



## Ingeniería de vías metabólicas: rediseñando bacterias para convertirlas en biofábricas productoras de compuestos de interés

Rubén Mendoza Flores, Francisco Bolívar y Adelfo Escalante

---

*Rubén Mendoza Flores es Maestro en Ciencias Bioquímicas, egresado del Instituto de Biotecnología-UNAM; Los Dres. F. Bolívar y A. Escalante, son investigadores titulares del Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis del IBt-UNAM, ubicados en Cuernavaca, Morelos, México*

**Contacto:** [adelfo.escalante@ibt.unam.mx](mailto:adelfo.escalante@ibt.unam.mx); [ruben.mendoza@ibt.unam.mx](mailto:ruben.mendoza@ibt.unam.mx)

---

### Los microorganismos como *biofábricas*

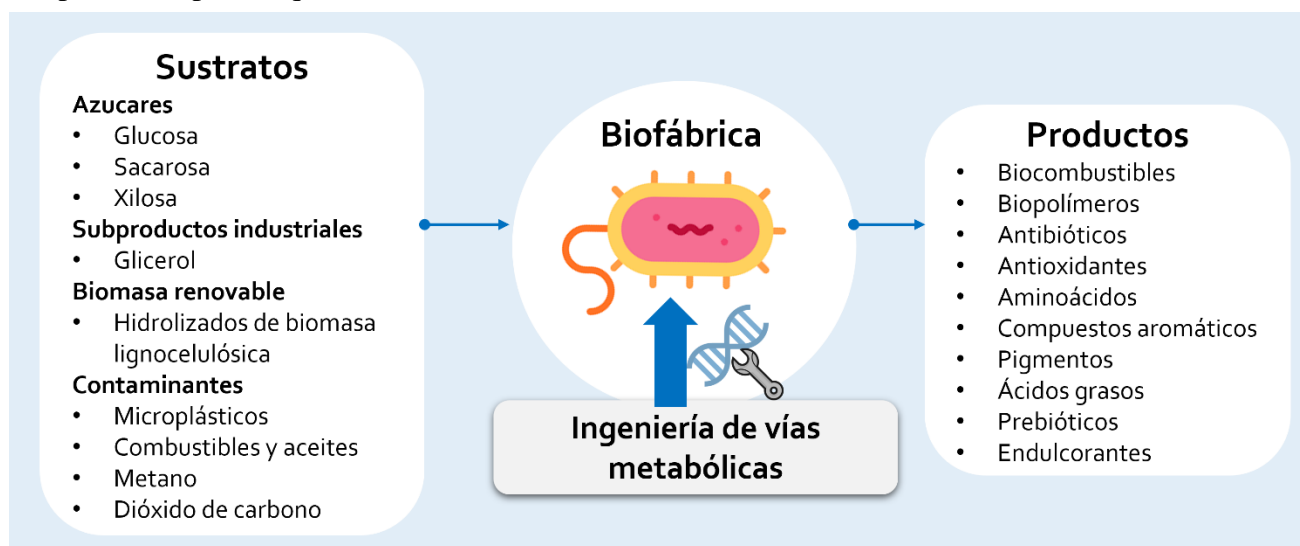
Utilizando las técnicas de la biotecnología moderna es posible modificar los flujos del metabolismo de los microbios y transformarlos en ‘biofábricas’ productoras de compuestos químicos diversos, para la síntesis directa o indirecta de fármacos, polímeros y biocombustibles [Fig. 1].

Este tipo de aplicaciones forma parte de la llamada “Ingeniería de vías metabólicas” (IVM), derivada de varias áreas del conocimiento (microbiología, bioquímica, genética) la cual se ha perfilado como una de las tecnologías emergentes con mayor potencial de sustentabilidad [1].

Al igual que nuestro organismo, muchos microbios transforman los nutrientes presentes en su medio ambiente en energía y en componentes estructurales de sus células, mediante variadísimas reacciones bioquímicas secuenciales, alternativas y localizadas llamadas vías (o rutas) metabólicas. Muchos compuestos intermedios y productos metabólicos terminales poseen interés industrial, médico o agrícola; sin embargo, naturalmente son producidos en cantidades extremadamente bajas para ser aprovechados de forma masiva.

