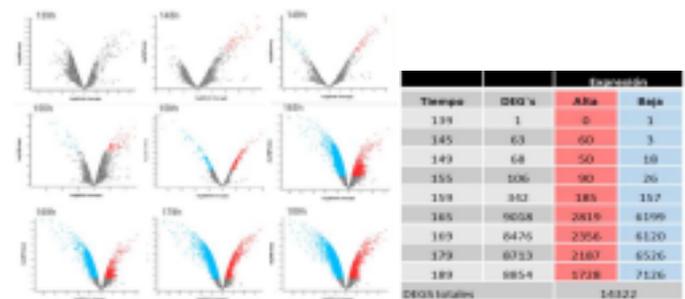


Fig. 1. Gráficas de volcán de los DEGs de *Y. lipolytica* a diferentes tiempos de producción de biolípidos. Los DEGs identificados durante la producción de biolípidos de *Y. lipolytica*. Los DEGs totales fueron 14322. Para cada tiempo una proporción diferencial de DEGs fueron sub o sobre expresados. Tomándose como referencia la expresión al tiempo 119 h, previo al estadio D-stat (previo a biosíntesis). Los (●) representan DEGs regulados a la alza y (●) a la baja.

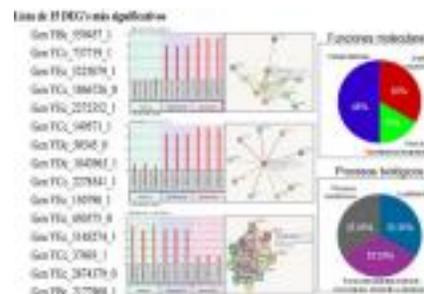


Fig. 2. Análisis en STRING y GO de los 15 DEGs de *Y. lipolytica*. Se presentan 3 resultados representativos de los ejecutados para todos los genes identificados como DEGs durante la producción de biolípidos en *Y. lipolytica* a diferentes tiempos.

Conclusiones. Sólo 9 de los 15 DEGs identificados durante la producción de biolípidos en *Y. lipolytica* están bien caracterizados, lo que señala una amplia área de oportunidad en el estudio de este organismo. Las proteínas identificadas se dividen en: Enzimas de interconversión metabólica, proteínas acarreadoras y proteínas transportadoras correlacionadas a procesos biológicos de metabolismo, adaptación, crecimiento, desarrollo) y de localización.

Bibliografía.

- Groenewald, M., Boekhout, T., Neuvéglise, C., Gaillardin, C. (2014). *Yarrowia lipolytica*: safety assessment of an oleaginous yeast with a great industrial potential. *Critical reviews in microbiology*, 40 (1), 187-206.
- Zhang, J., Peng, YZ., Liu, D. et al. Gene repression via multiplex gRNA strategy in *Y. lipolytica*. *Microb Cell Fact* 17, 62 (2018).

DESARROLLO DE UN INMUNOENSAYO PARA DETECTAR LA RESPUESTA INMUNE ESPECÍFICA PARA LAS TOXINAS APX DE *Actinobacillus pleuropneumoniae* L.

Monserath Mora Gálvez¹, Héctor M. Castañeda Aponte¹, Calef Sánchez Trasviña¹, G. Priscila Galaviz Martínez², Isaac L.

Solorio Hernández², Maritza Guzmán Cervantes², Karla P. Mayolo-Deloisa¹, Cuauhtémoc Licona Cassani¹

¹Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey EIC, Monterrey, N.L., CP 64000. ²Departamento de Investigación y Desarrollo, LAPISA Salud Animal, La Piedad, Michoacán, CP 59375.

A01220252@itesm.mx.

Palabras clave: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, Toxinas Apx, Cromatografía de afinidad.

Introducción. La industria porcina representa un 20% de la industria de producción de carne en México. Una de las enfermedades que afecta su producción es la pleuroneumonía porcina, cuyo agente etiológico es la bacteria Gram negativa *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Este microorganismo codifica para varios factores de virulencia, siendo los más importantes las exotoxinas Apx I, II, III, y IV (1). Las vacunas de subunidades son unas de las opciones más prometedoras para ayudar en el control de la enfermedad. Para validar el proceso de producción de estas vacunas es necesario hacer pruebas inmunológicas (2). El objetivo de este trabajo es desarrollar un sistema heterólogo para la producción de fragmentos de las toxinas Apx I, II, y III en *Escherichia coli* con el fin de obtener sueros hiperinmunes para un inmunoensayo adecuado.

Metodología. *Expresión heteróloga.* Se seleccionaron secuencias parciales de las tres toxinas para ser clonadas en el vector pET28-b(+) y expresadas en *E. coli* BL21 DE3+ de manera independiente (3). *Cinética de crecimiento.* Se realizó en 50 ml de medio Terrific Broth y se indujo con IPTG. La proteína se recuperó en buffer para cuerpos de inclusión (25 mM Tris HCl, 100 mM NaCl, 8 M Urea, pH: 7.5) (4). *Purificación.* La purificación se llevó a cabo en columna de afinidad HisPrep FF 16/10 en un sistema de cromatografía líquida ÄKTA Pure. Las fracciones obtenidas se corren en un SDS-PAGE. Se valida la obtención de la proteína por Western Blot y se preparan para secuenciación.

Resultados.

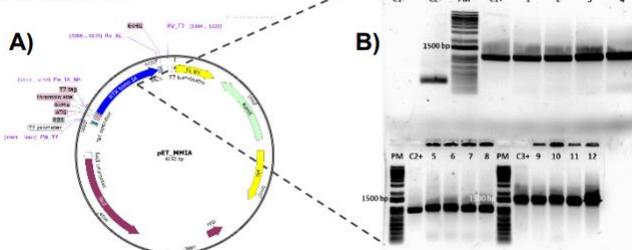


Fig. 1. A) Plásmido con el inserto del fragmento de la toxina Apx I. **B)** Gel de PCR de colonia como validación de la correcta construcción de los plásmidos con los insertos de los fragmentos para las toxinas Apx I (carriles 1 a 4), Apx II (carriles 5 a 8), y Apx III (carriles 9 a 12).

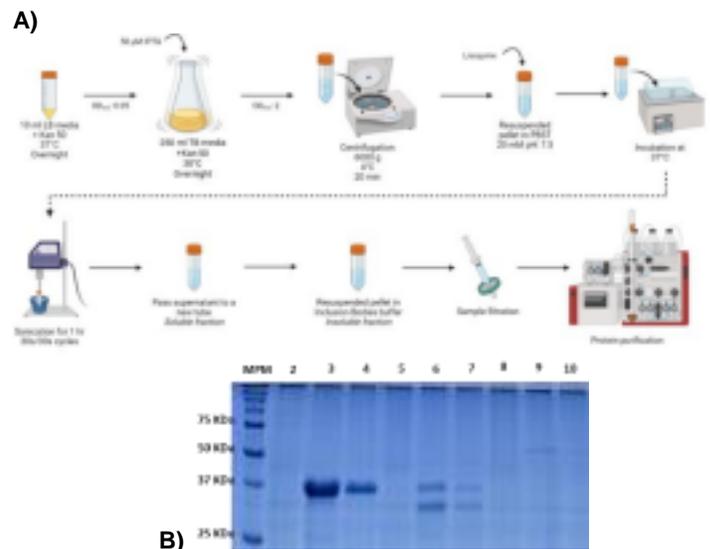


Fig. 2. A) Protocolo para la expresión y purificación de las proteínas Apx. **B)** SDS-PAGE en dilución 1:5 para las fracciones insolubles de las proteínas Apx I (carriles 3 y 4), Apx II (carriles 6 y 7) y Apx III (carriles 9 y 10). Purificados mediante cromatografía de afinidad por His-tag en el sistema ÄKTA Pure.

Conclusiones. Estos resultados demuestran que es posible llevar a cabo la clonación y la producción heteróloga de fragmentos de las toxinas Apx en *E. coli*. Asimismo, el proceso de purificación se optimiza tomando en consideración dos factores: la concentración de IPTG y la temperatura de crecimiento. Para este protocolo, una concentración de 50 μ M y una temperatura de cultivo de 30°C son las condiciones óptimas de operación para el sistema.

Agradecimiento. Este trabajo fue posible gracias al apoyo del Tecnológico de Monterrey, Núcleo de Innovación de Sistemas Biológicos, StrainBiotech, LAPISA Salud Animal y Conacyt.

Bibliografía.

- Bossé, J. T., Janson, H., Sheehan, B. J., Beddek, A. J., Rycroft, A. N., Kroll, S. & Langford, P. R. (2002). *Microb Infect.* 4 (2): 225-235.
- Loera-Muro, A. & Angulo, C. (2018). *Vet Microbiol.* (217): 66- 75.
- Shao, M., Wang, Y., Wang, C., Guo, Y., Peng, Y., Liu, J., Li, G., Liu, H. & Liu, S. (2010). *Acta Vet Scand.* 52 (1): 52-59.
- Singh, A., Upadhyay, V., Upadhyay, A. K., Singh, S. M. & Panda, A. K. (2015). *Microb Cell Fact.* 14 (41).

ANÁLISIS COMPARATIVO DE FACTORES DE VIRULENCIA EN *Pseudomonas aeruginosa*: IDENTIFICACIÓN DE BLANCOS PARA ESTRATEGIA ANTI-VIRULENCIA

PS Lucero-Hernández¹, ME Perez-Galvan¹, S Zarazúa-Guzman¹, FR Ceballos-Huerta¹, VA Hernández-Aranda², R Jarquin-Galvez², G Aguilar-Benítez², JP Lara-Ávila*². ¹Facultad de Ciencias Químicas, UASLP. ²Facultad de Agronomía y Veterinaria UASLP. San Luis Potosí SLP CP 78000.

Email pablo.lara@uaslp.mx

Palabras clave: Filogenética, Sistemas de secreción, Metabolitos secundarios

Introducción. *Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria gram-negativa, patógeno oportunista en humanos, frecuentemente se asocia a infecciones nosocomiales, con altos niveles de multirresistencia. *P. aeruginosa* posee factores de virulencia basados en: I) sistemas de secreción, que le ayudan a secretar proteínas al exterior y/o al interior de células del hospedero; y en II) metabolitos secundarios que le permiten establecerse en tejidos del hospedero; entre ellos destacan pioverdina, piocianina y ácido butenoico. Los mecanismos de virulencia contienen proteínas específicas que al ser bloqueadas, podrían incidir en la disminución del comportamiento virulento de *P. aeruginosa*. Lo cual, constituye una estrategia anti virulencia para el control de infecciones de *P. aeruginosa*.

El objetivo del trabajo fue determinar el nivel de conservación de factores de virulencia, en un contexto evolutivo, como un criterio previo para el desarrollo de una estrategia anti-virulencia contra *P. aeruginosa*.

Metodología. A partir de genomas y proteomas (NCBI) de cepas de *P. aeruginosa* y *P. fluorescens* se realizó el mapeo funcional en GhostKOALA y la predicción de metabolitos secundarios en AntiSMASH. Se seleccionaron genes involucrados en los sistemas de secreción tipo III (T3SS) y enzimas involucradas en la biosíntesis de pioverdinas, ácido butenoico y piocianinas, en cada cepa de *P. aeruginosa*. Con los genes mencionados, se realizó la reconstrucción filogenética a nivel de secuencias de ADN y proteínas con el software MEGA 7.

Resultados. En el presente trabajo, se identificaron las proteínas involucradas en los mecanismos de transporte TAT, SEC-SRP y T3SS, así como en los procesos biosintéticos de metabolitos secundarios pioverdina, piocianina y ácido butenoico, en varias especies de *P. aeruginosa*. El análisis genómico comparativo de los clusters biosintéticos de pioverdina, piocianina y ácido butenoico, permitieron determinar el nivel de sintenia entre las cepas de *P. aeruginosa*, así como la identificación de genes codificantes de proteínas transportadoras de membrana. El análisis incluyó la reconstrucción filogenética de cada gen a nivel de proteína y nucleótidos.

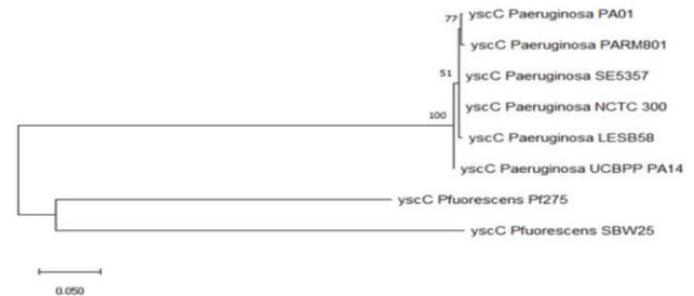


Fig. 1 Reconstrucción filogenética del gene *yscC*, componente del T3SS. Es posible observar la baja tasa de sustitución de nucleótidos en *yscC* de *P. aeruginosa*.

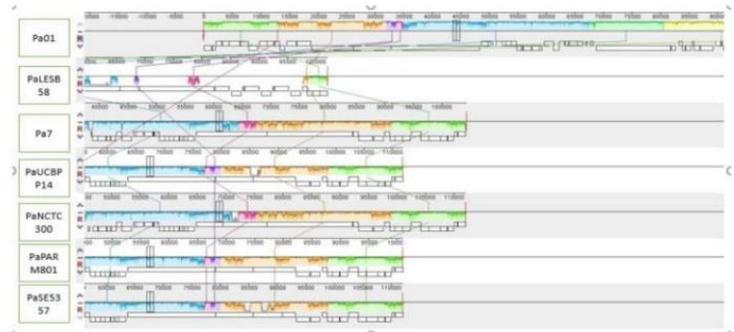


Fig. 2 Análisis genómico comparativo del cluster biosintético de pioverdina en cepas de *P. aeruginosa*. En cada clúster se identificaron genes biosintéticos, para transporte y regulación.

Conclusiones. Mediante la reconstrucción filogenética de genes implicados en T3SS, en el transporte y biosíntesis de pioverdina, piocianina y ácido butenoico, se encontró una baja tasa de sustitución de nucleótidos y aminoácidos. Por lo tanto, los genes analizados tienen estabilidad evolutiva y conservación estructural a nivel proteínico, lo cual habla de conservación funcional. Por lo cual, podrían ser candidatos para el desarrollo de estrategias anti-virulencia para el control de infecciones por *P. aeruginosa*.

Bibliografía.

- 1) Green ER, Meccas J. 2016. Microbiology spectrum. 4(1).
- 2) Fleitas Martínez O, Cardoso MH, Ribeiro SM, Franco OL. 2019. Front Cell Infect Microbiol.;9:74.
- 3) Silby MW, Winstanley C, Godfrey SA, Levy SB, Jackson RW. 2011. FEMS Microbiology Reviews. 35(4), 652–680).



FUNCIONALIDAD DE LA REGIÓN TERMINADORA DEL GEN GAP EN UN CASETE DE EXPRESIÓN CON PROMOTOR GAP EN CEPAS RECOMBINANTES DE *Pichia pastoris* (*Komagataella spp.*)

Nancy Pentón-Piña, Martha Guerrero-Olazarán, José María Viader-Salvadó

Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Instituto de Biotecnología San Nicolás de los Garza, N. L., México C.P.66455.

jose.viadersl@uanl.edu.mx

Palabras clave: *Pichia pastoris*, terminador transcripcional, gen GAP

Introducción. El sistema de expresión de *Pichia pastoris* ha emergido con gran interés por las ventajas que ofrece en la producción de proteínas recombinantes. Últimamente dentro de los elementos reguladores de la transcripción se ha visto el importante papel que juegan los terminadores en la expresión génica y en la producción de proteínas (1,2), por lo que resulta de interés evaluar terminadores sustitutos del tradicional terminador AOX1 (3) en los vectores de expresión de *P. pastoris*.

En el presente trabajo se evaluó la funcionalidad del terminador del gen GAP como sustituto del terminador AOX1 en un vector de expresión con promotor GAP en cepas recombinantes de *Pichia pastoris*.

Metodología. Se diseñó, sintetizó y clonó en el vector pUCIDT-AMP (Integrated DNA Technologies, Inc., EUA) una secuencia sintética de ADN con la región del terminador del gen GAP (TTGAP) conteniendo la región 3'UTR del gen GAP (definida por 3'RACE), y 50 nucleótidos río abajo del sitio de poliadenilación, flanqueada además por los sitios de restricción de las enzimas Bsu36I y NotI (New England Biolabs, EUA). La correcta secuencia nucleotídica de TTGAP se verificó por secuenciación. Los vectores pUCTTGAP y pGAHFTEII se digirieron con las enzimas Bsu36I y NotI para obtener el inserto TTGAP y un fragmento del vector pGAHFTEII con el promotor del gen GAP y la región codificante de la proteína recombinante FTEII asociada en su extremo N-terminal con el péptido prepro del factor α de *Saccharomyces cerevisiae*. Estos fragmentos se ligaron con T4 ligasa (Promega, EUA) y se obtuvo el vector pGAHFTEIITTGAP. Con dicho vector linearizado previamente con la enzima Sall (Promega, EUA), se transformaron células electrocompetentes de *P. pastoris* KM71 para obtener la cepa KM71GAHFTEIITTGAP. La integración del casete de expresión en el genoma de la levadura se verificó por PCR. La funcionalidad del gen heterólogo con el promotor y terminador GAP se demostró por RT-PCR empleando oligonucleótidos específicos del gen heterólogo FTEII y la presencia extracelular de la proteína FTEII mediante SDS-PAGE en cultivos a 30°C y

250 rpm; primero en 25 mL de YPD por 8 h, y luego en BMG-CaCl₂ por 24 h con adición de 1% de glicerol a las 14 h.

