

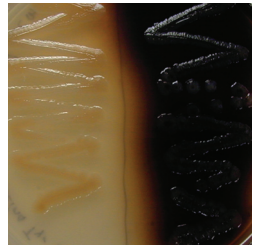
Ingeniería metabólica de bacterias

Alfredo Martínez Jiménez y Guillermo Gosset Lagarda

Entre los compuestos generados por la industria química, los aromáticos y los combustibles se distinguen por tener un gran número de aplicaciones en los sectores farmacéutico, de alimentos y energético. Actualmente, estas moléculas se obtienen mediante procesos basados en refinación y síntesis química a partir del petróleo y derivados. Esto permite producir compuestos aromáticos y combustibles útiles con un costo de producción relativamente bajo. Sin embargo, la mayoría de estos procesos generan subproductos que contaminan el medio ambiente. Por otro lado, depender del petróleo como materia prima tiene la desventaja de que no es renovable, por lo tanto, en el futuro su disponibilidad será limitada. Por estos motivos, ha surgido el interés en la búsqueda de alternativas tecnológicas para producir compuestos útiles mediante procesos no contaminantes y que no dependan del petróleo. Una de las alternativas más promisorias es la biotecnología. Esta área tecnológica puede definirse como el uso de organismos o sus componentes, con el fin de generar bienes y servicios. Todos los seres vivos tienen la capacidad de realizar transformaciones químicas debido a que poseen proteínas especializadas

llamadas *enzimas* que funcionan como catalizadores. La biotecnología estudia y aprovecha esta capacidad catalítica natural de los organismos para generar procesos biológicos de producción de moléculas útiles.

El conjunto de reacciones químicas que ocurren en un organismo se conoce como metabolismo. Esta serie de transformaciones químicas tiene el propósito de generar diversas moléculas que serán unidas en diferentes configuraciones y así se generarán nuevos componentes celulares. Mediante este proceso la célula crece hasta llegar a un punto en que se divide dando lugar a nuevas células. Mediante reacciones específicas, la energía química para llevar a cabo estos procesos es extraída de las moléculas orgánicas, principalmente azúcares. Así, cualquier célula puede considerarse como una fábrica microscópica, capaz de llevar a cabo un gran número de reacciones químicas diferentes. Sin embargo, en su estado natural, las células generalmente no producen cantidades elevadas de los compuestos útiles desde el punto de vista industrial. Por este motivo es necesario modificar su metabolismo para que adquieran tal capacidad, para que se conviertan en fábricas químicas.



373

La ingeniería de vías metabólicas y la bacteria *Escherichia coli*

El área de la biotecnología que se relaciona al estudio y la modificación del metabolismo es la *ingeniería de vías metabólicas* (IVM). Ésta puede definirse como la modificación racional y directa de las reacciones que constituyen el metabolismo de un organismo, con el propósito de mejorar sus propiedades o su productividad (Bailey, 1991). La IVM surge como una nueva área dentro de la biotecnología como resultado del cúmulo de conocimientos generados por varias disciplinas biológicas que incluyen principalmente a la bioquímica, la genética, la biología molecular y las ciencias genómicas. En la **figura 1** se muestra un esquema que representa el flujo de información genética en la célula, así como las áreas de la biología y la ingeniería que son utilizadas como herramientas teóricas y prácticas de la IVM. En la parte central de la figura se muestra la relación existente entre la información genética contenida en el genoma de una célula, la composición de proteínas y su efecto sobre el metabolismo. Este esquema representa el dogma central de la biología molecular, el cual dicta que la información genética fluye del ácido desoxirribonucleico (ADN), hacia el ácido ribonucleico (ARN) y, finalmente, hacia las proteínas. Las proteínas son las responsables de llevar a cabo la mayoría de las funciones celulares; por lo tanto, el tipo y la cantidad de proteínas específicas (*proteoma*) presentes en una célula determinan qué funciones celulares estarán activas.

El metabolismo es un proceso celular en que participan un gran número de proteínas diferentes. La célula posee mecanismos para coordinar cuáles proteínas y en qué cantidad son necesarias dependiendo de las condiciones externas. Cualquier célula microbiana típica tiene el potencial genético en su genoma para sintetizar un número considerable de proteínas. En el caso de la bacteria *Escherichia coli*, se estima que este número es cercano a 4400 proteínas diferentes. El control sobre cuáles proteínas se sintetizan ocurre principalmente a nivel de la síntesis del ARN. Existen proteínas, llamadas

reguladores, que tienen la función de facilitar o impedir que un gene sea transcrito en ARN. De esta manera, mediante la regulación genética, la célula tiene mecanismos para controlar que sólo se sinteticen las proteínas necesarias para una condición ambiental determinada.