De las ciencias bioquímicas sabemos que las vías metabólicas están impulsadas, interconectadas y reguladas por proteínas con actividad catalítica que llamamos enzimas, —a veces muy distintas y otras veces con similitudes sugestivas— y cuyos nombres están relacionados con el tipo de compuesto que utilizan como sustrato

o al producto de la reacción (aunque muchas son reversibles); algunas pueden actuar en una o varias vías metabólicas. Como todas las enzimas derivan de información genética en donde están codificadas, mediante técnicas de modificación genética y de cultivo experimental, podemos controlar la ‘expresión’ (síntesis, concentración, actividad) de las enzimas, así como de otros mecanismos de regulación, para reestructurar los flujos metabólicos de los microorganismos de interés y así mejorar sus capacidades de producción. Partiendo de pruebas de concepto exitosas, podemos escalar posteriormente el proceso y cultivarlos en grandes tanques llamados biorreactores para fabricar, biotecnológicamente, los compuestos de interés en cantidades aprovechables.



**Figura 1.** La ingeniería de vías metabólica permite modificar el metabolismo de diversas bacterias y levaduras y utilizarlas como biofábricas para transformar varios sustratos (Izq.), y obtener cantidades o proporciones significativas de productos relevantes (Der.).

## Pasos y consideraciones para desarrollar una biofábrica

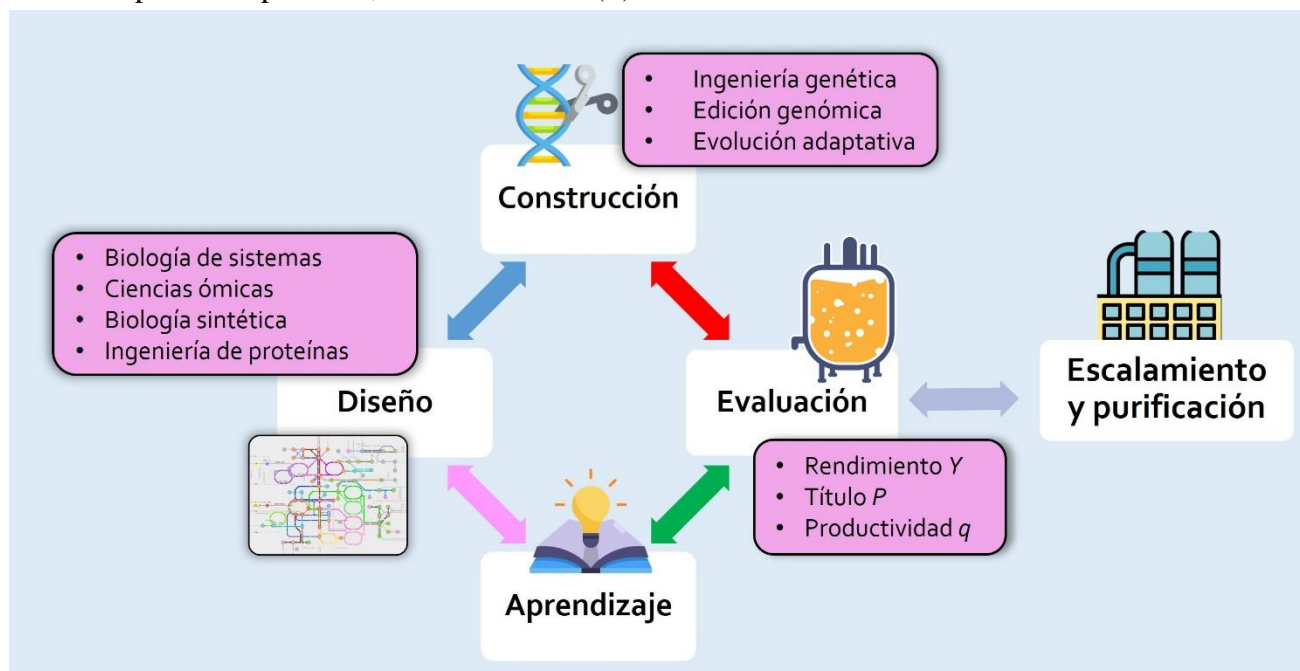
La estrategia para el desarrollo de las biofábricas mediante IVM (que parece muy directa), puede demandar de cientos de personas, gran cantidad