Resultados. La doble digestión del vector pUCIDT-TTGAP generó un fragmento con el tamaño esperado de 620 pb (inserto). La digestión del vector pGAHFTEII generó dos fragmentos: el de interés con 7727 pb y un fragmento de 853 pb. La ligación de los fragmentos de 7727 pb y 620 pb generó el vector de expresión pGAHFTEIITTGAP con 8347 pb donde la región TTGAP reemplazó al terminador AOX1. En la transformación de *P. pastoris* con dicho vector previamente linearizado se obtuvieron 2000 clonas His^r. De esta forma quedó construida la cepa recombinante de *P. pastoris* KM71GAHFTEIITTGAP. La caracterización de la cepa por PCR demostró la correcta construcción e inserción del casete de expresión en el genoma de la levadura, al obtenerse una única banda con el tamaño esperado de 814 pb. Se demostró además la funcionalidad de los elementos reguladores (promotor y terminador del gen GAP) en el gen heterólogo FTEII al detectarse la presencia de transcritos. El análisis por SDS-PAGE de las proteínas extracelulares mostró un barrido amplio que se movió a una banda con tamaño aparente de 39 kDa después de tratamiento con Endoglicosidasa H, lo cual demostró la presencia de la forma N-glicosilada de proteína heteróloga FTEII en el sobrenadante de cultivo de la cepa KM71GAHFTEIITTGAP.

Conclusiones. Se demostró la funcionalidad del terminador del gen GAP como terminador alternativo al terminador AOX1 para ser empleado en vectores de expresión de *P. pastoris* con el promotor GAP como elementos reguladores del gen heterólogo y producir proteínas recombinantes de forma constitutiva.

Agradecimiento. Los autores agradecen al proyecto CB-2016-01 (#286093) y N.P.-P. agradece además el apoyo del CONACYT por la beca otorgada.

Bibliografía.

1. Currant K A et al. (2015) ACS Synth Biol. 4: 824-832.
2. Van Helden J et al (2000) Nucleic Acids Research. 28 (4): 1000-1010.
3. Vogl T et al. (2016) ACS Synth Biol. 5: 172-186.).



EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE EXOPOLISACÁRIDOS SINTETIZADOS POR UN CONSORCIO NATIVO.

Alina Sosa, Araceli González, Rafael Rojas, Rodrigo Guzmán, Mónica Sánchez
Universidad Autónoma de Yucatán, Facultad de Ingeniería Química, Mérida 97203

alina.sosad@gmail.com.

Palabras clave: Exopolisacáridos, Consorcio, Bacterias Halófilas.

Introducción. Los consorcios microbianos son capaces de sobrevivir a diversas condiciones, como ambientes extremos, mediante la formación de estructuras sinérgicas a nivel de población, como estromatolitos, esteras microbianas y, con mayor frecuencia, biopelículas.¹ Muchas bacterias han desarrollado su potencial bioquímico para la síntesis de polímeros extracelulares o exopolisacáridos (EPS) que constituyen una estrategia para adaptarse y sobrevivir en ambientes halófilos, ya que estos EPS les permiten a las células mantener un ambiente osmótico adecuado. Los EPS provenientes de microorganismos que habitan en ambientes hipersalinos poseen potenciales aplicaciones en distintos sectores industriales como de alimentos y biomedicina debido a sus propiedades emulsificantes, antioxidantes, de pseudoplasticidad, entre otros.² La síntesis de EPS microbianos ha sido estudiada a partir del aislamiento de los microorganismos productores; sin embargo, los EPS provenientes de consorcios han demostrado tener mayor eficiencia que un cultivo puro.³ La laguna rosada de Yucatán es un ambiente hipersalino que ha sido utilizado como fuente de consorcios microbianos productores de EPS.

El objetivo de este trabajo es extraer y caracterizar los exopolisacáridos provenientes de un consorcio nativo enriquecido del manto de pozas salinas de una laguna costera de Yucatán.

Metodología. Se evaluó la síntesis de EPS en diferentes condiciones de salinidad entre 0-28%. Se determinó el rendimiento crudo de la síntesis de EPS, mediante la extracción etanólica y el rendimiento neto después de la purificación del EPS. La extracción de EPS se realizó por precipitación etanólica mientras que la purificación se llevó a cabo por diálisis (MWCO 12- 14,000 Da) en agua destilada (3x3h) a 4°C. Los EPS purificados se liofilizaron. Se calculó el rendimiento crudo y neto de producción en peso (mg) de EPS obtenido/volumen de cultivo. Por último, se realizó la caracterización química de los EPS con mayor rendimiento neto a través de las determinaciones de azúcares totales, ácidos urónicos y proteínas. Los azúcares totales se determinaron con el método fenol-sulfúrico utilizando estándares de glucosa (0-150 mg/L); las muestras y los estándares se midieron a 490 nm. Para la determinación de ácido urónicos, se utilizó ácido galacturónico con 6 concentraciones conocidas de 0 a 200 mg/L como referencia y se midieron las absorbancias a

530 nm. Se exploró la presencia de proteínas mediante el método de Bradford cuyo rango de ensayo lineal se realizó de 20 a 500 mg/L de albúmina de suero bovino; los estándares y las muestras se analizaron a 595 nm. Por último, se realizó un análisis electroforético utilizando el método de Laemli para determinar el tamaño de las proteínas presentes en los EPS evaluados.

Resultados. Los rendimientos crudos y netos, de la síntesis de EPS, obtenidos para cada concentración de NaCl evaluada, se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Efecto de la concentración de NaCl sobre la producción de EPS del consorcio nativo

Concentración de NaCl (%)	Rendimiento crudo* (mg EPS/mL)	Rendimiento neto* (mg EPS/mL)
0	1.32 ± 0.11	0.89 ± 0.16
0.4	1.45 ± .20	0.87 ± 0.03
0.9	0.88 ± 0.40	0.74 ± 0.19
1.8	1.38 ± 0.20	0.96 ± 0.09
3.5	2.14 ± 0.19	1.39 ± 0.10
7.0	0.56 ± 0.07	0.05 ± 0.04
14.0	1.67 ± 0.86	0.25 ± 0.03
28.0	121.13 ± 8.35	0.04 ± 0.01

*Media ± desviación estándar (n=3).

Los resultados de la caracterización química de los EPS, extraídos y purificados, se describen en la Tabla 2.

Tabla 2. Caracterización química del EPS sintetizado con 3.5% de NaCl.

Análisis realizado	Azúcares totales (glucosa)	Ácidos urónicos (ácido galacturónico)	Proteínas (BSA)
Concentración promedio (mg/L)	77	54	22.8

En el análisis electroforético se determinó que el EPS tiene un peso molecular de 58.41 Da.

Conclusiones. El mayor rendimiento neto de EPS (1.39 ± 0.10 mg de EPS/mL) se obtuvo en el medio de cultivo con 3.5% de sal. La caracterización química confirma los constituyentes básicos de los EPS, así como la presencia de ácidos urónicos y proteínas asociadas.

Bibliografía.

- Zhang, S., Merino, N., Okamoto, A., and Gedalanga, P. (2018). Microbial Biotechnology. 0 (0): 1-15.
- Wang, J., Salem, D., and Sani, R. (2019). Carbohydr. Polym. 205: 8-26.
- Kant, S., Kant, R., Choi, Y.-K., Kan, E., Kim, Y.-G., and Yang, Y.-H. (2018). Crit. Rev. in Biotech. 18:1-21.).



CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE LA SECUENCIA PROMOTORA Y TERMINADORA DE UN GEN DE *Pichia pastoris* (*Komagataella spp.*) NO DEPENDIENTES DE METANOL

Yanelis Robainas-del-Pino, Ana Lucia Herrera-Estala, José María Viader-Salvadó, Martha Guerrero-Olazarán Universidad Autónoma de Nuevo León, UANL, Facultad de Ciencias Biológicas, Instituto de Biotecnología, San Nicolás de los Garza, N.L., México C.P. 66455

martha.guerrero@uanl.edu.mx

Palabras clave: *Pichia pastoris*, regiones reguladoras, casete de expresión

Introducción. La levadura *Pichia pastoris* (*P. pastoris*) se ha establecido como un hospedero ampliamente utilizado para producir proteínas heterólogas; esto ha sido factible debido a su fácil manipulación e integración estable de los vectores de expresión en el genoma de *P. pastoris* (1). Una estrategia importante en la ingeniería de esta levadura es el uso de promotores y terminadores fuertes que regulan estrechamente la transcripción del gen heterólogo (2). En nuestro grupo de trabajo se identificaron ocho genes cuya expresión fue dependiente de la fase de crecimiento y la fuente de carbono en cepas recombinantes de *P. pastoris*, entre ellos el gen hipotético que denominamos P7. En este trabajo se construyeron dos cepas, KM71P7FTEIIa y KM71P7FTEIIh, conteniendo los casetes de expresión conformados por el promotor del gen P7 y la región 3'UTR del gen AOX1 y del gen P7 respectivamente y se demostró la funcionalidad de las regiones reguladoras del gen P7 en ambas cepas.

Metodología. Se construyeron los vectores pP7FTEIIa conteniendo la región del promotor P7 (PP7) y el TT de AOX1 (TTAOX1) y pP7FTEIIh conteniendo la región del promotor P7 (PP7) y el TT de P7 (TTP7) ambos funcionalmente asociados a la secuencia señal prepro del factor alfa de *Saccharomyces cerevisiae* y la secuencia codificante de *FTEII*. Estos vectores se propagaron en *E. coli* y se utilizaron para transformar células de *P. pastoris* obteniendo las cepas KM71P7FTEIIa (A) y KM71P7FTEIIh (H), de las cuales se comprobó la integración del casete de expresión por PCR. Se diseñó una estrategia de cultivo para corroborar la funcionalidad de ambas construcciones por RT-PCR, determinación de la expresión del gen reportero (actividad volumétrica y tamaño molecular de la fitasa *FTEII*). Se realizó el tamizaje de las clonas obtenidas para su selección y se identificó una clona unicopia de cada cepa por qPCR.

Resultados. Los plásmidos pP7FTEIIa y pP7FTEIIh construidos se propagaron satisfactoriamente en *E. coli*. Se obtuvieron más de mil clonas His⁺ de las cepas A y H de *P. pastoris* confirmando la integración del casete de expresión por prototrofia a histidina y PCR por la amplificación de una banda de 1357 pb para la cepa A correspondiente al PP7, la secuencia pre-pro del factor alfa de *S. cerevisiae*, un fragmento de la secuencia codificante de *FTEII* y el TTAOX1. Para la cepa H se obtuvo una única banda de 870 pb

correspondiente a un fragmento de la región codificante del gen *FTEII*, el TTP7 y un fragmento del casete de expresión río abajo del TTP7. Se demostró la funcionalidad de las regiones reguladoras del gen P7 en ambas cepas por el análisis de RT-PCR del gen reportero en cultivos en glicerol en la fase exponencial que mostró una única banda de 536 pb la cual corresponde a un fragmento del CDS del gen *FTEII* lo que indica la presencia de transcritos de dicho gen. Se detectó producción de *FTEII* en el medio de cultivo para ambas cepas cultivadas en medio BMG durante 24 h con una actividad volumétrica de fitasa extracelular de 0.23 ± 0.01 U/mL para la cepa A y de 0.11 ± 0.01 U/mL para la cepa H. Además, el gel de SDS-poliacrilamida para el sobrenadante de cultivo de la cepa A mostró el barrido característico de la fitasa *FTEII*, alrededor de 45 kDa, después de la N-desglicosilación por endo H, el barrido cambió a una masa molecular aparente de 39 kDa que corresponde a la masa molecular teórica. En conjunto la detección de transcritos del gen reportero, detección de la proteína reportera por actividad volumétrica de fitasa y SDS-PAGE confirmaron la funcionalidad de las regiones reguladoras del gen P7 en ambas cepas construidas. El tamizaje de las clonas de la cepa A mostró concentraciones de proteínas extracelulares entre 5.93 y 17.20 $\mu\text{g/mL}$ y de la cepa H tuvo concentraciones de proteínas extracelulares entre 6.53 y 8.12 $\mu\text{g/mL}$. Se evaluaron las clonas con menor concentración de proteínas extracelulares de ambas cepas por qPCR resultando unicopias la clona 8 de la cepa A y la clona 36 de la cepa H.

Conclusiones. Se construyeron dos cepas de *P. pastoris*, la primera KM71 P7FTEIIa conteniendo la región PP7 y funcionalmente asociada al TTAOX1 y la segunda KM71 P7FTEIIh, conteniendo la región PP7, funcionalmente asociada al TTP7. Ambas con un casete de expresión cuyo promotor es funcional y su regulación no depende de metanol.

Agradecimientos. Los autores agradecen el apoyo del CONACYT por la beca otorgada a YRDP y al proyecto CB2016-01 (286093).

Bibliografía.

1. Wiseman et al. (2020). J. Protein Expr Purif. 167.
2. Rahmat et al. (2020). Appl. Microbiol. Biotechnol.).



EVALUACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN DEL REGULADOR TRANSCRIPCIONAL *sco3986* SOBRE EL PROCESO DE REPRESIÓN CATABÓLICA.

Berenice Hernández Cordero, Beatriz Ruiz Villafán y Sergio Sánchez, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Departamento de Biología Molecular y Biotecnología. CDMX, 04510
hcbere23@gmail.com.

Palabras clave: Reguladores transcripcionales, *sco3986*, represión catabólica por carbono.

Introducción. La enzima glucosa cinasa dependiente de ATP (ATP-Glk) parece desempeñar un papel importante en la represión catabólica por carbono (RCC) en *Streptomyces coelicolor* M145. Al no tener sitios de unión a DNA (1), la ATP-Glk no puede regular directamente los genes sensibles a RCC. En vista de lo anterior, una alternativa para estudiar su participación en la RCC es la búsqueda de su interacción con reguladores transcripcionales. En un análisis transcriptómico hecho por Romero et al. (2016), se encontró modificada la expresión de nueve reguladores transcripcionales dependientes de la enzima ATP-Glk, de los cuales dos pertenecen a la familia GntR. De estos dos reguladores, SCO3986, además de tener una expresión positiva en ausencia de ATP-Glk, también presenta una menor expresión en presencia de glucosa (2). Por tanto, el objetivo de este trabajo es evaluar la participación del regulador transcripcional SCO3986 en el mecanismo de RCC en *S. coelicolor* y su relación con la ATP-Glk.

Metodología. Inferir posibles genes blanco de *sco3986* para mediante un análisis *in silico*. Paralelamente se construirán una cepa de *S. coelicolor* M145 que sobreexpresa a *sco3986* y otra carente de *glkA* y *sco3986*. Finalmente, se hará la evaluación del efecto de la sobreexpresión de *sco3986* y de su carencia mediante la cuantificación del crecimiento, consumo de glucosa, actividad de ATP-Glk, cuantificación de antibióticos y de la expresión de los genes blanco seleccionados (3).

Resultados. Primero se hizo un análisis para predecir una "firma" que sería el posible sitio de unión del regulador. Dicha predicción *in silico* se realizó con el programa MEME (4) entrenándolo con 20 secuencias ortólogas con (Figura 1).

Para la predicción de genes blanco se utilizó el programa MAST (5) y se consideraron como significativos solo aquellos alineamientos que presentaron un E-value menor a 10 y un p-value posicional menor a 0.0001. Posteriormente, se realizó la búsqueda de los genes blanco considerando la firma encontrada y se clasificaron de acuerdo con las funciones relacionadas con RCC como son el metabolismo de carbono, de lípidos y la transcripción. De acuerdo con estas funciones se seleccionaron los genes *sco2126* y *sco2119* que están relacionados con la glucólisis y la vía de pentosas fosfatos, los genes *sco5385* y *sco1701* que participan en la β -oxidación, y los genes *sco3264*, *sco0116*, *sco2964* y *sco7709* que participan en el metabolismo de carbono, exportación de antibióticos, división celular y degradación de antibióticos.

Conclusiones. El análisis *in silico* de los posibles genes blanco sugiere que *sco3986* podría participar en el metabolismo de carbono y en la RCC, además, pudiera estar involucrado con la producción de antibióticos.

Agradecimiento. Este proyecto fue financiado en parte por el proyecto CONACyT A1-S-9143 y por el donativo DGAPA, PAPIIT IN205519. Agradezco a CONACyT por la beca de maestría para la realización de este proyecto.

Bibliografía.

- (1) Angell S., Schwarz E., & Bibb M. J. (1992). Mol. microbiol, vol. 6(19): 2833–2844.
- (2) Romero A., Rocha D., Ruiz B., Tierrafría V., Rodríguez R., Segura D., & Sánchez S. (2016). BMC microbiol, vol. 16: 77.
- (3) Manzo M, (2018). Caracterización de un regulador transcripcional dependiente del gen *glk* en *Streptomyces coelicolor*. (Tesis de maestría, UNAM)
- (4) Bailey L., Boden M., Buske A., Frith M., Grant E., Clementi L., Ren J., Li W., & Noble S. (2009). Nucleic acids research, vol 37: 202–208. (5) Bailey L., & Gribskov M. (1998). Bioinformatics, vol 14(1): 48–54.).

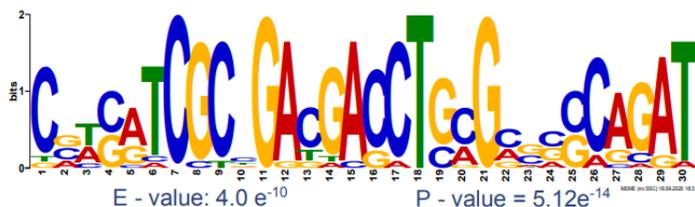


Fig. 1. Firma del regulador *sco3986*



ANÁLISIS COMPARATIVO DE SIMILITUD Y NOVEDAD DE CLUSTERS BIOSINTÉTICOS PRESENTES EN CEPAS DE *Streptomyces venezuelae*.