La posibilidad de modificar de manera directa el metabolismo es el resultado del conocimiento actual sobre las reacciones químicas que lo constituyen, las enzimas que catalizan dichas reacciones y los genes que las codifican. Debido a que el metabolismo es una red muy extensa y compleja de reacciones, se necesitan metodologías que permitan analizarlo cuantitativamente. Asimismo, se requieren herramientas especializadas para modificar de manera directa los componentes celulares. El conjunto de instrumentos se presenta en la **figura 1**.

La ingeniería genética y sus técnicas de ADN recombinante surge en los años setenta como resultado del conocimiento acumulado en el campo de la biología molecular. Con ello se abre la posibilidad de aislar, editar y modificar el material genético, lográndose incluso el trasplante de genes entre especies diferentes. Una importante aplicación de la ingeniería genética ha sido el desarrollo de cepas bacterianas con la capacidad de producir cantidades elevadas de proteínas terapéuticas, como es el caso de la insulina y la hormona de crecimiento humanas (Olmos *et al.*, 1994).

El desarrollo en años recientes de las técnicas de la biología molecular ha permitido la determinación de las secuencias nucleotídicas de genomas completos. Surge así la ciencia genómica, la cual tiene como objetivo el estudio de la función, interrelación y evolución de todos los genes de un organismo. La ciencia genómica se ha desarrollado con el apoyo de la bioinformática, interfase indispensable para el análisis teórico de las secuencias de ADN depositadas en bases de datos.

La biología estructural y las técnicas de ADN recombinante han sido aplicadas al estudio y modificación de proteínas, desarrollándose así la ingeniería de proteínas. Esta disciplina

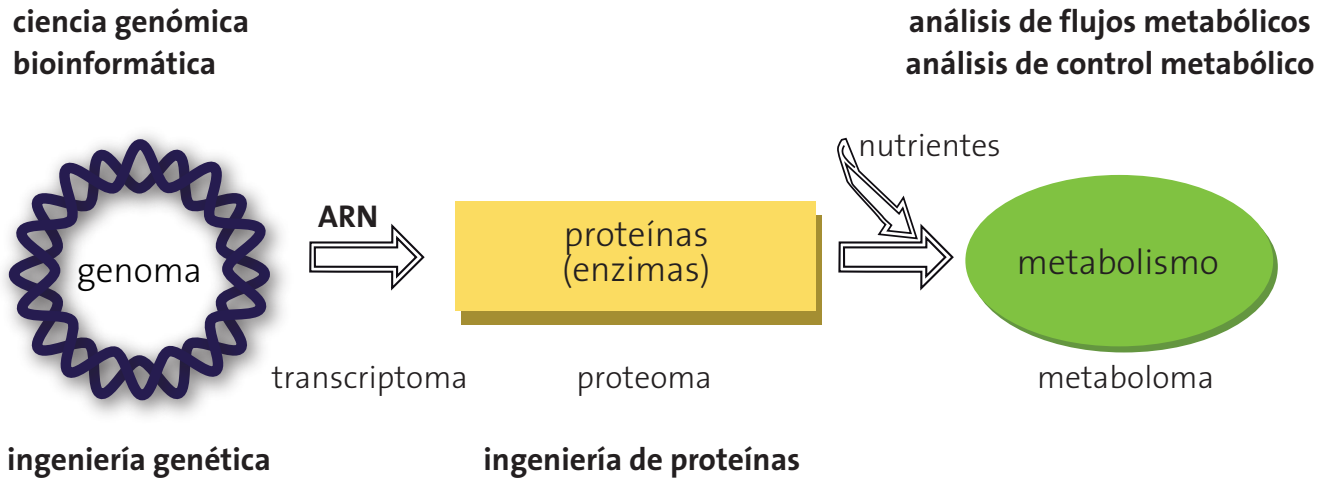


Figura 1.
Herramientas teóricas y experimentales de la ingeniería de vías metabólicas.

tiene como objetivo la modificación racional de las propiedades de una proteína, tomando como base la información funcional y estructural. La ingeniería de proteínas generalmente se aplica al mejoramiento de enzimas. Entre las mejoras que se realizan a este tipo de proteínas, se pueden citar: incrementar la actividad específica, cambiar la especificidad hacia nuevos sustratos, eliminar la inhibición alostérica, entre otros.