Viridiana Pérez García ¹, Luz Ángela González Salazar ¹, Lorena Rodríguez Orduña ¹, Karina Verdel Aranda ², Valeria Souza Saldívar ³, Cuauhtémoc Licona Cassani ¹

Industrial Genomics, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. 2. Colegio de Postgraduados Campus Campeche, BIOSAT 3. Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México.

Palabras clave: Actinomicetos, clusters de genes biosintéticos, puntaje de novedad.

Introducción. Los productos naturales (NPs) microbianos han sido considerados históricamente como una de las más importantes fuentes de diversidad química a nivel industrial y farmacéutico (1). Muchas de estas moléculas son generadas a través del metabolismo secundario y su producción está mediada por interacciones ecológicas como defensa, competencia e interacciones con el ambiente (1). El género *Streptomyces* representa uno de los principales grupos de productores de metabolitos especializados (2). Estudios previos en este género han demostrado que incluso cepas de la misma especie pueden variar enormemente en los genes que codifican para dichos metabolitos, mostrando un alto potencial de diversidad química (2). Este trabajo comparó la diversidad química a nivel de clusters de genes biosintéticos (BGCs) presentes en cepas de la misma especie *Streptomyces venezuelae* que fueron aisladas en dos ambientes contrastantes: uno altamente oligotrófico y otro rico en nutrientes. Dichos ambientes podrían modular la distribución y composición de los clusters, así como la producción de los compuestos asociados a éstos.

Metodología. Dos de las cepas fueron colectadas de sedimentos en el Sistema de Churince, Coahuila (26°50,25.1N, 102°08=01.7W), mientras las otras dos cepas se aislaron del suelo dentro de la reserva de bosque tropical en Calakmul, Campeche (N 18° 22' 0,57", W 89° 53' 7,45") con permiso SEMARNAT No. SGPA/DGVS/03121/15. Para el aislamiento se realizaron diluciones seriadas en placas de medio soya-manitol suplementadas con antibióticos. Para la extracción de ADN se utilizó un método casero con fenol cloroformo. Los genomas se secuenciaron utilizando la plataforma Illumina MiSeq 2x300 pb y se ensamblaron con Unicycler. La identificación taxonómica se realizó con la plataforma Microbial Genomes Atlas (MIGA). Los análisis comparativos de minería genómica: predicción, redes de similitud y análisis de novedad de clusters biosintéticos (BGC) fueron realizados utilizando anti SMASH versión 5.2. y las plataformas de BiG-SCAPE y BiG FAM respectivamente.

Resultados. Se observaron diferencias en la morfología de las cepas aisladas en Cuatro Ciénegas respecto a aquellas aisladas en Calakmul (Fig. 1-A). Todas las cepas evaluadas fueron ensamblados con rangos entre 38-277 contigs. El genoma más pequeño se encontró en Cuatro ciénegas (Tabla 1).

Tabla 1. Características de los ensamblados de este estudio.

S. <i>venezuelae</i>	Contigs	Longitud	%GC	N50
CC208A	129	7,664,893	72.46	149,073
CC224E	92	9,362,404	71,01	296,269
KL109B	38	9,342,835	71.04	636,039
KL118A	277	9,096,498	71.51	68,044

Las cepas con mayor número de clusters fueron CC224E (36 BGC) y KL118A (62 BGC), sin embargo, puede existir sobrestimación causada por fragmentación de clusters (Fig. 1-B). Las principales familias químicas fueron péptidos no ribosomales (NRPS) y Policétidos (PKs). Los clusters de las cepas de Calakmul presentaron mayor grado de novedad que los de Cuatro Ciénegas (Fig. 1-C).

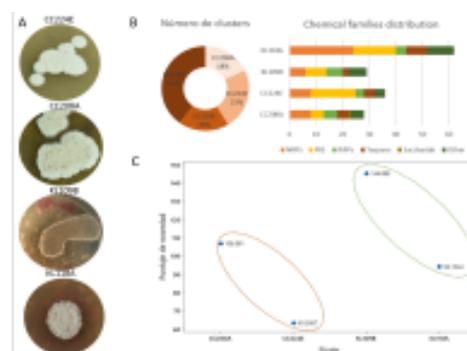


Fig. 1. cepas de *S. venezuelae* aisladas en diferentes ambientes. A. Morfología. B. Análisis de minería genómica. C. Puntaje de novedad para cepas de Cuatro ciénegas (naranja) y Calakmul (verde).

Conclusiones. El análisis de minería genómica mostró que *S. venezuelae* provenientes de Calakmul presentan mayor grado de diversidad química, hecho que puede estar asociado a las condiciones del medio donde habitan.

Agradecimiento. Especial agradecimiento a Industrial Genomics Laboratorio; CONACYT por la beca No. 1048382. Al ITESM y StrainBiotech por apoyo financiero para secuenciación y análisis de muestras.

Bibliografía.

- Milshteyn, A., Schneider, J. S., & Brady, S. F. (2014). Mining the metabiome: identifying novel natural products from microbial communities. *Chemistry & biology*, 21(9), 1211-1223.
- Hopwood, D. A. (2007). *Streptomyces in nature and medicine: the antibiotic makers*. Oxford University Press.

AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y PRODUCCIÓN DE LEVADURAS NO-SACCHAROMYCES UTILIZANDO SUERO DE LECHE COMO SUSTRATO ALTERNATIVO

¹Kevin Arenas, ²Leticia Casas-Godoy, ³Iliana Barrera Martínez

¹Universidad Autónoma de Guadalajara, Av. Patria 1201, Lomas del Valle, 45129 Zapopan, Jalisco. ²CONACYT-CIATEJ, Unidad de biotecnología Industrial. Camino Arenero 1227, 45019 Zapopan, Jalisco, México

ibarrera@ciatej.mx

Palabras clave: revalorización, industria láctea, proteína unicelular

Introducción. El suero de leche es un residuo altamente disponible en el estado de Jalisco al ser el principal productor de lácteos en México (1). Por su alta carga orgánica, específicamente de lactosa, se convierte en un residuo con potencial alto de contaminación (2). Por otro lado, gracias a su composición, este resulta de interés para su aplicación en medios de cultivo. Existen levaduras de géneros no-*Saccharomyces* capaces de asimilar lactosa (3).

El objetivo de este trabajo fue realizar la búsqueda, aislamiento, identificación, selección y crecimiento de levaduras capaces de crecer prominentemente en un medio de cultivo con lactosa como única fuente de carbono.

Metodología. Las levaduras se aislaron de productos lácteos (queso, leche y búlgaros). Muestras de estos alimentos se sembraron en medio YDP con cloranfenicol. Posteriormente, mediante la técnica de estría cruzada se aislaron cepas puras que se identificaron mediante MALDI-TOF (4). Las cepas identificadas se cultivaron en suero de leche y lactosa como única fuente de carbono. Finalmente, se llevaron a cabo pruebas de crecimiento con 3 cepas en miniorreactores de 250 mL utilizando como medio de cultivo (g/L): suero de leche 70, MgSO₄·7 H₂O 0.2, MnSO₄·H₂O 0.04, NH₄NO₃ 0.1 y KH₂PO₄ 0.05. Se evaluó la producción de biomasa mediante peso seco y el consumo de la fuente de carbono por DNS (5).

Resultados. A partir de los cribados en lactosa y suero de leche se identificaron 13 levaduras no-*Saccharomyces* (Figura 1)

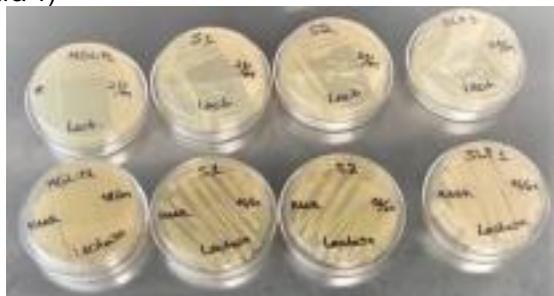


Fig. 1. Cepas aisladas de productos lácteos e identificadas por MALDI-TOF

Se estudió el crecimiento de las siguientes cepas identificadas como: *Candida kefir* (*Kluyveromyces marxianus*), *Candida famata* (*Debaryomyces hansenii*) y *Yarrowia lipolytica*. La cinética de crecimiento se puede observar en la Figura 2. El porcentaje de consumo de lactosa fue de 97.56, 14.72 y 21.8 para *C. kefir*, *C. famata* y *Y. lipolytica*, respectivamente. La cepa que presentó mayor crecimiento fue la que consumió en mayor medida la fuente de carbono. Esto indica que su capacidad metabólica para consumir lactosa es mayor que el de las dos cepas restantes en el medio de cultivo y condiciones de trabajo evaluadas.

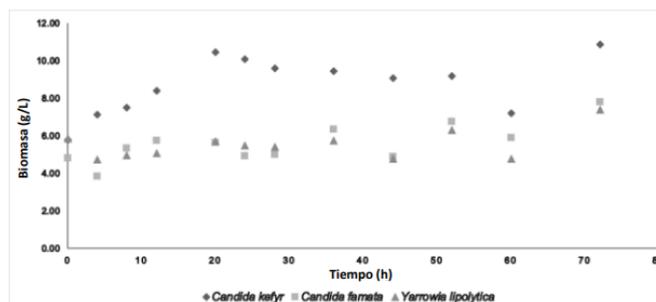


Fig. 2. Producción de biomasa durante 72h de crecimiento. Nota: Sólidos contenidos en el medio de cultivo representan la variación inicial.

Agradecimiento. Al COECYTJAL por el financiamiento: proyecto 8192-2019. FODECIJAL y al Dr. Miguel Beltrán, profesor e investigador de la UAG.

Bibliografía.

- SIAP-SAGARPA. (2019). PRODUCCIÓN ANUAL DE LECHE DE BOVINO POR ENTIDAD FEDERATIVA. En: Boletín de Leche. Editorial, México. pag 7-10.
- Spatelatu, C. (2012). IRFB. vol (10): 1-8.
- Turker, M. (2014). Yeast Biotechnology: Diversity and Applications. Advances in Science and Industrial Productions of Baker's Yeast. Istanbul. 2014. pag 1-26.
- Zboromyrska, Y. (2015). Ed Cont Lab Clín. vol (20): 87-98.
- Miller, G. (1959). Anal. Chem, 31, 426-428

MODIFICACIÓN GENÉTICA DE *AZOTOBACTER VINELANDII* PARA LA SOBREPDUCCIÓN DE LÍPIDOS ANTIFÚNGICOS ALQUILRESORCINOLES.

Andrea Moyao, Josefina Guzmán, Soledad Moreno, Guadalupe Espín, Daniel Segura, Instituto de Biotecnología UNAM, Departamento de Microbiología Molecular, Cuernavaca 62210

andrea.moyao@ibt.unam.mx

Palabras clave: antifúngicos, alquilresorcinoles, regulación.

Introducción. Los alquilresorcinoles (ARs) son compuestos fenólicos anfipáticos presentes en diversas fuentes naturales como algunos cereales. Pueden ser utilizados como biomarcadores de consumo de cereales integrales, también se usan para hacer liposomas y como componentes de emulsiones para tratar fitopatógenos, ya que tienen actividad inhibitoria contra algunos hongos y bacterias (1). La bacteria *Azotobacter vinelandii* produce este tipo de lípidos, se ha demostrado su potencial para inhibir una variedad de hongos que enferman al mango (*Mangifera indica* L). Además, se conocen muchos detalles sobre la regulación genética del operón biosintético *arsABCD* en esta bacteria, y el efecto positivo en la producción de ARs al inactivar la síntesis del polímero polihidroxibutirato (PHB) (2,3). El objetivo general de éste trabajo fue obtener cepas mutantes de *Azotobacter vinelandii* que sobre produzcan lípidos alquilresorcinoles. Para esto se propuso inactivar los genes, tanto de reguladores negativos, como de los de biosíntesis de los polímeros PHB y alginato para modificar el metabolismo del Carbono y favorecer la sobreproducción de ARs. Se consiguieron incrementos en producción de hasta 20 veces al combinar modificaciones de los sistemas de regulación genética con los bloqueos metabólicos.

Metodología. Para obtener una cepa sobre productora de alquilresorcinoles primero se seleccionó entre las cepas de *Azotobacter vinelandii* (UW136, SW136, AEIV y ATCC9046) mejor productora de estos compuestos. Posteriormente, se siguieron dos estrategias: inactivar los principales reguladores negativos del operón biosintético *arsABCD* (genes *rsmA*, *phoB*, *ptsN* y sus respectivas combinaciones) e inactivar las vías de síntesis de los polímeros PHB y alginato (inactivación de los genes *phbB* y/o *algA*), esto con la finalidad de obtener una combinación de modificaciones que permitieran obtener un efecto acumulativo para sobre producir alquilresorcinoles. La producción de ARs se evaluó por método colorimétrico con sales de Fast Blue B (4) y de crecimiento por cuantificación de proteína con Método de Lowry (5).

Resultados. Una vez seleccionado el fondo AEIV, se cuantificaron los ARs en las mutantes de los reguladores. Se observó que la mutante *rsmA* a pesar de

su fenotipo hipermucoide y ser la de menor crecimiento, fue la de mayor producción específica con niveles 5 veces más altos que la cepa silvestre tanto en células enquistadas como en células vegetativas. Debido a su poco crecimiento asociado a la hiperproducción de alginato (también regulado por *rsmA*), se decidió inactivar la síntesis del polímero alginato. Se obtuvo una doble mutante *algA-rsmA* (Figura 1).



Fig. 1. Cepas mutantes *rsmA*, *algA-rsmA* y tinción de sus ARs.

Esta mutante no solo mostró tener un mejor crecimiento, sino que mantuvo producciones muy altas en células vegetativas e incluso mayores que las de la mutante sencilla en células enquistadas (Figura 2).

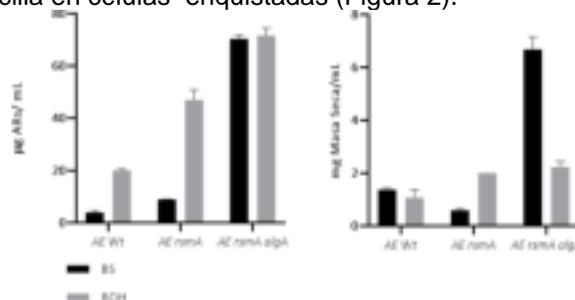


Fig. 2. Producción específica y masa seca de las mutantes *rsmA* y *algA rsmA*. BS medio con células vegetativas, BOH medio inductor de enquistamiento.

Conclusiones. La inactivación del regulador RsmA mostró ser más efectiva para sobre producir alquilresorcinoles, sin embargo la inactivación de la síntesis de alginato en conjunto con la inactivación del regulador RsmA permitió obtener una cepa con mejores niveles de producción tanto volumétrica como específica.

Agradecimiento. Al proyecto PAPIIT-UNAM IG200219 por financiar este trabajo de investigación.

Bibliografía.

1. Kozubek A. (1999). *Chemical Reviews*. 99 (1): 1-25.
2. Romero Y, Guzmán J, Moreno S, Cocotl M, Vences M, Castañeda M, Espín G, Segura D. (2016) *PLoS ONE* 11(4): e0153266.
3. Segura D, Cruz T, Espín G. (2003) *Arch Microbiol* 179:437-443.
4. Watanabe K, Yamaki E, Yamamoto I, Yoshimura H. (1979), *J STAGE* 25(6):321-326.



5. Lowry O, Rosebrough N, Farr A, Randall R.(1951)J. Biol.Chem. 193,265-275

COMPOSICIÓN Y ESTRUCTURA DE LOS CUERPOS DE INCLUSIÓN DE LA PROTEÍNA rHuGM-CSF OBTENIDOS EN *E. coli* USANDO UN SISTEMA TERMOINDUCIBLE

Sara Restrepo-Pineda¹, Norma A. Valdez-Cruz¹, Néstor O. Pérez², Mauricio A. Trujillo-Roldán¹ ¹Unidad de Bioprocesos, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, CP 04510. ²Unidad de Investigación y Desarrollo, Probiomed SA de CV, Tenancingo, Estado de México 52400.

E-mail: sarestrepo90@gmail.com; maurotru@biomedicas.unam.mx

Palabras clave: Termoinducción, Proteínas recombinantes, Cuerpos de inclusión.

Introducción. El sistema de expresión termoinducible $\lambda pL/pR-cl857$ se ha usado ampliamente para la producción de proteínas recombinantes (PR) en *E. coli* (1), ya que se evita la adición de inductores químicos y se minimizan riesgos de contaminación (2). Sin embargo, un aumento de la temperatura ($>34^{\circ}\text{C}$) activa la respuesta de choque térmico (HSR) y, a su vez, la sobre síntesis de chaperonas involucradas en mantener la proteostasis celular (3). Al mismo tiempo, *E. coli* tiende a formar agregados proteicos llamados cuerpos de inclusión (CI), los cuales son partículas electrodensas enriquecidas de PR parcialmente estructurada. Se ha reportado que las condiciones del bioproceso pueden modificar las propiedades de los CI (4). El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de la temperatura de crecimiento (30°C vs 34°C) sobre la composición y la estructura de los CI que contienen el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (rHuGM-CSF) al ser inducidos a 42°C .

Metodología. Se realizaron cultivos de *E. coli* W3110 productora del rHuGM-CSF en biorreactores de 1.2 L con 0.8 L de medio mínimo (17.5 g/L de glucosa) a dos temperaturas de crecimiento (30°C vs 34°C) con inducción a 42°C . Se cuantificó el consumo de glucosa en un YSI 2900 y la acumulación de acetato por HPLC (5). Se separaron y purificaron los CI para determinar cambios en los niveles de expresión del rHuGM-CSF y las chaperonas DnaK/J, GroEL/ES por SDS-PAGE y Western blot. Para la caracterización estructural de los CI, se utilizó espectroscopía infrarroja (FTIR-ATR), unión a tioflavina T, digestión con proteínaasa K y solubilización con cloruro de guanidinio (GndCl).