El análisis de flujos metabólicos tiene como objetivo determinar la distribución y la magnitud de los flujos de materia y energía en la célula (Stephanopoulos *et al.*, 1999). Este tipo de estudios es posible debido a que se conoce prácticamente la totalidad de las reacciones químicas que constituyen el metabolismo de *E. coli*. Se sabe que en el metabolismo de esta bacteria participan aproximadamente 994 enzimas y 794 metabolitos. En esta red metabólica algunas reacciones siempre están activas y otras se inducen o reprimen dependiendo de las condiciones donde se encuentre la bacteria. La complejidad del metabolismo ha generado la necesidad del desarrollo de métodos de estudio especiales, basados en enfoques teóricos y experimentales. Uno de estos métodos es el diseño de modelos del metabolismo celular *in silico*, es decir, simulados en una computadora. En esta área se fusionan la informática y la bioquímica. Ahora es posible simular, mediante algoritmos implementados en programas de computadora, los flujos en las reacciones metabólicas de una bacteria. Así se pueden calcular los efectos sobre esta distribución de flujos por cambios en la composición de nutrientes, o la ausencia de una o varias enzimas. Este tipo de estudios ha sido muy valioso para ayudar a entender cuáles son los límites teóricos en la capacidad de producción de algunos metabolitos y cuáles son las distribuciones de flujos que permiten llegar a dicho resultado.

La determinación de flujos metabólicos en una célula viva es otra aproximación al estudio del metabolismo celular. Esta metodología se basa en la utilización de moléculas marcadas con isótopos. Esta metodología es muy podere-

rosa pues permite determinar la mayoría de los flujos metabólicos intracelulares. Sin embargo requiere de equipos costosos y cálculos muy complejos. La determinación de flujos metabólicos se basa en el uso de moléculas de azúcares en las cuales uno o varios de sus átomos de carbono son el isótopo ^{13}C . Los isótopos son átomos de un elemento que difieren en el número de neutrones en su núcleo. En el caso del carbono, el isótopo más abundante es el ^{12}C . Utilizando técnicas analíticas es posible determinar si una molécula contiene átomos del isótopo ^{12}C o ^{13}C . En este tipo de experimentos, generalmente se utiliza glucosa marcada. La glucosa es alimentada en un cultivo bacteriano y, como resultado del metabolismo, sus átomos de carbono terminan formando parte de la mayoría de los componentes celulares. Utilizando métodos analíticos, es posible determinar la posición de los átomos de ^{13}C en un gran número de moléculas en la célula. Con esta información y el conocimiento de la estequiometría en la red metabólica del organismo, es posible calcular los flujos internos en la célula (Flores *et al.*, 2002).

El objetivo del análisis de control metabólico (ACM) es definir la relación cuantitativa de una reacción enzimática sobre el flujo en una vía metabólica completa. Cuando se desea modificar el metabolismo de un microorganismo, una de las principales preguntas es: ¿cuál o cuáles de las actividades enzimáticas deberán ser modificadas para lograr un efecto específico? No es sencillo encontrar la respuesta a esta pregunta, principalmente debido a la gran complejidad del metabolismo celular. El ACM es la principal herramienta que permite identificar las enzimas clave dentro de vías metabólicas específicas. La relación entre una actividad enzimática y el flujo metabólico se expresa como un coeficiente de control de flujo (CCF). El CCF se define como el cambio en el flujo en una vía metabólica que resulta al incrementar la actividad de una enzima en particular. La determinación de los CCF para las enzimas dentro de una vía metabólica específica, permite establecer cuáles de ellas son las que limitan el flujo. Una vez que se identifican

las enzimas limitantes, mediante la aplicación de la ingeniería genética se puede incrementar el nivel de expresión de sus genes y por consecuencia la actividad específica.

Estrategias generales de ingeniería de vías metabólicas para incrementar la producción de un metabolito de interés

La aplicación más frecuente de la IVM es la modificación del metabolismo con el fin de generar cepas microbianas que puedan producir una cantidad elevada de un metabolito particular. Existen estrategias generales de IVM que se pueden aplicar con este fin, independientemente del metabolito que se desee producir:

- 1) Con base en el conocimiento bioquímico de la vía metabólica que sintetiza al compuesto de interés, identificar a las enzimas que son sujetas a control por inhibición alostérica, es decir, enzimas cuya actividad es inhibida por sus productos u otros metabolitos celulares. Estas son las enzimas clave que regulan el flujo de carbono hacia una vía específica.
- 2) Para incrementar el flujo de carbono hacia la vía biosintética de interés, identificar y eliminar los controles alostéricos y transcripcionales en las enzimas clave de esa vía y en los genes que las codifican.
- 3) Lograr un alto nivel de expresión de los genes que codifican para las enzimas clave a las que ya se les eliminó el control alostérico. Esto se logra insertando los genes de interés en moléculas de ADN llamadas plásmidos, los cuales se replican en forma independiente del cromosoma y se encuentran en varias copias dentro de la célula.
- 4) Identificar y eliminar posibles pasos limitantes dentro de la vía de interés.
- 5) Incrementar la disponibilidad metabólica de los intermediarios del metabolismo central que sean los precursores del metabolito que se desea producir.