Resultados. Se alcanzaron biomásas máximas similares bajo ambas temperaturas de crecimiento. Sin embargo, a 34°C hubo un aumento de $\sim 69\%$ en la velocidad específica de crecimiento ($0.90 \pm 0.07 \text{ h}^{-1}$) comparada con 30°C ($0.53 \pm 0.01 \text{ h}^{-1}$). En ambos casos, la glucosa se consumió completamente y se acumuló $\sim 6.0 \text{ g/L}$ de acetato. rHuGM-CSF ($\sim 14 \text{ kDa}$) se expresó exclusivamente en los CI (Fig. 1A y 1B). GroEL se encontró en los CI durante todo el cultivo, mientras que DnaK aumentó su expresión después de las 5h de inducción. GroEs y DnaJ no se asociaron a los CI (Fig. 1C y 1D). Por FTIR-ATR, se encontró que el contenido de hélices α /random coil no varía significativamente entre los CI (Fig. 2A), mientras que a

30°C fue mayor el contenido de agregados amiloides que a 34°C (Fig. 2B).

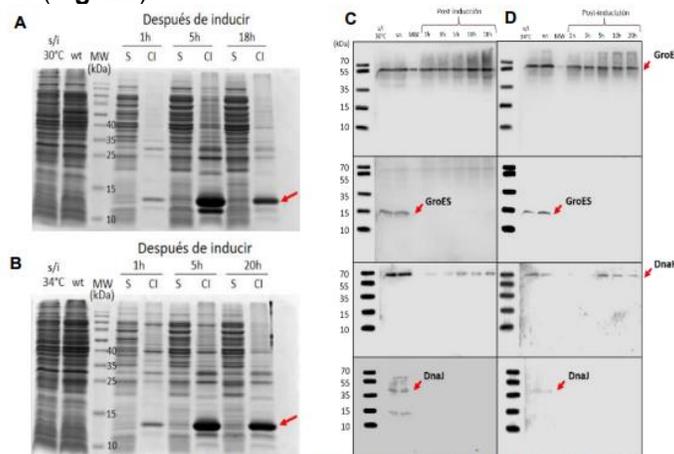


Fig. 1. SDS-PAGE de la cinética de expresión del rHuGM-CSF (A, B). Inmunodetección de las chaperonas en los CI (C, D). Cultivos a $30^{\circ}\text{C} \rightarrow 42^{\circ}\text{C}$ (A, C) o $34^{\circ}\text{C} \rightarrow 42^{\circ}\text{C}$ (B, D). Fracción soluble (S) y cuerpos de inclusión (CI). s/i: cepa sin inducir y wt: cepa silvestre.

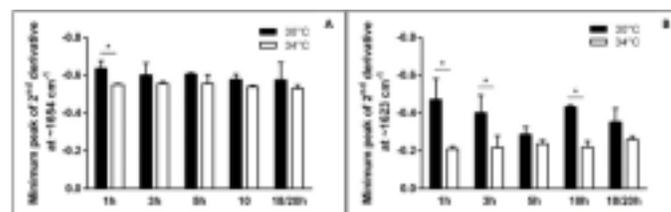


Fig. 2. Mínimos de la 2da derivada de los espectros obtenidos por FTIR ATR, correspondientes a hélices α /random coil (A) y agregados amiloides (B).

Conclusiones. En los cultivos a 34°C se acelera el crecimiento (mayor μ) en comparación con 30°C . La proteína rHuGM-CSF forma CI en cultivos de *E. coli* termoinducidos a 42°C , independientemente de la temperatura de crecimiento. Las chaperonas se asocian de manera diferencial a los agregados. A 30°C aumenta el contenido de agregados amiloides, con respecto a 34°C .

Agradecimiento. PAPIIT IT-200719, IN-208414 y beca CONACYT 589949

Bibliografía.

- (1) Villaverde A *et al.* (1993) *Appl Environ Microbiol* 59(10):3485-3487
- (2) Valdez-Cruz NA *et al.* (2010) *Microb Cell Fact* 9:18
- (3) Guisbert E *et al.* (2004) *Genes Dev* 18(22):2812-2821
- (4) De Marco A *et al.* (2019). *FEMS Microbiol Rev* 43(1):53-72
- (5) Restrepo-Pineda S *et al.* (2019) *Cell Stress Chaperon* 24(4):777-792.



BIOSENSOR FLUORESCENTE DEL METABOLISMO AERÓBICO DE GLICEROL EN *Escherichia coli*

José Ignacio Rodríguez Ochoa, Luz María Martínez Mejía, Georgina Hernández-Chávez, José Utrilla Carreri, Guillermo Gosset Lagarda. Instituto de Biotecnología, UNAM. Depto. de Ingeniería celular y biocatálisis. Cuernavaca, 62210.

guillermo.gosset@ibt.unam.mx

Palabras clave: Biosensor, biología sintética, glicerol

Introducción. El glicerol es un subproducto de la producción de biodiesel y una fuente de carbono económica fermentable por el microorganismo *E. coli*. La utilización de glicerol en procesos para la producción de combustibles y compuestos químicos es de gran interés biotecnológico. En el presente trabajo se estudió la respuesta transcripcional de la secuencia promotora del gen *gfpD* fusionado al gen de una proteína verde fluorescente de plegamiento rápido (*gfpmut2*) en glucosa, glicerol y en diferentes mezclas de glucosa glicerol. Con la fusión *PgfpD::gfpmut2* se estudió el tiempo de consumo de diferentes concentraciones de glucosa desde 0.5 a 3 g/L y la magnitud de inducción al iniciar el consumo de glicerol, cultivando la cepa en mezclas de las diferentes concentraciones de glucosa más 10 g/L de glicerol.

Metodología. La cepa W3110 de *E. coli* fue transformada con el plásmido *pUA66 PgfpD::gfpmut2* y cultivada en medio mínimo M9 adicionando 2 g/L glucosa o 10 g/L glicerol. Se realizaron cinéticas de crecimiento (OD_{600nm}) y fluorescencia (410nm/520nm) en microplacas de 96 pozos, en medio M9 con glucosa 2 g/L o glicerol 10 g/L, a partir del cultivo de glucosa o de glicerol. Además, a partir del cultivo de adaptación en glucosa, se realizaron cinéticas en mezclas de glucosa 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 y 3 g/L más 10 g/L de glicerol.

Resultados. Se observó la inducción de la fluorescencia únicamente cuando la cepa es cultivada en glicerol, y la represión cuando es cultivada en glucosa a partir del cultivo de adaptación en glicerol. Al cultivar la cepa en mezclas glucosa-glicerol, la fluorescencia se mantiene reprimida durante el tiempo de consumo de glucosa, y se observa un desfase en el tiempo de inducción de la fluorescencia de acuerdo con la concentración inicial de glucosa. La magnitud de la inducción disminuye conforme se incrementa la concentración inicial de glucosa, posiblemente por un menor consumo de glicerol. Considerando las concentraciones de glucosa inicial entre 0.5 a 2 g/L, se observa una correlación de $R^2=0.98$ entre la concentración inicial de glucosa con el tiempo de inducción. A través de esta correlación, se puede estimar el tiempo de consumo de diferentes concentraciones de

glucosa, siendo aproximadamente de 1 hora por cada 0.5 g/L de glucosa.

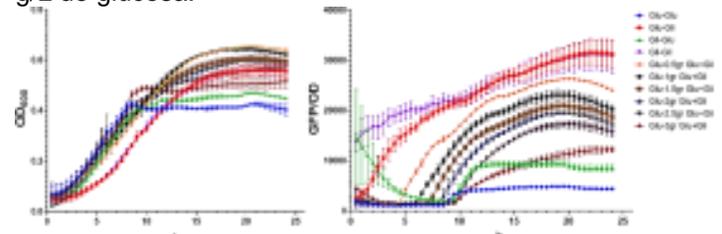


Fig. 1. Cinética de crecimiento y fluorescencia de la cepa W3110 con el plásmido *pUA66 PgfpD::gfpmut2* en glucosa, glicerol y mezclas glucosa glicerol

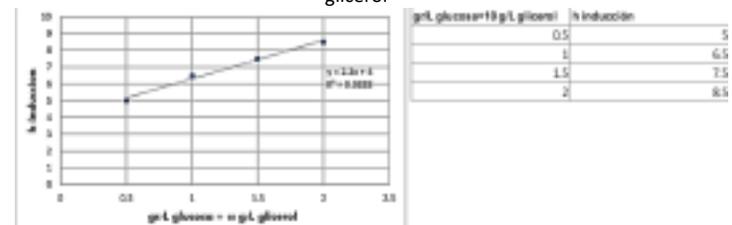


Fig 2. Correlación de la concentración de glucosa inicial y tiempo de inducción en diferentes mezclas glucosa-glicerol. Se considera como inducción un incremento de 2 veces GFP/OD vs. el cultivo en glucosa.

Conclusiones. Se determinó el tiempo del consumo de diferentes concentraciones de glucosa y la magnitud de inducción de la fusión al iniciar el consumo de glicerol en las mezclas glucosa-glicerol. Los resultados obtenidos demostraron que la secuencia promotora del gen *gfpD* puede ser empleada como un sistema de expresión de genes al cultivarse en glicerol, y para un control dinámico al cultivarse en mezclas glucosa-glicerol. Se determinó que es posible definir el momento de inducción variando la relación glucosa-glicerol de una forma reproducible. El empleo de este promotor evita el uso de inductores químicos como el IPTG que aumentan el costo y contaminan el producto

Agradecimiento. Al donativo CONACyT A1-S-8646

Bibliografía.

- Zaslaver A., Bren A., Ronen M., Itzkovitz S., Kikoin I., Shavit S., Liebermeister W., Surette M., Alon U. (2006). *Nature Methods*. Vol.3 No.8 pp. 623- 628
- Martínez K., de Anda R., Hernández G., Escalante A., Gosset G., Ramírez O., Bolívar F. (2008). *Microbial Cell Factories* 2008, 7:1).



ESTUDIO Y CARACTERIZACIÓN DEL SISTEMA DE DOS COMPONENTES SCO6162/SCO6163 PARA ELUCIDAR SU PARTICIPACIÓN EN LA REPRESIÓN CATABÓLICA POR CARBONO EN STREPTOMYCES COELICOLOR”.

Rodrigo Cruz-Bautista, Beatriz Ruiz-Villafán y Sergio Sánchez

Departamento de Biología Molecular y Biotecnología Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Cd. de México CP. 04510 rodyac@outlook.com

Streptomyces, Represión Catabólica por Carbono, Sistemas de Dos Componentes.

Introducción. El género *Streptomyces* es conocido por su extraordinaria habilidad para producir una amplia gama de metabolitos secundarios con diversas funciones y que son empleados en la medicina e industria agroalimentaria. La producción de un gran número de estos metabolitos se ve reprimida por glucosa. A pesar de que el mecanismo de regulación por carbono (RCC) en bacterias Gram-negativas y Gram-positivas con bajo contenido de GC ha sido establecido desde hace tiempo, en el género *Streptomyces* continúa siendo poco claro. De acuerdo con un análisis transcriptómico que realizamos en *Streptomyces coelicolor*, bajo condiciones de represión por glucosa, se detectaron al menos 32 reguladores transcripcionales y cuatro sistemas de dos componentes (TCS) que fueron afectados en estas condiciones. Derivado de esto, se ha observado que deleciones en los genes de uno de estos TCS ($\Delta sco6162$ y $\Delta sco6163$), muestran diferencias significativas con respecto a la cepa silvestre, aumentando la producción de los antibióticos undecilprodigiosina (RED) y actinorrodina (ACT) de cada mutante crecida en presencia de concentraciones represoras de glucosa. Esto soporta la participación de este TCS en la RCC ejercida por glucosa. Sin embargo, aún falta generar información que esclarezca cómo se lleva a cabo su participación en la RCC en este género. El objetivo de este proyecto es identificar el mecanismo por el cual este Sistema de Dos Componentes (SCO6162/SCO6163) regula la producción de antibióticos y la utilización de otras fuentes de carbono.

Metodología. Mediante un análisis *in silico* del regulador de respuesta SCO6162, se realizará la predicción de sus genes blanco. La determinación de expresión de los reguladores maestros *ActII-ORF4*, para ACT, *red* y *redZ* para RED (1). Complementar las cepas mutantes mediante la integración cromosómica del gen silvestre en fusión con la etiqueta 3XFLAG en N-terminal (2). Posterior a su evaluación, se llevará a cabo un ensayo de ChIP-seq y mediante el análisis de las secuencias obtenidas permitirá identificar los genes blanco (3) para SCO6162. Mediante ensayos de EMSA se identificarán las secuencias blanco y se podrá

determinar el motivo de unión al DNA. La histidina cinasa (SCO6163) será inmunoprecipitada y evaluada *in vitro* para detectar su fosforilación en presencia de glucosa y otros intermediarios de su metabolismo para poder establecer el estímulo que desencadena su actividad.

Resultados. Se ha realizado el análisis bioinformático para los genes blanco putativos de SCO6162. Se generaron tres probables motivos con base en secuencias ortólogas de su región promotora. Dentro de estas predicciones se incluyen promotores de genes involucrados en la síntesis de ACT. Además, se predijeron 60 genes blanco involucrados en el metabolismo secundario, en la regulación de otros factores transcripcionales (FT's) y en la utilización de fuentes de carbono.



Fig. 1. Logo de uno de los motivos generados a partir de las regiones promotoras ortólogas para *sco6162* de *S. coelicolor* utilizando las herramientas online MEME y MAST. e-value=3.0E-321

Conclusiones. El análisis bioinformático arroja más evidencia sobre el papel de este TCS en la utilización de fuentes de carbono y síntesis de metabolitos secundarios. La regulación de otros FT's sugiere un papel que puede involucrar otros procesos.

Agradecimiento. Este proyecto se lleva a cabo gracias a la beca CONACyT No. 749494 y al soporte económico del CONACyT (A1-S-9143) y DGAPA, PAPIIT IN205519

Bibliografía.

1. Yin H, Wang W, Fan K y Li Z. (2019). *Sci China Life Sci.* 62(5):698-700.
2. Som NF, Heine D, Holmes N, Knowles F, Chandra G, Seipke RF, Hoskisson PA, Wilkinson B y Hutchings MI. *Microbiology.* (2017). 163(10):1415-1419.
3. Myers KS., Dan MP, Nicole AB y Patricia JK. (2015). *Methods* 86(1):80-88.

EFFECTO DE LA LONGITUD DE ONDA Y DEL MEDIO DE CULTIVO PARA LA PRODUCCIÓN DE PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS A PARTIR DE UN CONSORCIO DE MICROALGAS ALCALÓFILAS PROVENIENTE DEL EX LAGO DE TEXCOCO

Karina Mera-Viveros, Alejandro Téllez-Jurado, Rocío Ramírez-Vargas. Laboratorio de Aprovechamiento Integral de Recursos Bióticos. Universidad Politécnica de Pachuca, Zempoala, Hgo., C.P. 43830.

karinamera@micorreo.upp.edu.mx

Palabras clave: Longitud de onda, pigmentos fotosintéticos, microalgas

Pseudonabaena sp. y *Picochlorum sp*

Introducción. Las microalgas son de gran interés biotecnológico, su cultivo depende de diversos factores como el medio de cultivo, la luz, el pH, entre otros. Al ser organismos fotosintéticos, la luz es una de las condiciones más importantes. La cinética de crecimiento y producción de pigmentos fotosintéticos (PF) puede verse afectada por el fotoperiodo aplicado, la intensidad y la longitud de onda de la luz incidente (1). Del mismo modo, los macronutrientes (carbono, nitrógeno, fósforo y magnesio) así como los micronutrientes (manganeso, hierro y cobre) presentes en el medio de cultivo pueden afectar el crecimiento y la generación de algún producto (2). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la longitud de onda y del medio de cultivo sobre la producción de pigmentos fotosintéticos y el crecimiento de un consorcio de microalgas alcalófilo (CMA) a través de estudios cinéticos para la posterior optimización.

Metodología. Se identificó microscópicamente el CMA proveniente del ex Lago de Texcoco utilizando la clave taxonómica de Bellinger y Sigee en el 2005. El efecto de la longitud de onda y del medio de cultivo se determinó realizando cinéticas de crecimiento con tres medios diferentes (M1, M2 y M3) y luz a dos longitudes de onda (400 nm y 700 nm). La determinación de biomasa se realizó siguiendo la técnica de peso seco (4) y la cuantificación de PF utilizando la técnica adaptada por Corzo Piñeros y colaboradores durante el 2019.

Resultados. La observación microscópica permitió identificar 6 géneros diferentes de microalgas (Figura 1). En la Figura 2 se muestran las cinéticas de crecimiento para los tres medios y las dos longitudes de onda probadas. Los datos experimentales fueron ajustados al modelo logístico para calcular la velocidad máxima específica de crecimiento (μ_{max}) bajo cada condición de cultivo probada.