Estos puntos representan la serie de análisis y modificaciones mínimas a realizar con el propósi-

to de generar una cepa de producción mediante la aplicación de la IVM. A continuación se presentarán ejemplos de cómo se aplican estas estrategias para el desarrollo de cepas de *E. coli* productoras de compuestos aromáticos y etanol.

Síntesis en *E. coli* de compuestos aromáticos con aplicación industrial mediante la introducción de genes heterólogos (caso melanina)

La vía de síntesis de compuestos aromáticos es una fuente de metabolitos esenciales, así como de un gran número de los llamados metabolitos secundarios en bacterias y plantas. Actualmente, la mayoría de los compuestos aromáticos utilizados en la industria química y de alimentos se obtienen por procesos de síntesis química, empleando derivados de petróleo como materia prima. Frecuentemente, este tipo de procesos genera subproductos que contaminan el medio ambiente. Utilizando la ingeniería genética de vías metabólicas y de proteínas, es posible desarrollar cepas bacterianas con el potencial para sintetizar moléculas útiles, hasta ahora sólo obtenidas mediante síntesis química. Estas cepas bacterianas utilizarán a la glucosa u otras fuentes renovables de carbono como materia prima en procesos biotecnológicos no contaminantes.

Las técnicas de ingeniería genética permiten el aislamiento de genes de cualquier organismo y su modificación para que sean funcionales en otra especie. Siguiendo este esquema, ha sido posible generar cepas de *E. coli* con la capacidad de sintetizar proteínas humanas de uso terapéutico. De la misma manera, se ha logrado la transferencia a *E. coli* de genes que codifican para enzimas y con esto modificar su metabolismo. Es así como se abre la posibilidad de dotar a esta bacteria con la capacidad de sintetizar metabolitos que se encontrarían normalmente fuera de su repertorio natural. En el caso de los compuestos aromáticos, existen ya varios ejemplos de cómo se pueden extender las vías biosintéticas naturales para que este microorganismo pueda sintetizar nuevos compuestos (figura 2).

Siguiendo esta estrategia, se han construido cepas de *E. coli* con la capacidad de producir directamente a partir de glucosa: ácido quínico, catecol, melanina e índigo. Algunas cepas modificadas pueden producir precursores, los cuales, mediante transformaciones químicas, dan lugar a los compuestos: hidroquinona, benzoquinona, ácido adípico, aspartamo, benzocaína, ácido gálico y pirogalol (LaDuca *et al.*, 1999). Varios de estos productos son sintetizados actualmente usando al petróleo como materia prima. Al contar ahora con cepas bacterianas capaces de producirlos a partir de glucosa, se abre la posibilidad de desarrollar tecnologías biológicas sustentables no contaminantes.

En bacterias como *E. coli*, el repertorio metabólico de compuestos derivados de la vía aromática es limitado. Sin embargo, si se considera la totalidad de los organismos que poseen esta vía, es posible observar la gran diversidad en compuestos que se derivan de la misma. Además del papel que estos compuestos juegan dentro del metabolismo primario del organismo, se han identificado funciones de protección contra competidores, patógenos o depredadores, así como una función estructural en plantas (lignina). Entre los compuestos aromáticos con un papel protector se encuentran las *melaninas*. Estos son pigmentos que se han identificado en organismos desde bacterias hasta el hombre. Existen varios tipos de melaninas, uno de ellos, las eumelaninas, provienen de la transformación de la tirosina por medio de la acción de la enzima tirosinasa (Cabrera-Valladares *et al.*, 2006). La eumelanina es un polímero aromático; una de sus principales características es el amplio rango de absorción dentro del espectro electromagnético. Durante los últimos años ha crecido el interés en este tipo de polímeros, debido a que se han identificado algunas propiedades fisicoquímicas importantes. Se sabe que la melanina puede actuar como fotoprotector, intercambiador catiónico, agente quelante, semiconductor amorfo, y posee actividades antioxidantes y antivirales.

Las melaninas se pueden obtener mediante extracción a partir de tejidos animales o a partir de cultivos de bacterias u hongos. También

se pueden obtener mediante síntesis química a partir de L-dihidroxifenilalanina (L-dopa) u otras moléculas químicamente similares. La extracción de melanina a partir de tejidos animales presenta el problema de un bajo rendimiento y, sobretodo, de variabilidad en la composición química del producto. En el caso de la extracción a partir de cultivos de cepas naturales productoras de melaninas, el problema principal es el bajo rendimiento. Finalmente, la producción de melaninas por medio de síntesis química es un proceso costoso debido al bajo rendimiento durante la síntesis de los precursores empleados.