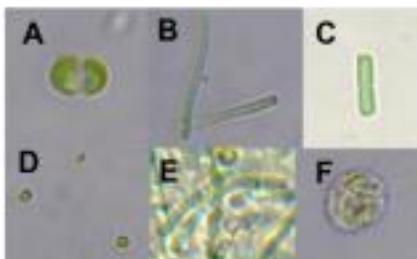


Figura 1. Morfología microscópica de las microalgas identificadas. A) *Chroococcus sp.*, B) *Spirulina sp.*, C) *Nitzschia sp.*, D) *Microcystis sp.*, E)

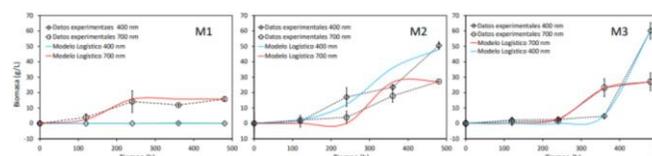


Figura 2. Cinéticas de crecimiento del CMA y ajuste al Modelo Logístico para los medios de cultivo y para las longitudes de onda probadas.

Las concentraciones de los PF pueden verse en la Tabla 1.

Tabla 1. Valores máximos registrados para la producción de pigmentos fotosintéticos con el CMA a una longitud de onda de 400 nm y 700 nm.

Longitud de onda: 400 nm			
	M1	M2	M3
Clorofila a (µg/mL)	0.000 ± 0.000	0.385 ± 0.330	0.250 ± 0.040
Clorofila b (µg/mL)	0.186 ± 0.153	0.000 ± 0.000	0.731 ± 0.025
Carotenos (µg/mL)	0.061 ± 0.027	0.352 ± 0.053	0.000 ± 0.000
Longitud de onda: 700 nm			
	M1	M2	M3
Clorofila a (µg/mL)	0.000 ± 0.000	0.581 ± 0.095	0.461 ± 0.401
Clorofila b (µg/mL)	0.340 ± 0.033	0.472 ± 0.088	0.558 ± 0.013
Carotenos (µg/mL)	0.091 ± 0.027	0.200 ± 0.156	0.254 ± 0.027

Conclusiones. Los géneros de microalgas identificados presentan potencial para la producción de PF. Los valores más altos de μ_{max} se alcanzaron en el M3 a 400 nm y en el M2 a 700 nm, siendo de $1.1318 \pm 0.9827 \text{ h}^{-1}$ y $0.5394 \pm 0.4138 \text{ h}^{-1}$ respectivamente. La mayor producción de clorofila a se presentó en el M2 a 700 nm ($0.581 \pm 0.095 \text{ µg/mL}$), la de clorofila b se presentó en el M3 a 400 nm ($0.731 \pm 0.025 \text{ µg/mL}$) y la de carotenoides en el M2 a 400 nm ($0.352 \pm 0.053 \text{ µg/mL}$).

Agradecimiento. A CONACYT por la beca de maestría otorgada, CVU: 1009612.

Bibliografía.

- Álvarez, P. (2018). Influencia de la luz sobre la producción y la composición de la biomasa microalgal de *Spirulina platensis* LMPA55.
- Álvarez, J. (2012). Cultivo de microalgas (*Chlorella sorokiniana*) con iluminación mediante LEDs (Light Emitting Diodes).
- Bellinger, E. G., & Sigee, D. C. (2015). FRESHWATER ALGAE. Identification, enumeration and use as bioindicators (Second).
- American Public Health Association (APHA) (2005). American Water Works Association – Awwa; Water Pollution Control Federation - Wpcf. Standard methods for the examination of water and waste water. 22th ed. Washington DC.
- Corzo Piñeros, R. J., Manrique Ruíz, I. G., Sandoval Herrera, J. A., & Rubio Fernández, D. (2019). Evaluación de carotenoides y lípidos en la microalga *Scenedesmus dimorphus* a escala laboratorio. Revista Mutis, 9(1), 20–28. <https://doi.org/10.21789/22561498.1471>.



CANTIDAD E IDENTIDAD; LA DANZA DE DOS VARIABLES EN EL TRANSPORTE DE α GLUCÓSIDOS DE *Saccharomyces pastorianus*.

César I. Hernández-Vásquez¹, Jorge H. García-García¹, Esmeralda R. Pérez-Ortega², Daniel Villarreal García², Luis C. Damas-Buenrostro², Benito Pereyra-Alfárez¹. Instituto de Biotecnología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán. Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, N. L.¹, CP 66455 México. Heineken México. Alfonso Reyes S/N, Industrial, 64410 Monterrey, N. L.².
Correspondencia: bpereyra@gmail.com; benito.pereyra@uanl.edu.mx.

Palabras clave: Transporte, maltosa, maltotriosa.

Introducción. La industria cervecera representa un importante papel en la economía nacional y mundial. En 2018, la producción mundial resultó en 191.1 millones de kilo litros y en ese mismo año México reportó un incremento del 8.8% respecto al año anterior. La cerveza lager es elaborada con *Saccharomyces pastorianus* (*S. p*) Las levaduras lager tipo I, presentan deficiencias en el consumo de maltotriosa, carbohidrato fermentable de suma importancia en la industria cervecera, mientras que las levaduras del grupo II exponen un consumo eficiente. Las principales variables vinculadas con este fenotipo son; i) condiciones de fermentación (1), ii) presencia de transportadores de maltotriosa, ii) variación en el número de copias de los transportadores de maltosa y maltotriosa (2) y v) regulación genética diferencial (3). En este trabajo se aborda el problema de los fenotipos diferenciales en el consumo de maltosa y maltotriosa en dos levaduras *S. p*, con la integración de datos genómicos, transcriptómicos y bioquímicos relacionados con los transportadores. Con estos enfoques tratamos de demostrar que la principal diferencia en los fenotipos diferenciales de consumo de maltosa y maltotriosa está dada por diferencias en sus patrones de expresión genética.

Metodología. Utilizamos datos genómicos (4) y transcriptómicos (5) generados previamente para realizar la búsqueda de los genes transportadores y los análisis de expresión. Construimos una base de datos con secuencias de transportadores para el análisis filogenético de los transportadores. Luego, una caracterización bioquímica de la tasa de transporte de maltosa y maltotriosa para cada cepa fue realizada como se expone previamente (6).

Resultados. Observamos tres principales eventos; i) en las mismas condiciones de cultivo, la levadura Sp-II presentó una mayor tasa de transporte para maltosa y maltotriosa, 282.73 nmol min⁻¹g⁻¹ y 183.82 nmol min⁻¹g⁻¹, respectivamente. Mientras que la cepa Sp-I exhibió una tasa de transporte de 202.33 nmol min⁻¹mg⁻¹ para la maltosa y 124.23 nmol min⁻¹g⁻¹ para la maltotriosa; ii) mediante análisis filogenético nos percatamos que la cepa Sp-II presenta en su genoma y transcriptoma el gen *MTY1*, reportado como un transportador específico para la maltotriosa y iii) los patrones de expresión de los genes *MALx1*, *AGT1*, *MPHx*, *MTY1*, presentaron mayor

nivel de expresión en la cepa Sp-II en comparación con la cepa Sp-I (Figura 1).

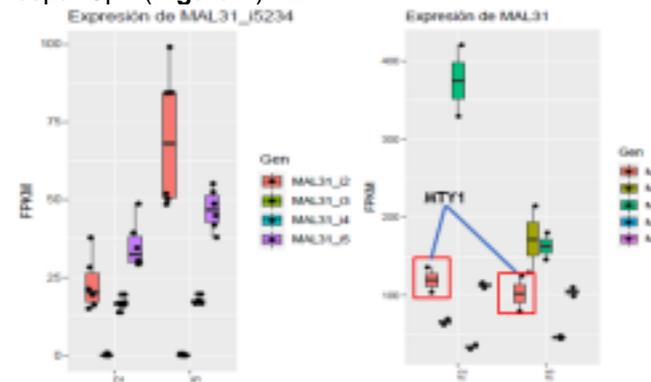


Fig. 1. Niveles de expresión en FPKM de los transportadores de maltosa MAL31 y maltotriosa de ambas cepas. El recuadro rojo resalta el gen *MTY1* encontrado en la cepa Sp-II. Derecha cepa Sp-I e izq. Cepa Sp-II

Conclusiones. Las variables como la presencia de genes transportadores específicos para maltotriosa y los niveles de expresión genética están involucrados en el consumo diferencial de maltosa y maltotriosa en dos cepas de *S. p*. Además, es posible descartar las condiciones de fermentación como un factor que afecta dicho fenotipo en nuestras cepas de estudio.

Agradecimiento. Al CONACYT por el apoyo financiero a través del proyecto “Optimización del proceso cervecero a partir del conocimiento generado en estudios de análisis de genómica funcional en levaduras y maltas” con clave 179496.

Bibliografía.

- Day RE, Rogers PJ, Dawes IW, Higgins VJ. (2002). Molecular analysis of maltotriose transport and utilization by *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol.* 68(11):5326–35.
- Magalhães F, Vidgren V, Ruohonen L, Gibson B. (2016). Maltose and maltotriose utilisation by group I strains of the hybrid lager yeast *Saccharomyces pastorianus*. *FEMS Yeast Res.* 16(5):1–11.
- Vidgren V, Kankainen M, Londesborough J, Ruohonen L. (2011). Identification of regulatory elements in the *AGT1* promoter of ale and lager strains of brewer's yeast. *Yeast.* 28(8):579–94.
- De León-Medina PM, Elizondo-González R, Damas-Buenrostro LC, Geertman JM, Van den Broek M, Galán-Wong LJ, et al. (2016). Genome annotation of a *Saccharomyces sp.* lager brewer's yeast. *Genomics Data.* 9:25–9.
- Hernández-Vásquez César I. (2020). Análisis del transcriptoma, basado en RNA-seq, de una levadura cervecera tipo lager en fermentación a nivel industrial y laboratorio. Tesis de maestría. [citado el 24 de Julio 2021]. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/21059/1/1080314869.pdf>
- Hollatz C, Stambuk BU. (2001). Colorimetric determination of active α glucoside transport in *S. cerevisiae*. *J. Microbiol. Met.* 46(3):253–259.).



ASLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA Y MOLECULAR DE BIFIDOBACTERIAS DEL TRACTO GASTROINTESTINAL DE NEONATOS

Raquel González Vázquez¹, Lino Mayorga Reyes², Pedro Reyes-Castillo², Martha Leyte Lugo¹, Alejandro Azaola Espinosa².
¹CONACYT-Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco, Departamento de Sistemas Biológicos, Laboratorio de Biotecnología. ²Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, Departamento de Sistemas Biológicos, Laboratorio de Biotecnología. Ciudad de México C.P. 1100. ³

Palabras clave: Bifidobacterias, sales biliares, antibióticos

Introducción. Las Bifidobacterias son miembros comunes del tracto gastro intestinal (TGI) que aportan beneficios para la salud, son abundantes en lactantes alimentados con leche materna. *Bifidobacterium pseudocatenulatum* tiene efectos benéficos en colitis, modula la microbiota intestinal y bloquea la producción de citocinas proinflamatorias (1). En individuos con dietas obeso-génicas algunas bifidobacterias pueden reducir la pérdida de masa y densidad ósea asociada a dicha dieta (2). Se ha reportado el potencial de *B. longum* en la reducción de marcadores específicos de la obesidad y su habilidad inmunomoduladora (3). El objetivo de este trabajo fue aislar y caracterizar bioquímica y molecularmente bifidobacterias del TGI de neonatos alimentados con leche materna.

Metodología. Se utilizó medio TPY adicionado con Lito y propionato de sodio en condiciones anaeróbicas para el aislamiento. Se extrajo y purificó el ADN utilizando el kit Wizard (Promega). El genoma completo se determinó por secuenciación PacBio en el IMR (Universidad Dalhousie) utilizando un análisis Pokka (4). La tolerancia a sales biliares (oxgal), la resistencia a antibióticos y la evaluación del efecto antimicrobiano fueron determinadas (5).

Resultados. Las cepas aisladas fueron identificadas como *Bifidobacterium pseudocatenulatum* y *Bifidobacterium longum* (Fig. 1). Los datos genómicos obtenidos se muestran en la tabla 1.

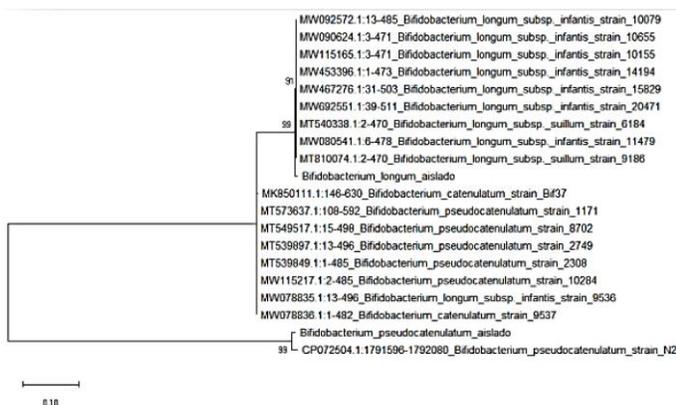


Fig. 1. Distancias filogenéticas de *B. pseudocatenulatum* y *B. longum* aislados del tracto gastrointestinal

Tabla 1. Identidad nucleotídica de las cepas aisladas

	<i>B. pseudocatenulatum</i>	<i>B. longum</i>
Longitud total (pb)	2,369,863	2,287,838
Adenina	516,630	459,855
Citocina	673,042	686,351
Guanina	668,301	686,351
Tiamina	511,890	455,280
Contenido de GC (%)	56.6	60

Con respecto a la tolerancia a sales biliares *B. longum* toleró hasta 0.3% de oxgal y *B. pseudocatenulatum* hasta 0.5%. Ninguna cepa mostró capacidad de inhibición de *E. coli* O157:H7 y *S. typhi* ATCC 14028. La tabla 2 se muestra la resistencia de las cepas aisladas a la presencia de diferentes antibióticos.

Tabla 2. Sensibilidad y Resistencia de las cepas a antibióticos

Antibiótico	<i>B. pseudocatenulatum</i>	<i>B. longum</i>	<i>B. bb12</i>
Vancomicina	S	S	S
Ampicilina	R	R	R
SXT	S	S	S
Gentamicina	S	S	S
Dicloxacilina	S	R	R
Cefalotina	R	S	R
Clindamicina	S	S	S
Eritromicina	S	S	S
Penicilina	S	S	S
Tetraciclina	S	S	R
Cefotaxima	S	S	S
Ciprofloxacina	S	S	R

Trimetoprima- sulfametoxazol (SXT). S= sensible; R=resistente. Control=*B. bb12*

Conclusiones. Se aisló y caracterizó bioquímica y molecularmente a *Bifidobacterium pseudocatenulatum* y *Bifidobacterium longum* del TGI de neonatos capaces de crecer en sales biliares lo cual podría estar asociado a un potencial probiótico, por lo que se requiere de una caracterización más profunda.

Agradecimiento. Al programa de apoyo a la investigación implementado por el Rector UAM (X)

Bibliografía.

- Chen Y, Yang B, Stanton C, Ross RP, Zhao J, Zhang H, Chen W. (2021). J Agric Food Chem. 69 (5): 1496-1512.
- Fernández-Murga I, Olivares M, Sanz Y.(2020). Bone. 141:115580.
- Sharma M, Wasan A, Sharma Rk. (2021). Food Biosci. 41:100993,
- Seemann T. 2014. Bioinform. 15(14):2068-9.
- González-Vázquez R, Azaola-Espinosa, Mayorga-Reyes L. (2015). Probiotics & Antimicro. Prot. 7:242-248



CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS HOMOLÁCTICAS FRUCTANOLÍCTICAS DE *AGAVE SALMIANA*

Diego Gallardo Martínez*, Dra. Alma Elizabeth Cruz Guerrero*, Dr. Gustavo Viniegra González y Dr. Jorge Gustavo Rocha Estrada* ·Universidad Autónoma Metropolitana Departamento de Biotecnología, CDMX 09350, *Conacyt-CIAD Unidad Regional Hidalgo, Pachuca 42163.
dgvm1338@gmail.com

Fructanos, bacterias ácido-lácticas, agave

Introducción. En este trabajo se pretende aislar bacterias epifíticas del agave pulquero (*Agave salmiana*) que sean homolácticas y fructanolícticas, con altos rendimientos de ácido láctico. *A. salmiana* generalmente se cultiva en forma intercalada (metepantle) con la milpa (maíz, frijol, calabazas y arvenses) y su savia o jugo (aguamiel) es utilizado para la producción de la bebida fermentada llamada pulque. Los fructanos, forman el 80% de la materia seca de la biomasa y la fermentación de las hojas desfibradas, puede producir un forraje fermentado (ensilaje) para alimentar al ganado rumiante (Gschalerdlle.2017). Sin embargo, poco se conoce del microbiota epifítica del agave y podría ser la fuente de nuevos microorganismos homolácticos de posible uso industrial.

Metodología. Se aislaron en una parcela de Tomatlán, Tlaxcala, muestras de frotis o diluciones de: la raspadura (metzal) del centro de la piña, aguamiel y frotis de la hoja de un agave pulquero en explotación. Se aislaron 260 colonias de las siembras por estría en medio sólido MRS (g/L: CHO 20, extracto de carne, 10; peptona, 10; ext. levadura, 5; con sales minerales), siendo CHO: glucosa o fructanos de origen industrial. Se seleccionaron las colonias con el fenotipo fermentativo en fructanos y negativas para gas con la campana de Durham (Gas+/-). Donde + indica presencia de burbuja gas en la campana y - ausencia.). Se seleccionaron las colonias con mayores halos en un medio de verde de bromocresol, y analizaron, en matraces agitados, los perfiles de fermentación se estudiaron mediante cromatografía HPLC. A las bacterias Gram +, con mayor rendimiento láctico se les aisló el segmento 16S de su ADN que se mandó secuenciar a Langebio. (Escalante *et al.*2004). Las secuencias de los fragmentos 16S fueron alineadas usando los programas Chromas pro y se compararon con: Ribosomal Database Project (RDP) y Basic Local Alignment Search Tool (Blast).

Resultados.

a) Datos microbiológicos: De las 260 colonias crecidas con glucosa MRS, 247 (95%) crecieron con fructanos y de ellas, 60, presentaron halos apreciables de acidez (23%). De estas, 24 fueron heterofermentadoras (Gas+, 40%) y 36 homofermentadoras (Gas-, 60%). De las últimas,

sólo 15 produjeron, en medio líquido, un viraje intenso con el indicador. Todas fueron Gram positivas.

b) Datos bioquímicos: Los perfiles bioquímicos de las 5 mejores cepas se muestran en la Fig. 1. Sólo la cepa DG2 mostró una elevada conversión fructanolítica (75%) en relación con la producción de 20 g/L de ácido láctico con glucosa. Aunque la cepa DG5 si tuvo una actividad fructanolítica elevada, pero con solo 5 g/L de ácido láctico.

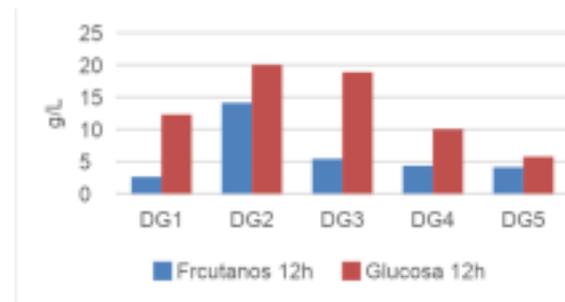


Fig. 1. Producción de ácido láctico en medio MRS con glucosa o fructanos como principal fuente de carbono a las 12h.

Los alineamientos arrojaron como resultado que las cepas DG1, DG2, DG3 y DG4, son del género *Enterococcus* y DG5 es del género *Lactocaseibacillus*; Entre las cepas de baja producción (no mostradas en la Fig. 1) DG6, DG7 y DG8, son del género *Enterococcus* y DG9 pertenece al género *Bacillus*.

Conclusiones: En el microbiota epifítica de *A. salmiana* abundan las bacterias lácticas fructanolícticas homolácticas, pertenecientes a los géneros *Enterococcus*, *Lactocaseibacillus* y *Bacillus*. Estos resultados sugieren que dicho microbiota epifítica es peculiar para *A. salmiana* (Blajman.2018)

Bibliografía:

- Gschalerdlle Mathis A. (2017). Aprovechamiento sustentable de residuos y subproductos. En *Panorama del aprovechamiento de los Agaves en México*. CIATEJ. México. pag:215-240
- Escalante A, Rodríguez ME, Martínez A, López-Munguía A, Bolívar F, Gosset G. Characterization of bacterial diversity in pulque, a traditional Mexican alcoholic fermented beverage, as determined by 16S rDNA analysis. *FEMS Microbiol Lett.* 2004 Jun 15;235(2):273-9
- Blajman J. E, Páez R.B., Vinderola C.G., Lingua M.S., Signorini M.L.. (2018). *Journal of applied microbiology*. Volumen (125): pag 1655-1669).

EVALUACIÓN DE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* MODIFICADAS GENÉTICAMENTE PARA PRODUCIR LA PROTEÍNA ADHESIVA MRCP-19K DEL PERCEBE *MEGABALANUS ROSA*.

Gustavo Zamudio-Cortés¹, Luz María Martínez-Mejía², Guillermo Gosset-Lagarda², José Campos-Terán³, Andrea Sabido-Ramos³

¹Licenciatura en Ingeniería Biológica. Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México, 05348. ²Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología Cuernavaca, 62210. ³Departamento de Procesos y Tecnología, Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México, 05348.

Correo electrónico: gustavozamudio96@gmail.com

Palabras clave: Bioadhesivos, proteínas recombinantes, ingeniería genética.

Introducción. Los adhesivos convencionales son sintetizados por procesos químicos basados en compuestos tóxicos y algunos compuestos orgánicos volátiles, derivados de fuentes no renovables como el petróleo (1). Es por esto que ha surgido un gran interés en los adhesivos de origen biológico (bioadhesivos) como reemplazo a los provenientes de fuentes fósiles.

Se han identificado organismos como los percebes que excretan proteínas “cemento” por medio de las cuales se unen a superficies (2). Por esta razón la expresión de este tipo de proteínas de manera recombinante en *Escherichia coli*, resulta una estrategia viable para la potencial producción de esta proteína adhesiva. En este proyecto se clonó la secuencia de la proteína Mrcp-19k del percebe *Megabalanus rosa* en un sistema de secreción de proteínas hacia la membrana exterior con el fin de conferir propiedades adhesivas a las cepas de *Escherichia coli* modificadas con esta proteína.

Metodología. Para ubicar a la proteína adhesiva Mrcp19k en la membrana externa de las células, se utilizó el plásmido pAg43pol (3), el cual contiene el sistema de secreción Ag43, que consta de una unidad de translocación (UT), la proteína que se desea transportar y un péptido señal. *Obtención de proteínas de membrana.* El tratamiento se realizó utilizando el método propuesto por Maurer et al. (1997) para obtener las proteínas totales de la membrana de las células.

Resultados. Se comprobó la presencia de la proteína Mrcp-19k en la membrana de las cepas modificadas por medio de un gel de proteínas SDS-PAGE, observándose un peso de 79, 280 Da, que corresponde a la proteína Mrcp-19k y a la UT (Fig. 1). Este fragmento no se observa en las cepas control (pAg43pol). En la Fig. 2. se muestra la comparación entre una cepa con la proteína adhesiva y sus controles, evaluadas en condiciones de agitación y sin agitación. Se puede observar que existen células adheridas a la superficie de vidrio, sin embargo, las cepas con la proteína adhesiva muestran agrupaciones bien definidas y de mayor tamaño que las cepas control.

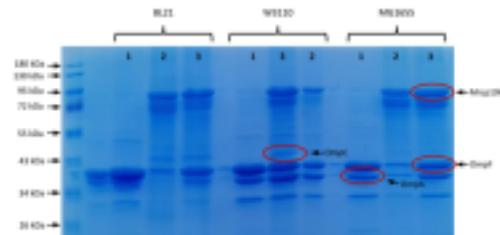


Fig. 1. Gel SDS-PAGE 1: Cepa control (pAg43), 2: Cepa transformada (pAg43Mrcp19k) tratada con tripsina, 3: Cepa transformada (pAg43Mrcp19k) sin tripsina. Entre cada cepa se dejó un carril libre para una mejor identificación.

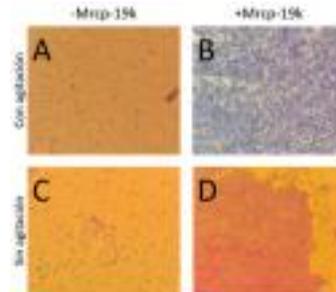


Fig. 2. Microscopía de contraste a 40x (A): MG1655/pAg43pol, (B): MG1655/pAg43Mrcp19k, (C): MG1655/pAg43pol, (D): MG1655/pAg43Mrcp19k.

Conclusiones. Se identificaron las proteínas de membrana externa junto con la proteína Mrcp-19k en las cepas recombinantes. Por otra parte, utilizando microscopía de contraste se pudo comprobar que todas las cepas que expresan la proteína adhesiva presentan mayor adhesión al vidrio con respecto a sus controles, siendo la cepa MG1655/pAg43Mrcp-19k la que mostró la mayor adhesión.

Bibliografía.

1. Ferdosian, F., Pan, Z., Gao, G., & Zhao, B. (2017). *Polymers*, 9(2):70.
2. Hennebert, E., Maldonado, B., Ladurner, P., Flammang, P., & Santos, R. (2015). *Interface focus*, 5(1), 20140064.
3. Muñoz-Gutiérrez, I., Oropeza, R., Gosset, G., & Martínez, A. (2012). *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 39(8), 1141–1152.



EVOLUCIÓN ADAPTATIVA DE *Clavispora lusitaniae* CDBB-L-2031 PARA ACELERAR EL CONSUMO DE XILOSA

Erika Alfayuset Ochoa Chacón^a, David Guzmán Hernández^a, Ana Ramos Valdivia^a, Alfredo Martínez^b, Teresa Ponce Noyola^a.

^aCinvestav, Departamento de Biotecnología, Ciudad de México, 07360. ^bInstituto de Biotecnología UNAM, Cuernavaca, Morelos, 62210.

Correo: erika.ochoa@cinvestav.mx

Palabras clave: xilosa, evolución, velocidad de consumo.

Introducción. La xilosa es el segundo azúcar más abundante en la biomasa lignocelulósica (1). En el contexto de la obtención de bioproductos como el etanol y el xilitol a partir de esta biomasa, es de suma importancia que esta pentosa sea utilizada más eficientemente para hacer rentable el proceso de producción (2). *Clavispora lusitaniae* es una levadura nativa de México, aislada de mostos de mezcal. Esta levadura posee la capacidad de producir etanol a partir de glucosa y celobiosa, y produce xilitol a partir de xilosa (3,4). El consumo de xilosa por parte de *C. lusitaniae* es lento en comparación al de la glucosa. El objetivo de este trabajo fue obtener una cepa evolucionada de *C. lusitaniae* con una mayor velocidad de consumo de xilosa.

Metodología. La evolución de *C. lusitaniae* se llevó a cabo en medio mínimo Breus (MMB) (0.5 g/L extracto de levadura, 1 g/L (NH₄)₂SO₄, 0.05 g/L MgSO₄) con combinaciones crecientes de xilosa y glucosa hasta alcanzar la relación 2:1. Después de aproximadamente 30 generaciones se aislaron las cepas evolucionadas y se realizaron cinéticas de crecimiento en matraces Erlenmeyer de 1 L conteniendo 250 mL MMB con relación 2:1 de xilosa:glucosa (MMB+XG) a 30 °C y 150 rpm durante 48 h. Las cinéticas se realizaron con la cepa nativa y 3 cepas evolucionadas de la levadura. El consumo de sustrato fue medido por medio de la técnica de DNS (5). En todos los casos la DO inicial fue de 5 U a 660nm.

Resultados. El consumo de azúcares entre la cepa silvestre de *C. lusitaniae* y las cepas Clu_Ev1, Clu_Ev2 y Clu_Ev3 fue muy similar hasta las 12 h en MMB+XG, en condiciones aerobias. Tras este tiempo, las cepas Clu_Ev1, Clu_Ev2 y Clu_Ev3 consumieron más azúcares en comparación a la cepa control, logrando una diferencia de al menos 5 g/L de azúcares consumidos a las 48 h (Figura 1).

Adicionalmente, se llevó a cabo el análisis estadístico de las velocidades específicas de consumo de sustrato (q_s), para discernir si existían cambios significativos en este parámetro (Tabla 1). Este análisis demostró que si existen diferencias significativas entre las q_s en los intervalos de 12 a 48 h y en el consumo global de 0 a 48 h en comparación con la cepa nativa de *C. lusitaniae*. Demostrando así que tras el proceso de evolución se lograron obtener cepas de *C. lusitaniae* con mayor

velocidad de consumo de sustrato de al menos dos veces mayor respecto a la cepa control.

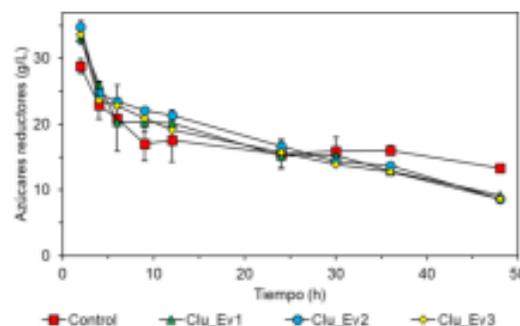


Figura 1. Consumo de sustrato por *C. lusitaniae* cepa silvestre y las cepas evolucionadas en MMB+XG 2:1.

Tabla 1. Velocidades específicas de consumo de sustrato (q_s^a) de *C. lusitaniae* control y cepas evolucionadas.

Cepa	0 – 12 h	12 – 48 h	0 – 48 h
Control	0.695 ± 0.1	0.066 ± 0.0	0.099 ± 0.0
Clu_Ev1	1.357 ± 0.4	0.258 ± 0.0*	0.244 ± 0.1*
Clu_Ev2	1.270 ± 0.2	0.266 ± 0.0*	0.239 ± 0.0*
Clu_Ev3	1.325 ± 0.1	0.259 ± 0.1*	0.244 ± 0.0*

^a q_s (g_{sustrato}/g_{biomasa}*h)

*Diferencias significativas determinadas con ANOVA de una vía con un valor $p \leq 0.05$.

De acuerdo con observaciones previas en el grupo de trabajo, cuando *C. lusitaniae* está en un medio de cultivo con glucosa y xilosa, opta por consumir primero la glucosa y tras un tiempo de adaptación, consume la xilosa. Por lo anterior, se presume que la q_s de esta pentosa fue la que aumentó.

Conclusiones. El proceso de evolución adaptativa en aerobiosis en MMB con xilosa y glucosa aumentó en promedio 2 veces la velocidad específica de consumo de sustrato en *C. lusitaniae*.

Agradecimiento. EAOCH es becaria de CONACyT, CVU 784763.

Bibliografía.

- (1) Komesu A, Oliveira J, Moreira J, Delloso E... da Silva Martins L. (2020). Xylose fermentation to bioethanol production using genetic engineering microorganisms. En: *Genetic and Metabolic Engineering for Improved Biofuel Production from Lignocellulosic Biomass*. pp143-154.
- (2) Ko J & Lee S. (2018). *Curr Opin Biotechnol*. 50:72-80.
- (3) Kumar A, Parikh B, Shah E, Liu L, Cotta. (2016). *Biocatal Agric Biotechnol*. 7:14-23.
- (4) Ochoa-Chacón E. (2018). Caracterización de la β -glucosidasa de *C. lusitaniae*. Tesis de maestría. Cinvestav.
- (5) Miller G. *Anal Chem*. 31:426-428.



PERFIL TRANSCRIPTOMICO DE UNA CEPA MUTANTE DE *Geobacter sulfurreducens* CON AUMENTO EN LA REDUCCIÓN DE Fe(III), FORMACIÓN DE BIOPELÍCULA Y PRODUCCIÓN DE BIOELECTRICIDAD

Juan Bernardo Jaramillo Rodríguez, Alberto Hernández Eligio, Katy Juárez López. Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 2001. Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México.

katy.juarez@ibt.unam.mx

Palabras clave: *Geobacter*, *GSU1771*, *Regulador transcripcional*

Introducción. *Geobacter sulfurreducens* es una bacteria que acopla la oxidación de compuestos orgánicos a un proceso de transferencia extracelular de electrones (TEE) usando óxidos metálicos como aceptores de electrones (Fe(III) y Mn(IV), así como algunos compuestos orgánicos (1). Debido a esto, *G. sulfurreducens* tiene un enorme potencial biotecnológico en la generación de bioelectricidad en celdas microbianas de combustible y biorremediación de agua o suelos contaminados con metales pesados o hidrocarburos (1). En la TEE están involucrados un repertorio de citocromos tipo-c y un pili tipo IV que funciona como nanocable (1). En un trabajo previo se observó que una cepa de *G. sulfurreducens* con el gen *gsu1771* deletado se incrementa la reducción de Fe(III) y produce una biopelícula más gruesa y electroconductiva, además de que aumenta la producción del pili, así como de algunos citocromos tipo-c (2). El objetivo de este trabajo fue determinar la respuesta transcriptómica global de la cepa mutante Δ GSU1771 en condiciones de formación de biopelícula.

Metodología. Se creció a *G. sulfurreducens* WT y la cepa mutante Δ gsu1771 en medio NBAF en condiciones anaerobias (3) dentro de botellas de vidrio a 25 °C por 48 horas. Posteriormente, se realizó extracción de ARN de las biopelículas, el cual se procesó para realizar RNA seq y obtener el transcriptoma (4). El análisis de datos se realizó mediante el programa en línea IDEAMEX (<http://www.uusmb.unam.mx/ideamex/>) eligiendo los genes diferencialmente expresados (DE) con un “p value” < 0.05 y un “Log fold change” > 1.5 en 4 métodos (edgeR, DESeq2, limma-voom y NOISeq). La anotación genómica se realizó usando la base de datos del KEGG (4). Finalmente se seleccionaron algunos genes DE y se validaron por RT-qPCR.

Resultados. En perfil transcriptómico de la cepa mutante Δ GSU1771 en condiciones de formación de biopelícula mostró que 467 genes se encuentran DE en los 4 métodos estadísticos usados. De los 467 genes DE, 167 presentaron regulación positiva y 300 regulación negativa (Fig. 1). Entre los genes con

regulación positiva, destacan aquellos involucrados en la producción de exopolisacáridos, transporte y metabolismo energético.

Los genes DE se agruparon en 15 categorías funcionales (Fig. 1). Para validar y corroborar el estudio de RNA-Seq se realizó RT-qPCR. Dentro de los genes regulados positivamente se seleccionaron: *epsH*, *gsu0972*, *hybA*, *pgcA*, *omcM*, *aroG*, *panC*, *gnfK* y *gsu2507* y, del grupo de genes con regulación negativa se seleccionaron: *acnA*, *ato-I*, *gsu0810*, *dcuB*, *pilA*, *ppcD*, *csrA* y *gsu3356*. Los resultados obtenidos en la RT-qPCR confirman lo observado en el transcriptoma.