Debido a las limitaciones de los métodos descritos anteriormente, existe el interés en el desarrollo de cepas microbianas modificadas que permitan la síntesis de melanina químicamente homogénea y con un nivel de producción elevado. Los procesos desarrollados a partir de estas nuevas cepas han tenido un éxito limitado debido a que estas cepas no han sido modificadas para sobreproducir compuestos aromáticos. Además, se han utilizado genes que codifican para tirosinasa provenientes de hongos, los cuales no se expresan adecuadamente en *E. coli*.

Tomando en cuenta estos antecedentes, se decidió trabajar en el desarrollo de cepas de *E. coli* con una alta capacidad de producción de melanina. Esta bacteria carece de la capacidad natural para sintetizar este polímero; sin embargo, existen otras bacterias que sí pueden hacerlo. Considerando lo anterior, se decidió utilizar las técnicas de ingeniería genética para transferir de alguna de estas bacterias a *E. coli* el gene que codifica para una tirosinasa. De las bacterias que se sabe pueden producir melanina, se eligió a *Rhizobium etli* como organismo donador del gene de la tirosinasa. *R. etli* es una bacteria del suelo que se asocia con las plantas de frijol para ayudarles a fijar nitrógeno y con esto mejorar su capacidad de crecimiento. Con base en la información sobre el genoma de esta bacteria, se diseñó una estrategia para aislar el gene *melA* que contiene la información para la síntesis de la enzima tirosinasa. El gene *melA* fue aislado e introducido a la bacteria *E. coli*. La

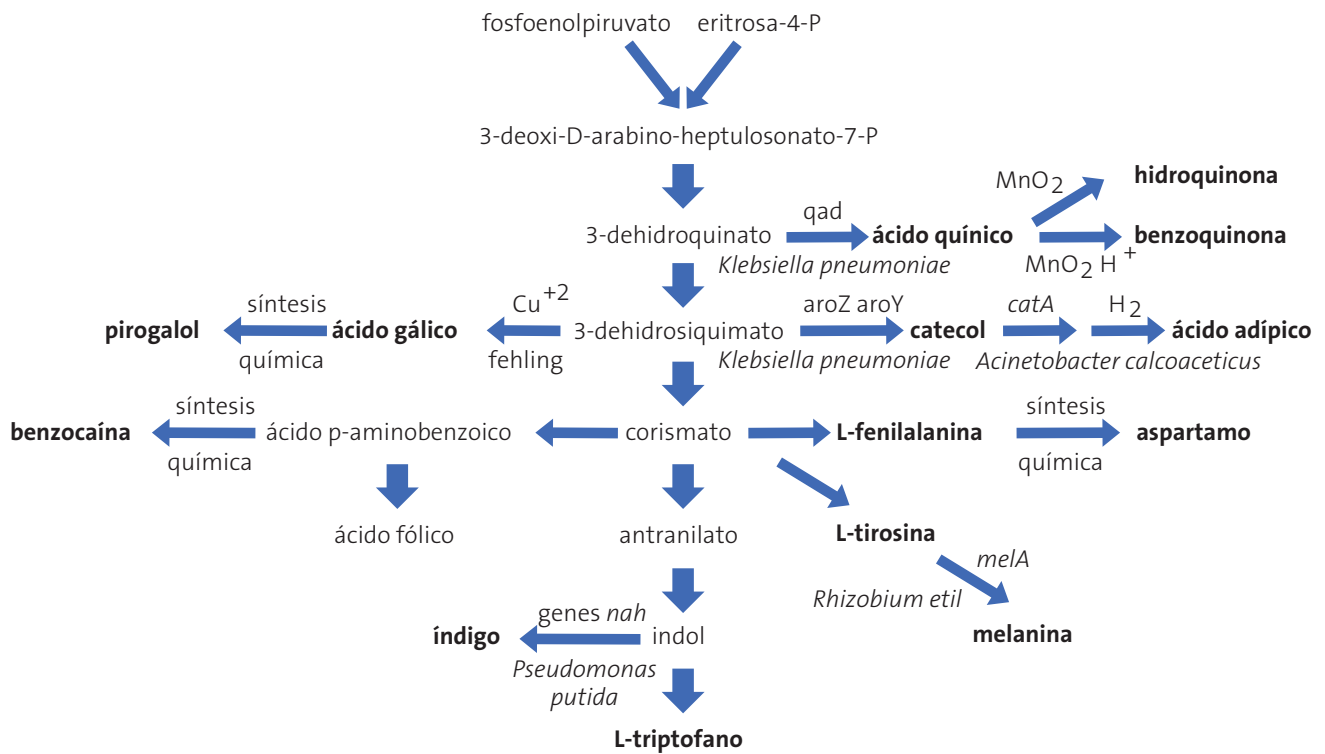


Figura 2. Compuestos aromáticos sintetizados por *Escherichia coli* mediante la introducción de genes de otras especies microbianas. El nombre de los genes introducidos y el organismo del que provienen están indicados en las flechas que dan lugar a cada compuesto.

expresión de este gene en la bacteria permitió la generación de una cepa recombinante de *E. coli* que adquirió la capacidad de sintetizar melanina a partir de tirosina (Cabrera-Valladares *et al.*, 2006) (figura 3). Con esta cepa recombinante de *E. coli* se desarrolló un proceso fermentativo con el cual se logró producir hasta 6 g/l de melanina en las escalas de 1, 10 y 100 litros (Lagunas-Muñoz *et al.*, 2006).

A la fecha, nuestro grupo de investigación continúa mejorando la producción de melanina a partir de células completas de *E. coli*. Sin duda uno de los principales retos es producir el pigmento a partir de fuentes de carbono de menor precio que la tirosina. Esto se puede lograr manipulando el metabolismo central del carbono, es decir, canalizando la glucosa hacia la formación de los precursores de los aminoácidos aromáticos (fosfoenol piruvato y eritrosa-4-fostato) y eliminando la regulación de la vía de producción de tirosina. En trabajos previos hemos utilizado estrategias similares para maximizar la producción de fenilalanina (Báez *et al.*, 2004). Sin embargo, acoplar la producción de melanina a la generación de tirosina requerirá de la aplicación de estrategias novedosas de la ingeniería de vías metabólicas para lograr un proceso de alto rendimiento. Aunado a esto, el desarrollo de estos catalizadores nos proveerá del conocimiento necesario para producir melaninas de diversos colores, que tienen diferentes propiedades y aplicaciones en campos tan diversos como el de salud, cosmetología, biológicos, de barnices y pinturas, de síntesis química y fabricación de polímeros conductores de electricidad, entre otros.

Síntesis en *E. coli* de compuestos de fermentación con aplicación industrial mediante la introducción de genes heterólogos (caso etanol carburante a partir de residuos agroindustriales)

El etanol anhidro o etanol carburante es un excelente combustible que, además, puede usarse como oxígeno de combustibles fósiles, o bien como sustituto de gasolina. Los combus-

tibles fósiles tienen una disponibilidad finita y, dado el extensivo uso que actualmente se hace de ellos, se agotarán en el presente siglo. El etanol carburante se produce mediante tecnologías biológicas a partir de material renovable, no es contaminante como el petróleo, su uso no incrementa la concentración neta de bióxido de carbono en la atmósfera. Por tanto, el uso del etanol carburante no propicia el incremento de temperatura ni el cambio climático en el planeta. Actualmente existen tecnologías consolidadas y bien desarrolladas para producir etanol carburante. Dichas tecnologías utilizan como fuente de carbono a la sacarosa proveniente de la caña de azúcar, en Brasil, y a la glucosa proveniente del almidón de maíz, en EE.UU. México no es autosuficiente en la producción de maíz, es más, se importan más de ocho millones de toneladas al año de este grano para satisfacer las necesidades directas de alimentación de la población, o indirectas a través de la engorda de ganado para consumo humano. Entonces esta materia prima no es viable para la producción de etanol carburante. Por otro lado, aún cuando México produce excedentes de sacarosa y los exporta, este azúcar proveniente de la caña de azúcar tampoco es una materia prima viable para producir etanol. Las razones no son tecnológicas sino económicas: tales excedentes no satisfacen los altos volúmenes requeridos para que el etanol sea empleado como energético, el costo del etanol de sacarosa nacional (la más costosa del mundo) es mayor comparado con el de la gasolina (Martínez *et al.*, 2006).

Por su abundancia y capacidad de renovación sustentable, las materias primas más viables para la producción de biocombustibles resultan ser los azúcares presentes en los residuos agroindustriales (la lignocelulosa o biomasa), siendo su bajo o nulo costo otro factor que favorece su uso. Los residuos de la industria azucarera, y potencialmente cualquier residuo agroindustrial, son sustratos más económicos, pero más complejos que la glucosa y la sacarosa, y pueden ser convertidos en productos útiles mediante procesos de fermenta-



Figura 3.
Lado izquierdo de la caja: cepa de *E. coli silvestre* (no productora de melanina). Lado derecho: cepa de *E. coli* modificada por técnicas de ingeniería metabólica para producir melanina.