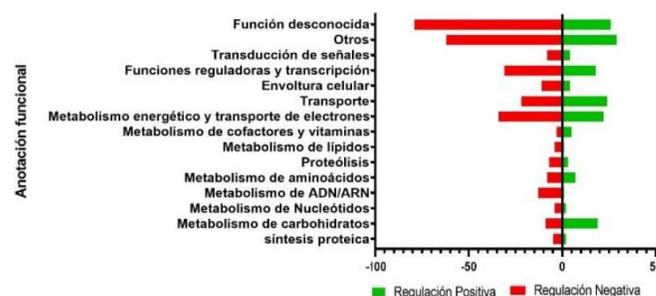


Fig. 1. Categorías funcionales que agrupan los genes DE en la cepa mutante Δ GSU1771. Gráfica generada en “GraphPad Prism 8”

Conclusiones. GSU1771 es un regulador transcripcional global que modula al menos 467 genes, en su mayoría actuando como regulador positivo. Dentro de los genes con regulación positiva encontramos aquellos que favorecen la formación de biopelícula y la TEE. Los resultados de RT-qPCR concuerdan con lo observado en el transcriptoma, por lo que los datos son confiables.

Agradecimiento. CONACyT CB255476.

Bibliografía.

- Reguera G, Kashefi K. (2019). *Adv Microb Physiol*. 74, 1-96.
- Hernández-Eligio A, Huerta-Miranda G, Martínez Bahena S, Castrejón-López D, Miranda-Hernández M, Juárez K. 2021. En preparación.
- Coppi MV, Leang C, Sandler SJ, Lovley DR. (2001). *Appl Environ Microbiol*. 67, 3180-3187.
- Hernandez-Eligio A, Pat-Espadas AM, Vega-Alvarado L, Huerta-Ampanan M, Cervantes FJ, Juárez K. (2020). *Appl Microbiol Biotechnol*. 104, 4059-4069.

SELECCIÓN DE MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE EXOPOLISACÁRIDOS.

Lorena Pedraza ¹, Ruth Pedroza¹, Karina Maldonado¹, Manuel Kirchmayr ²

¹ Universidad Iberoamericana Ciudad de México, Departamento de Ingeniería Química, Industrial y de Alimentos. Prolongación Paseo de Reforma 880, Lomas de Santa Fe, México, C.P. 01219, Ciudad de México. P4000. ² Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. Unidad de Biotecnología Industrial. Camino Arenero #1227. El Bajío del Arenal. Zapopan, Jalisco. México, C.P. 45019
lorena.pedraza@ibero.mx

Palabras clave: Exopolisacáridos, Biopelícula, Bacillus.

Introducción. El uso de hidrocoloides en la industria alimentaria, farmacéutica, cosmética y la química radica en su variedad de funciones para mejorar las características de los productos. Dentro de los hidrocoloides, hay un grupo de polisacáridos denominados gomas, que son macromoléculas complejas polielectrolíticas, con propiedades de textura, estabilizantes, emulsionantes, gelificantes e incluso para sustituir grasas. Las fuentes principales de gomas son vegetales y solo unas pocas, a partir de microorganismos. No obstante, las gomas producidas como exopolisacáridos de microorganismos muestran algunas propiedades superiores a las de origen vegetal, de ahí el interés por buscar microorganismos productores a partir de diversas fuentes (1,2) Por el área que representan los mares, los microorganismos de este origen son un potencial importante para la producción de exopolisacáridos. Estos microorganismos crecen en condiciones de alta presión osmótica, bajas temperaturas e incluso en limitación de nutrientes y son algunas de estas características lo que hace que sea factible la producción, ya sea de homo o heteropolisacáridos a partir de ellos, una vez que han sido aislados, identificados y seleccionados (3). El objetivo de este trabajo es identificar las cepas marinas productoras de EPS de forma preliminar, para posteriormente evaluar su desempeño en matraz y fermentador.

Metodología. El screening de microorganismos se llevó a cabo en el medio ASW el cual contiene en g/L (5.94 MgSO₄, 4.53 MgCl₂, 0.64 KCl, 1.3 CaCl₂, 5 YE, 35 NaCl) y se dejaron en incubación 24 horas. Una vez obtenidos los microorganismos formadores de películas se realizaron pruebas en medio líquido con la misma formulación sin agar, se dejaron 20 horas a 250 rpm y 30°C y se realizó la extracción de los EPS con etanol. Se realizaron pruebas adicionales donde se observó la formación de una biopelícula en la parte superior, en ASW con diferentes concentraciones de glucosa (16, 8 y 4 g/L); se utilizó de la misma forma el medio YPD y el medio Triptona-Glucosa-YE, el cual contiene en g/L (5 Triptona, 1 K₂HPO₄, 1 Glucosa); en todos los medios se observó la formación de la biopelícula desde la hora 8.

Resultados. Los microorganismos tienen diferentes capacidades para formar biopelículas y EPS dependiendo de su origen y del medio de cultivo como se ve en la figura 1, los pozos que además de crecimiento presentaron una película en la parte superior son los que tienen una coloración blanca-beige. En caja, las colonias formadoras de EPS tienen apariencia mucóide, sin la consistencia sólida de otras bacterias.

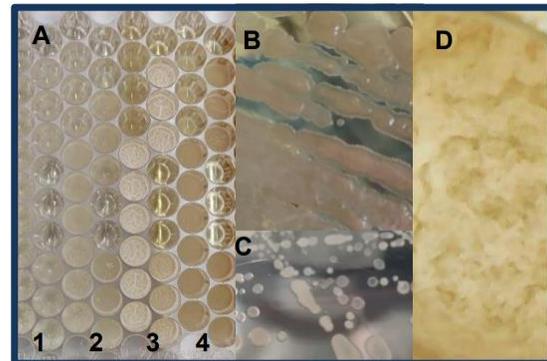


Fig. 1. (A) Formación de biopelícula en medio líquido, ASW (1), ASW sin sal (2) YPD (3), TGY (4), (B) Colonia mucóide de *B. velezensis* YPD (C) Colonia mucóide de *B. velezensis* ASW, (D) biopelícula en medio líquido YPD.

Conclusiones. La presencia de glucosa en el medio de cultivo fue uno de los principales factores para la producción de EPS en las cepas estudiadas, además de su origen (marino o terrestre), ya que no todas las cepas de una misma especie se comportan de la misma forma en la producción de biopelículas e incluso en algunos medios no se observó este fenómeno. A partir de estos resultados se está estudiando su comportamiento en matraz, para caracterizar a los EPS producidos.

Bibliografía.

1. Subair, H. (2015). *Procedia Food Science*, 3, 74-81.
2. Rühmann, B., Schmid, J., & Sieber, V. (2015). *Carbohydrate polymers*, 122, 212-220.
3. Chaudhari, R., Hajoori, M., Suthar, M., Desai, S., & Bharthana-Vesu, S. (2017). *Biosci Discov*, 8, 643-9.

ACTINOMICETOS: AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO DE INSECTOS VECTORES Y BACTERIAS PATÓGENAS

Daniela Cerda Apresa, María Guadalupe Maldonado Blanco, Katiushka Arévalo Niño, Verónica Almaguer Cantú, Ma Guadalupe Rojas Verde, Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Cd. Universitaria, C. P. guadalupe.rojasvrd@uanl.edu.mx.

Palabras clave: Enzimas hidrolíticas, gen *PKS1*, actividad antibacteriana.

Introducción. Los microorganismos son una fuente inagotable de compuestos de alto valor aplicables en diversas áreas, médica, agrícola, de alimentos, entre otras por la capacidad de producir compuestos antiparasitarios, potenciadores del crecimiento de plantas, enzimas hidrolíticas, etc. Dentro de estos se encuentran los actinomicetos, bacterias grampositivas, filamentosas (presentan pseudomicelio), ampliamente distribuidas en ambientes terrestres y acuáticos (1). En los últimos años los actinomicetos se han colocado como candidatos para ser empleados en el ataque de insectos transmisores de enfermedades virales (ejemplo, *Aedes aegypti*) (2), sin embargo, evaluar al total de aislados nativos resulta costoso y poco práctico, por lo cual es necesario establecer un mecanismo de preselección (3). Detectar el gen *PKS1* en actinomicetos aislados de diversas regiones y evaluar su actividad antimicrobiana.

Metodología. Los actinomicetos fueron activados en agar avena por 5 días a 30°C. La actividad antimicrobiana se realizó por doble capa sembrando los actinomicetos (fragmento) en Mueller Hinton, después de 5 días se agregó en doble capa del mismo agar con cada una de las diferentes bacterias evaluadas (concentración de 1X10⁸ cel/mL) y se incubó a 37°C por 24 h. Para la detección del gen *PKS1* se realizó la extracción por la técnica de una colonia y se hizo la pcr a las condiciones sugeridas para los oligos empleados, así como una electroforesis en gel de agarosa para visualizar el amplicón.

Resultados. Del total de actinomicetos aislados, en 42 se evaluó la actividad antimicrobiana. Se determinó que cuatro tuvieron un efecto inhibitorio contra *S. aureus*, *S. enteritidis*, *S. Typhimurium* y *K. pneumoniae* (Figura 1). Siendo la cepa CHI30 (Aislada de Chiapas), el actinomiceto capaz de inhibir al total de bacterias evaluadas, así como presentar la mayor inhibición contra *S. Typhimurium* (3.5 cm de diámetro), Adicional a ello, es capaz de producir diferentes enzimas hidrolíticas como quitinasa, lipasa, proteasa y esterasa. Por otro lado, en 19 actinomicetos se detectó el gen *PKS1* (Figura 2).

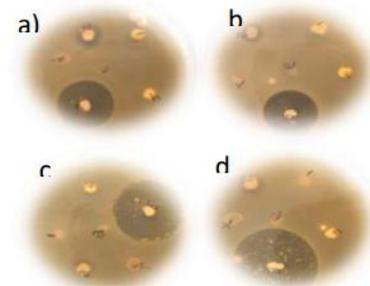


Fig. 1. Evaluación de la actividad antimicrobiana de CHI30 contra bacterias patógenas. a) *S. aureus*, b) *S. enteritidis*, c) *K. pneumoniae*, d) *S. Typhimurium*

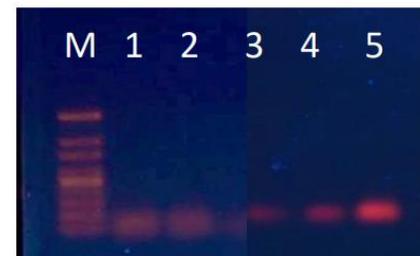


Fig. 2. Amplicones obtenidos en electroforesis en agarosa al 1.5 %. M, marcador. 1, CHI29, 2, CHI30, 3, CHI46, 4, CHI61, 5, CHI63

Conclusiones. La capacidad que presentan los actinomicetos para inhibir bacterias patógenas, el presentar enzimas hidrolíticas como las quitinasa, proteasas y lipasas, así como la presencia del gen *PKS1* señalan que al menos CHI30 puede ser empleado como agente de control biológico contra insectos en particular *Aedes aegypti*, vector transmisor de enfermedades virales de gran importancia médica.

Bibliografía.

- Sharma V., Salwan R. 2018. Biocontrol potential and applications of actinobacteria in agriculture. In New and Future Developments in New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering. Pratap S. B, Kumar G. S., Kumar P. G (Ed). Elsevier. Holanda. 93-108.
- Hitzenhammer E. 2019. YPR2 is a regulator of light modulated carbon and secondary metabolism in *Trichoderma reesei*. BMC Genomics 20(211):1-14
- Charousová, I. 2019. Antimicrobial activity of actinomycetes and characterization of actinomycin-producing strain krg-1 isolated from Karoo, South Africa. Brazilian J. Pharm. Scie. 55(7249): 1-11

MICROORGANISMOS PROMOTORES DEL CRECIMIENTO: ACTINOMICETOS

Daniela Cerda Apresa, Itzeel Rosalina Ramírez Hernández, Katiushka Arévalo Niño, Verónica Almaguer Cantú, Ma Guadalupe Rojas Verde, Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Cd. Universitaria, C. P.

guadalupe.rojasvrd@uanl.edu.mx

Palabras clave: Actinomicetos, enzimas hidrolíticas, promotores del crecimiento

Introducción. El uso de fertilizantes químicos y herbicidas ha conducido a la generación de contaminación del suelo, el agua y el ambiente en general, así como el incremento en costos de producción y efecto nocivo para la salud de mamíferos (1). Los biofertilizantes elaborados con microorganismos permiten el crecimiento de la planta, aportando nutrientes necesarios al convertir compuestos complejos en nutrientes simples, la producción de hormonas que generan la proliferación de raíces. Los actinomicetos son bacterias presentes en suelo, gram positivas capaces de degradar la materia orgánica, promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), fijadoras de nitrógeno, solubilizadoras de fosfatos y productoras de sideróforos (2).

Debido a esto, se evaluó la capacidad de actinomicetos nativos de producir enzimas hidrolíticas, IAA (ácido indol acético), producción de amonio y la solubilización de fosfatos, aislados de diversas regiones de México y Canadá.

Metodología. Los actinomicetos se reactivaron en agar avena. Las enzimas hidrolíticas se determinaron empleando los sustratos específicos para cada fin: quitina, CMC, caseína y almidón para quitinasa, celulasa, proteasa y amilasa, respectivamente. Para la producción de amonio se empleó el método descrito por Lara, et. al. (3). Finalmente, la solubilización de fosfatos se empleó el medio de Pikovskaya.

Resultados. De los 26 actinomicetos evaluados, 1% fueron positivos a proteasa, 59% a quitinasa, mientras que el 100% fueron positivos para CMCasa y amilasa (Figura 1)

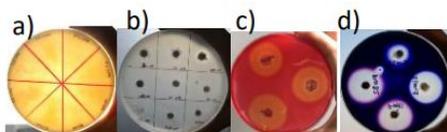


Fig. 1. Actividad enzimática de a) proteasa, b) quitinasa, c) CMCasa y d) amilasa de los actinomicetos aislados.

Con respecto a la fijación de nitrógeno, siete actinomicetos exhibieron un cambio en el color a los 3 días de crecimiento, aunque 22 fueron capaces de crecer en esas condiciones, mientras que cuatro fueron incapaces de desarrollarse (Figura 2).

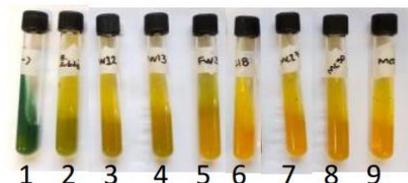


Fig. 2. Fijación de nitrógeno. 1) control negativo 2) Control positivo, *B. subtilis* del 3 al 9, actinomicetos nativos de diferentes regiones.

Por otro lado, la producción de amonio fue variable, siendo los aislados de Mexicali (51) y de Chiapas (CHI143), los que mostraron una mayor intensidad (Figura 3). Por último, la fijación de nitrógeno, 13 actinomicetos presentaron una degradación del medio, siendo los aislados de Canadá, Mexicali y Chiapas (datos no mostrados).



Fig. 3. Producción de amonio. Color amarillo (-), color rojo (+). Orden de izquierda a derecha: Primera fila: MC34, MC37, MC38, MC39, MC40, MC47, MC50 y MC51. Segunda fila: *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, CHI43, FW11, FW12, FW13, FW32 y FW40. Tercera fila: MC18, MC19, MC22, MC2vo5, MC26, MC27, MC28 Y MC30.

Conclusiones. Los actinomicetos son capaces de producir una amplia gama de metabolitos, los que los coloca como una alternativa para ser empleados en diversas áreas. Dentro de la que puede destacar su uso como biofertilizantes, en particular los aislados de Mexicali, Baja California, específicamente MC51, ya que esta cepa es capaz de producir no solo enzimas hidrolíticas como proteasas, quitinasas, CMCasas y amilasas, sino también es buen fijador de nitrógeno y productor de amonio.

Bibliografía.

1. Kumar P, Kumawat, Kumar Y. (2017). Role of biofertilizers in agricultura. Popular Kheti. 5(4):63-66.
2. Franco C. M. (2008). Utilización de los actinomicetos en procesos de biofertilización. *Rev. Peruana Biol.* 16(2):239-242.
3. Lara M. C, Oviedo Zumaqué L. e., Betancur Hurtado C. A. (2011). Bacterias nativas con potencial en la producción de ácido indol acético para mejorar los pastos. *Zootecnia tropical.* 29(2): 187-194.



PRODUCCION DE CUTINASAS EN *Pichia pastoris*: DIFERENCIAS DE COMPORTAMIENTO ENTRE CEPAS HOSPEDERAS.

Andrea Sabido, Montserrat Tagle, Krystel León, José Augusto Castro y Amelia Farrés. Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, UNAM, 04510 Ciudad de México
farres@unam.mx.

Palabras clave: Pichia pastoris, cutinasas, expresión heteróloga.

Introducción. Las cutinasas han adquirido relevancia en la última década por diversas aplicaciones, particularmente en la degradación de poliésteres. El sistema cutinolítico de *Aspergillus nidulans* ha sido descrito (1) y dos de sus componentes presentan potencial para la degradación de poliésteres (2). Uno de los retos para lograr su explotación es contar con un sistema eficiente de producción.

Pichia pastoris es una levadura ampliamente utilizada en la producción heteróloga de proteínas eucariotes. En primera instancia, se empleó como hospedera la cepa X33 y como vector el plásmido pPICZ α , que contiene dos promotores aox inducibles por metanol. En ese trabajo se pretende explorar si el uso de las cepas denominadas Mut^r puede ofrecer ventajas en la producción de las proteínas de interés. Estas cepas, como la KM71H, sólo contienen un promotor aox y tienen una utilización más lenta de metanol. Se comparan los resultados para dos enzimas, ANCUT1 y ANCUT3, en diferentes condiciones de inductor e inóculo.

Metodología. Se sintetizaron los genes de interés optimizando el uso de codones para *Pichia pastoris*. Las clonas criopreservadas fueron propagadas en medio YPD, de acuerdo a las recomendaciones del proveedor (ThermoFisher) y se emplearon para propagación en matraces de 250 mL con agitación de 300 rpm, 29 °C, medio BMGY, durante 72 h. La actividad esterasa fue evaluada espectrofotométricamente con p-nitrofenil acetato (3) y la cuantificación de proteína se realizó por el método de Bradford.