ción. En promedio el bagazo de caña de azúcar mexicano contiene 42% de celulosa y 28% de hemicelulosa. Ésta última está compuesta de polímeros de xilosa, ácido urónico, radicales acetilo, arabinosa y manosa. Técnica y económicamente es recomendable llevar a cabo una hidrólisis química de la fracción hemicelulósica, generando jarabes que contienen xilosa, arabinosa y glucosa, en una relación 80, 5 y 15% y una hidrólisis enzimática de la fracción celulósica (Ingram *et al.*, 1999 y Martínez *et al.*, 2000), para generar glucosa y celobiosa. La mayoría de los microorganismos en la naturaleza utilizan glucosa para llevar a cabo sus actividades metabólicas. No obstante, la variedad de microorganismos que metabolizan pentosas y otras hexosas, diferentes a la glucosa, es restringida; más aún, no existen microorganismos silvestres capaces de metabolizar eficientemente xilosa o arabinosa o mezclas de glucosa-xilosa o glucosa-celobiosa en productos de fermentación. Los microorganismos más eficientes en la producción de etanol, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la bacteria *Zymomonas mobilis*, únicamente pueden usar glucosa, sacarosa y fructosa para producir etanol, pero no tienen la capacidad de metabolizar xilosa, arabinosa y celobiosa, o mezclas de ellas. Mediante el uso de la IVM se pueden diseñar y desarrollar cepas de bacterias y levaduras con el propósito de metabolizar y canalizar el flujo de esqueletos de carbono hacia la formación de etanol a partir de pentosas como xilosa y arabinosa. Desde el punto de vista técnico e industrial, las cepas más exitosas han sido las construidas por IVM a partir de *E. coli* mediante la introducción de vías foráneas para producir etanol (Ingram *et al.*, 1999). Entre las estrategias utilizadas están: la integración a cromosoma de los genes que codifican para la piruvato descarboxilasa (*pdC*) y alcohol deshidrogenasa (*adh*) de *Zymomonas mobilis*, la interrupción de vías que compiten con el piruvato por la producción de etanol (Ingram *et al.*, 1999) y la construcción de cepas que eliminen el fenómeno de represión catabólica y puedan metabolizar pentosas y hexo-

sas simultáneamente. La **figura 4** muestra el esquema metabólico ideal para la producción de etanol a partir de glucosa y xilosa en cepas etanológicas de *E. coli*.

Una de los microorganismos más exitosos que pretende ser utilizado a escala industrial para producir etanol a partir de hidrolizados de residuos agroindustriales es la cepa *E. coli* KO11. Esta cepa es capaz de convertir todos los azúcares presentes en los hidrolizados del bagazo de caña de azúcar en etanol con rendimientos mayores a 90% del teórico, con concentraciones de etanol de 45 g/L. Sorprendentemente, esta cepa en cultivos anaerobios con glucosa o xilosa incrementa sustancialmente su velocidad específica de crecimiento, el flujo glicolítico y de consumo de azúcares (Huerta-Beristáin *et al.*, 2005). Actualmente varios grupos en el mundo, incluyendo el nuestro de ingeniería metabólica en el Instituto de Biotecnología de la UNAM, estamos tratando de mejorar cepas como la descrita anteriormente. Los principales objetivos son obtener mayores concentraciones de etanol en menor tiempo, realizar la hidrólisis de la fracción celulósica del bagazo de caña en el mismo reactor para que fermenten al mismo tiempo tanto las pentosas y hexosas, provenientes de la fracción hemicelulósica, como la glucosa, obtenida de la hidrólisis de la celulosa. Para lograr estos objetivos se requiere de una coordinación y colaboración estrecha entre actores del ámbito tecnológico y científico, que definan los requerimientos de un proceso industrial de ingeniería de vías metabólicas que permita mejorar los biocatalizadores productores de etanol a partir de residuos agroindustriales. ●

Agradecimientos

Se reconoce el apoyo del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, UNAM, proyectos: IN220403 e IN205005; y del Conacyt, proyectos: Conacyt-Sagarpa 2004-C01-224 y Conacyt-Estado de Morelos MOR-2004-C02-048.

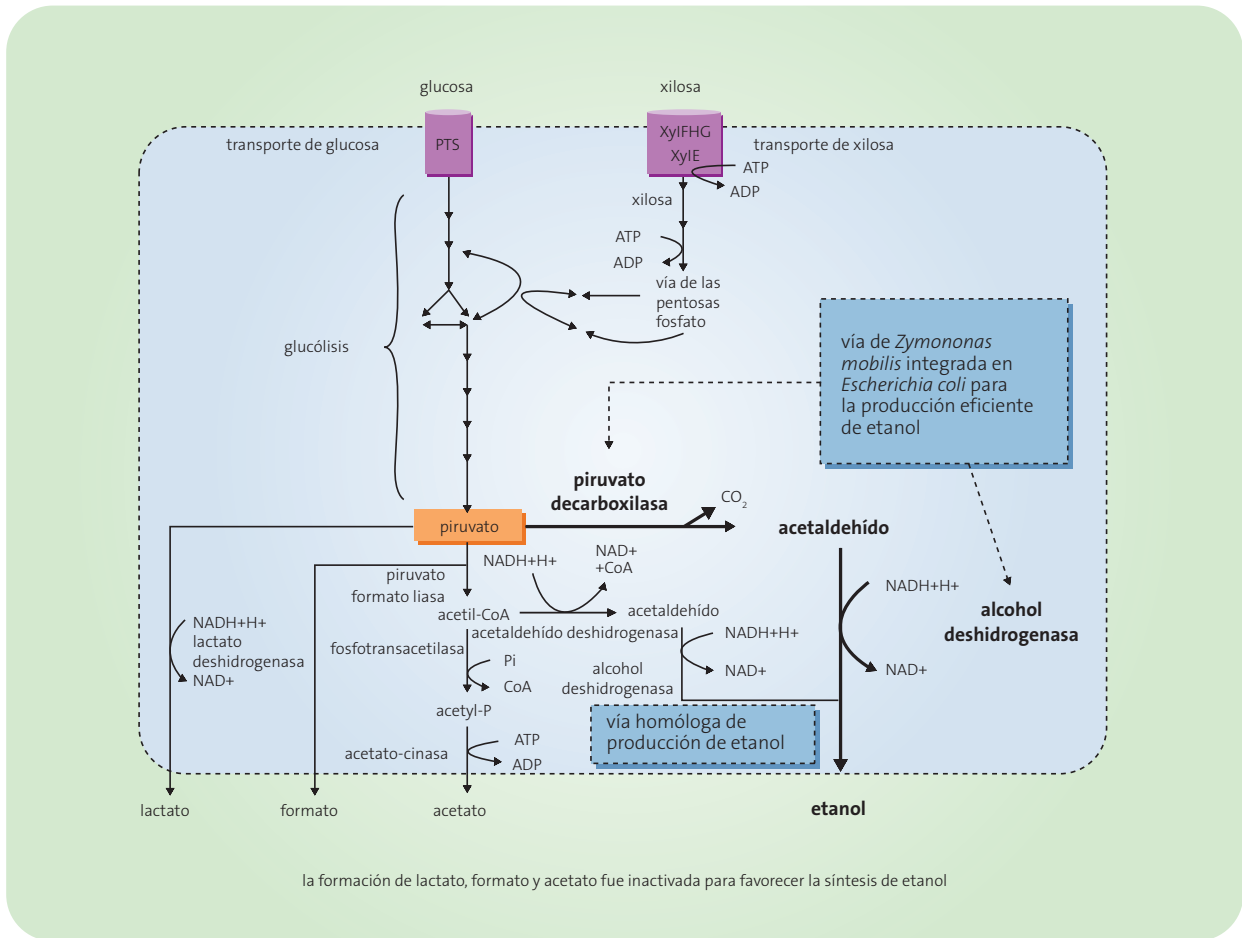


Figura 4. Esquema metabólico ideal para la producción de etanol a partir de glucosa y xilosa en cepas etanológicas de *E. coli*.

Bibliografía

- Báez, J. L. *et al.*, "Metabolic engineering and protein directed evolution increase the yield of L-phenylalanine synthesized from glucose in *Escherichia coli*", en *Biotechnol. and Bioeng.*, 87, 2004.
- Cabrera-Valladares, N. *et al.*, "Expression of the *melA* gene from *Rhizobium etli* CFN42 in *Escherichia coli* and characterization of the encoded tyrosinase", en *Enzyme Microb. Technol.*, 38, 2006.
- Flores, S. *et al.*, "Analysis of carbon metabolism in *Escherichia coli* strains with an inactive phosphotransferase system by ^{13}C labeling and NMR spectroscopy", en *Metab. Eng.*, 4, 2002.
- Huerta-Beristáin, G. *et al.*, "Ingeniería metabólica para incrementar el flux y rendimiento de etanol en *Escherichia coli* etanologénica", en *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, vol. 4, 2005.
- Ingram, L. O. *et al.*, "Enteric bacterial catalyst for fuel ethanol production", en *Biotechnology Progress*, 15, 1999.
- LaDuca, R. J. *et al.*, "Metabolic pathway engineering of aromatic compounds", en Davies y Demain (eds.), *Manual of industrial microbiology and biotechnology*, Washington, American Society for Microbiology, 1999.
- Lagunas-Muñoz, V. H. *et al.*, "Optimum melanin production using recombinant *Escherichia coli*", en *J. Appl. Microbiol.*, 101, 2006.
- Martínez, A. *et al.*, "¿Etanol carburante a partir de bagazo de caña?", en *Claridades Agropecuarias*, 2006.
- Olmos, J. *et al.*, "Production in *Escherichia coli* of a rat chimeric proinsulin polypeptide carrying human A and B chains and its preparative chromatography", en *J. Biotechnol.*, 38, 1994.
- Stephanopoulos, G., "Metabolic fluxes and metabolic engineering", en *Metabolic Engineering*, 1, 1999.