Resultados.

Metanol	Actividad volumétrica ANCUT 1	Actividad volumétrica ANCUT 3
0.5%	188	131
1.0%	182	157
1.5%	80	204
3.0%	80	113

Tabla 1. Actividad presentada por las clonas ANCUT 1 y ANCUT 3 en las cepas *Pichia pastoris* KM71H. Determinaciones por triplicado.

Conclusiones. Los niveles de actividad alcanzada son mayores cuando se emplea la cepa X33 como hospedera, independientemente del nivel de inóculo. En esa cepa, la

mayor producción se alcanza en la Clona ANCUT1 con 3% de metanol, mientras que cuando se usa la KM71H el valor mayor se logra a la concentración más baja de metanol.

Metanol(%)	ANCUT 1	ANCUT 3
0.5	744	97
1.5	567	97
3.0	1867	84

Tabla 2. Actividad volumétrica (u/MI) obtenida por las clonas de ANCUT1 y ANCUT3 expresadas en *Pichia pastoris* X33

Nivel de inóculo (%)	ANCUT1	ANCUT3
0.1	99	114
0.5	188	110
1.0	179	116
2.0	99	189

Tabla 3. Actividad volumétrica (U/MI) obtenida por las clonas de ANCUT1 y ANCUT 3 expresadas en *Pichia pastoris* KM71H ante diferentes niveles de inóculo.

La actividad de ANCUT 3 es mayor a 1.5% de metanol en la cepa Mut^r y no presenta diferencia significativa cuando se usa X33. Ambas cepas requieren de diferente nivel de inóculo para alcanzar la máxima producción. Se debe explorar el papel de la secuencia genética en la respuesta al nivel de inductor. Ambas cepas requieren de diferente nivel de inóculo para alcanzar la máxima producción.

Agradecimiento. PAPIIT UNAM IT203128, IT201921 y PAIP Facultad de Química 9000-9095. AS recibió beca posdoctoral DGAPA.

Bibliografía

- Bermúdez-García E, Peña-Montes C, Martins I, País J, Silva Pereira C, Sánchez S, Farrés A. 2019. Regulation of the cutinasas expressed by *Aspergillus nidulans* and evaluation of their role in cutin degradation" Appl Microbiol Biotechnol. 103:3863-3874.
- Farrés, A. Peña Montes, C., Hernández, E., Morales, S., Sánchez, M. y Solís, I. (2021). Cutinasas recombinantes de *Aspergillus nidulans* para degradación de poliésteres solicitud MX/a/2016/006869 y WPO 2017204615A2. Otorgada, 21 enero 2021 Título 3800946.
- Del Monte-Martínez A, González-Bacero J, Aragón-Abreu C, Palomo-Carmona JM, Guisán-Seijas JM, Díaz-Brito J. (2012). Selective and oriented immobilization of (phospho)lipases from the Caribbean Sea anemone *Stichodactyla helianthus* by interfacial adsorption. Rev CENIC Cienc Biol.43, 3-8.



NANOENSAMBLAJES SUPRAMOLECULARES PARA CAPTURA DE ANTICUERPOS EN EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS.

Juan Patiño Cárdenas & Luz María López Marín, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM Campus Juriquilla, 76230 Querétaro, México

juanpatino@comunidad.unam.mx.

Palabras clave: tuberculosis, antígeno, diacil trealosa.

Introducción. Actualmente la tuberculosis es la principal causa de muerte debido a un agente infeccioso, con casos y muertes con aumentos anuales previstos para los próximos años [1]. La detección temprana de esta enfermedad permitirá una pronta aplicación de tratamiento y de las medidas cautelares para evitar su transmisión y propagación. Entre los antígenos más prometedores para el serodiagnóstico de la tuberculosis destacan los compuestos lipídicos, abundantes en *Mycobacterium tuberculosis*, el agente causal de la enfermedad [2]; sin embargo, este tipo de antígenos ha sido desatendido debido a su carácter lipofílico.

El objetivo de este trabajo es el despliegue del lípido diacil trealosa, antígeno específico para diagnóstico de la tuberculosis, en un formato coloidal. En este trabajo se presentará el diseño y resultados preliminares de este estudio.

Metodología. El antígeno será obtenido a partir de un extracto orgánico de células de micobacterias, y su estructura confirmada mediante técnicas químicas (reacciones específicas e identificación de componentes), movilidad cromatográfica, y espectrometría de masas. Dado su carácter anfipático, el antígeno será desplegado en liposomas. Para ello, vesículas de múltiples capas serán preparadas por el método de deshidratación/rehidratación, usando mezclas de fosfatidilcolina, colesterol y dodecanotiol. Enseguida, se obtendrán vesículas monocapa mediante extrusión. Finalmente, se evaluará la estabilidad de las estructuras obtenidas, así como su capacidad para la captura de anticuerpos específicos.

Para ello, los liposomas serán inmovilizados sobre una superficie metálica conductora, y la presencia de reacciones antígeno-anticuerpo será monitoreada.

Resultados. Se discutirán las bases del trabajo, incluyendo la pertinencia del desarrollo de métodos rápidos para el diagnóstico de tuberculosis y la selección del antígeno, así como las oportunidades que la ciencia e ingeniería de materiales brinda para el rescate de moléculas bioactivas de difícil manejo en medios acuosos.

Conclusiones. La reciente emergencia de la lipidómica es decir del estudio integral de los lípidos de una célula u organismo, ha puesto en relevancia la importancia de estos compuestos en el área de la biomedicina. El uso de la nanotecnología y de la ciencia de materiales hace posible el desarrollo de estrategias para el monitoreo o la explotación de lípidos bioactivos. En este trabajo se discute y se presenta la elaboración de un sistema coloidal como una nueva plataforma diagnóstica de la tuberculosis.

Agradecimiento. Este trabajo es apoyado por Becas Nacional (Tradicional) 2020–2, Conacyt con Clave: 2020- 000026-02NACF y el Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado (PAEP) 2021.

Bibliografía.

1. Comella-del-Barrio P., De Souza-Galvão M., Prat Aymerich C., Domínguez J. (2021). *Arch Bronconeumol.* 57(S2): 5-6.
2. Steingart K., Dendukuri N. Henry M. Schiller I., Nahid P., Hopewell P., Ramsay A., Pai M., Laal S. (2009). *Clin. Vaccine Immunol.* 16(2): 260-2766.

EVALUACIÓN DE *Bacillus* sp. PARA EL CONTROL DE ENFERMEDADES EN POSCOSECHA DE AGUACATE HASS

Lorena María López Lujan¹, Cristina Calle Henao¹, María Paulina Montoya Vargas¹, Juan Carlos Bedoya Pérez², Sinar David Granada García¹, 1. Unidad de Fitosanidad y Control Biológico, Corporación para Investigaciones Biológicas (UFCB)- CIB, Medellín Colombia, 2. Facultad de Ciencias de la Salud. Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia. Medellín Colombia

lomlopezlu@unal.edu.co

Palabras clave: *Bacillus* sp., aguacate Hass, patógenos poscosecha

Introducción. La comercialización de aguacate colombiano se ha visto limitada por problemas fitosanitarios que se manifiestan en poscosecha (1). El control de estas enfermedades se realiza empleando prochloraz (2). A pesar de esto, la industria intenta reducir el uso de fungicidas teniendo en cuenta su efecto adverso sobre la salud humana y el ambiente (3). El control biológico representa una alternativa para combatir patógenos de aguacate. En este trabajo, se evaluó el potencial de *Bacillus* sp. para proteger frutos de aguacate Hass frente infección por patógenos en poscosecha.

Metodología. Se emplearon bacterias y hongos patógenos de aguacate de la colección de la UFCB. Se seleccionaron bacterias antagonistas por enfrentamientos duales. Luego, se evaluó su eficacia in vivo para controlar lesiones en frutos infectados con patógenos. Se determinaron parámetros de crecimiento y fuentes de carbono/nitrógeno óptimas para favorecer producción celular y endosporas empleando la metodología de optimización “Un factor a la vez”.

Resultados. Se seleccionó el aislamiento HOB008-290 *Bacillus* sp. por su eficacia en la protección de frutos en poscosecha (Fig 1). En fermentación sumergida se logró una producción de 5×10^9 cel/mL y 2×10^{10} endosporas viables/mL. Se seleccionaron sacarosa y caseína hidrolizada de soya como fuentes de carbono y nitrógeno adecuadas para favorecer la producción de células y endosporas (Fig 2, 3).

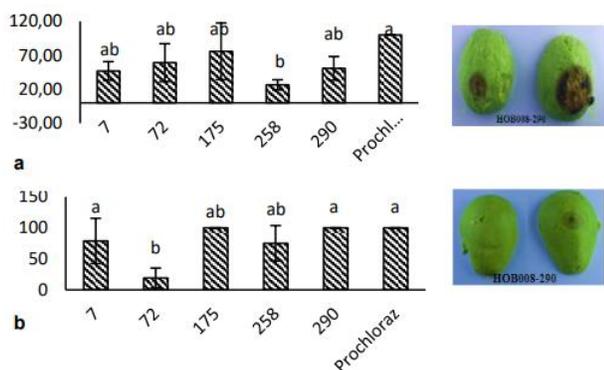


Fig 1. Porcentaje de protección de los aislamientos bacterianos frente al desarrollo del patógeno poscosecha a) C. gloeosporioides y b) L. sojiae.

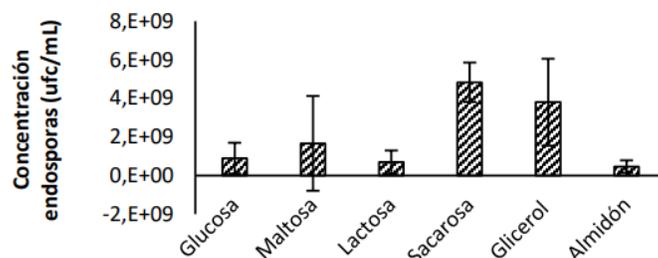


Fig 2. Efecto de la adición de diferentes suplementos de carbono a la fermentación en estado líquido sobre la producción de endosporas por el aislamiento *Bacillus* sp. HOB008-290.

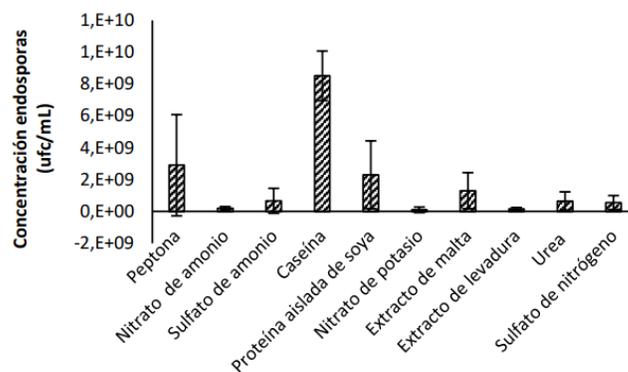


Fig 3. Efecto de la adición de diferentes suplementos de nitrógeno a la fermentación en estado líquido sobre la producción de endosporas por el aislamiento *Bacillus* sp. HOB008-290

Conclusiones. Estos resultados demuestran el potencial de aislamientos *Bacillus* sp. nativos de aguacate para conservar la calidad del fruto en poscosecha, representando un recurso viable para el desarrollo de productos que puedan ser articulados a los procesos de plantas empacadoras de aguacate.

Agradecimiento. A las instituciones participantes: Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, CIB y COLCIENCIAS, Jardines Sierra, ASPROAGRICOL, Green West.

Bibliografía.

- Maftoonazad, N. et al. (2007). Carbohydr. Polym. Vol. 68, no. 2, p. 341–349.
- Korsten, et al. (1993). Diseases Biological Control of Avocado p 65–69.
- Obianom, C. et al. (2019). Postharvest Biol. Technol. Vol. 147, p. 214–221
- Granada, D. et al. (2020). J Integr Agric. 2020. Vol. 19, no. 3, p. 748–758.



CUPREDOXINAS DE PARED CELULAR DE HONGOS FILAMENTOSOS: DEMOSTRACIÓN DE SU LOCALIZACIÓN E INDAGACIÓN DE SU PAPEL BIOLÓGICO

Jesús Urbar-Ulloa, Elizabeth Chavira-Espinoza, Alejandro Pereira-Santana, Jorge Verdín, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Biotecnología Industrial, Zapopan 45019,

jeurbar_al@ciatej.edu.mx

Palabras clave: cupredoxina, *Neurospora*, pared celular

Introducción. La indagación *in silico* de la composición proteómica de la pared celular de hongos filamentosos lignocelulolíticos condujo a la identificación de una cupredoxina (CuRDX) en *Neurospora crassa* que cuenta con las señales necesarias (péptido señal, GPI-señal, ausencia de regiones transmembranales, [Ser/Thr] >21%) para potencialmente residir en la pared celular. Además, estudios transcriptómicos señalan un aumento significativo en la expresión del gen que la codifica (NCU04496) en un estado de inanición o en presencia de sustratos lignocelulósicos² con respecto a sacarosa como sustrato, sugiriendo una correlación entre la expresión de esta proteína y algún proceso relacionado con la alimentación. La presencia de esta proteína en la pared celular de *N. crassa* abriría la posibilidad de que esta estructura cuente con funciones sin precedentes como la ligninólisis. Por lo tanto, el presente trabajo tiene como objetivo la verificación *in vivo* de la localización de CuRDX en la pared celular de *N. crassa* además de rastrear su evolución y su posible papel biológico mediante técnicas bioinformáticas.

Metodología. La verificación de la localización *in vivo* de CuRDX se realizó mediante las fusiones *curdx-1* (Pccg1::curdx::v5::gfp) y *curdx-2* (Pccg1::ps::gfp::v5::curdx) de *curdx* con *gfp* para posteriormente ser incorporado al genoma de *N. crassa* mediante recombinación homóloga³. Las cepas transformantes y *curdx-knock-out* fueron analizadas *a posteriori* mediante microscopía confocal de fluorescencia y con experimentos de crecimiento radial y conteo de hifas. Para indagar en su evolución se elaboró una reconstrucción filogenética y análisis sinténico utilizando una base de datos con 521 proteomas fúngicos de donde se obtuvieron los ortólogos de CuRDX, quienes fueron filtrados en función a las señales pertinentes para residir en la pared celular de hongos filamentosos.

Resultados. De la estrategia *in silico* para la indagación de su proceso evolutivo y su papel biológico se obtuvieron los ortólogos de CuRDX con las señales necesarias para residir en la pared celular, en su mayoría pertenecientes a hongos filamentosos de las divisiones *Ascomycota* y *Basidiomycota*, encontrándose ausentes hongos levaduriformes como *Ustilagomycetes* y *Saccharomycetes*. Enseguida se realizaron dos reconstrucciones filogenéticas basadas en la proteína completa y en su dominio funcional: mientras que la reconstrucción filogenética basada en la proteína

completa muestra una conservación en función de la *División*, aquella basada en el dominio funcional se divide en cuatro clados alternados entre *ascomicetos* y *basidiomicetos*. Esta diferencia podría significar que, mientras las cupredoxinas han evolucionado de manera paralela en función de su *División*, los dominios funcionales conservan características en común, quizás asociado a su función biológica. Por otro lado, el análisis sinténico muestra 16 clados *Clase-específicos fortaleciendo* la hipótesis acerca de una reducción sinténica debido a factores como la transferencia lateral o la reproducción asexual⁴. En relación a las cepas transformantes generadas, aquella que expresa la fusión *curdx-1* mostró fluorescencia en vacuolas dentro de las hifas sugiriendo que las modificaciones post-traduccionales derivadas de la GPI señal siguen la misma ruta de las proteínas de pared celular de hongos levaduriformes. Por otra parte, la fusión *curdx-2* tuvo una señal de fluorescencia ausente en su análisis por microscopía, posiblemente debido a interacciones oxidantes indeseadas entre CuRDX y GFP. Los análisis de crecimiento radial mostraron un crecimiento 3 veces más rápido de cepa de *N. crassa* expresando la fusión *curdx-2* con respecto al resto de cepas, mientras que la cepa *curdx-1* y *knock-out* mostraron una etapa de adaptación prolongada con respecto al resto y un menor crecimiento final de la cepa con la fusión *curdx-1*. Finalmente el conteo de hifas mostró una ramificación significativamente mayor por parte de la cepa *curdx-1* con respecto al resto.

Conclusiones. Los resultados obtenidos tanto en la estrategia *in silico* como *in vivo* muestran que CuRDX de *N. crassa* tiene un impacto directo en la morfología de las hifas y su capacidad de ramificación soportando la hipótesis de una pared celular fúngica funcionalizada, ya sea en la degradación de lignocelulosa o en su crecimiento y elongación.

Agradecimiento. Este trabajo contó con el apoyo económico del fondo SENER-CONACYT "Sustentabilidad energética" (proyecto 245750)

Bibliografía.

1. Wang B., Li J., Gao J., Cai P., Han X., Tian C. (2017). *Biotechnol Biofuels*. 10: 17.
2. Wu V., Thieme N., Huberman L., Dietschmann A., Kowbel D., Lee J., Calhoun S., Singan V., Lipzen A., Xiong Y., Monti R., Blow M., O'Malley R., Grigoriev I., Benz J., Glass L. (2020). *PNAS*. 117 (11): 6003-6013.
3. Sharan S., Thomason L., Kuznetsov S., Court D. (2009). *Nat. Protoc.* 4, 206-223.
4. Hane J., Rouxel T., Houlett B., Kema G., Goodwin S., Oliver R. (2011). *Genome Biol.* 12 (5): R45.