de tiempo (6 a 8 años) y la inversión de recursos económicos importantes (hasta 50 millones de dólares) [2].

La producción de algunos compuestos particulares (ácidos orgánicos, antibióticos, precursores de bioplásticos, gomas, etc.), requiere de procedimientos iterativos y retroalimentados; es decir, se van realizando modificaciones genéticas en cepas, variantes o mutantes de los microorganismos, mediante experimentos paralelos, para ir evaluando los cambios fisiológicos (consumo de nutrientes, crecimiento, diferenciación) y, asimismo su capacidad (gradual y final) de producción.

El proceso es repetido y optimizado hasta alcanzar los niveles de producción y recuperación deseados [Fig. 2]. En resumen, para evaluar el desempeño de una biofábrica son importantes tres parámetros que considerar: el título ( $P$ ) expresado como gramos o moles —como medida de concentración molecular en soluciones acuosas— de producto por litro; el rendimiento ( $Y$ )

que es a la cantidad de producto obtenido por cada gramo o mol del sustrato, y la productividad ( $q$ ) se refiere a la ‘rapidez’ con la que se produce el metabolito en una hora en un litro del cultivo. Con respecto al escalamiento, se toma en cuenta que los microorganismos deben más adelante, ‘resistir’ las condiciones industriales de fermentación (tipo de mezclado, variaciones de temperatura, pH y presión de gases, presencia de compuestos tóxicos), capacidades para los que también se recurre a mejoras por ingeniería genética. Actualmente, los modelos microbianos más utilizados industrialmente son diversas cepas de *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Corynebacterium glutamicum* (bacterias) y *Saccharomyces cerevisiae* (levadura), que cumplen estas características.



**Figura 2.** La Ingeniería de Vías Metabólicas (IVM) es un ciclo de investigación experimental e innovación tecnológica, realizado de forma colectiva, con retroalimentación e iterativo, que se desarrolla hasta alcanzar las capacidades de producción deseadas. Esto permite entre otras cosas, la realización de tesis de grado/ posgrado, la publicación de artículos científicos y/o solicitudes para la protección de derechos de propiedad intelectual.

Por el lado de la viabilidad económica es importante que los sustratos a usar —que son fuente de los elementos o compuestos básicos— deben ser baratos, seguros y accesibles; por ejemplo: glucosa y otros azúcares comunes, subproductos industriales como el glicerol y la biomasa renovable (ver *Biotecmov* Núm. 27 y Art#5 en este número). En términos generales, la IVM se ha ido complementando con otras disciplinas como la ingeniería de proteínas, bioinformática y técnicas de edición genómica (como CRISPR-Cas),

que a su vez se nutren del enfoque de las ómicas (genómica, transcriptómica, metabolómica y fluxómica y otras más), que han permitido analizar y modificar al metabolismo celular de una forma integral. Se parte también de que estos procesos (síntesis, degradación y los distintos niveles de regulación genética y metabólica) son considerados un sistema complejo que puede ser modelado matemáticamente, para plantear estrategias de modificación genética o de cultivo [Fig. 2].

### El caso de la producción del ácido shikímico

El ácido shikímico (SHK), es un intermediario de la vía de síntesis de los compuestos aromáticos (que contienen grupos fenilos, bencilos, indoles y otros). Su producción como intermediario ha ganado interés científico e industrial en las últimas décadas ya que sus grupos reactivos lo convierten en un compuesto muy versátil, haciendo de esta molécula un excelente precursor de nuevos compuestos bioactivos. Tal es el caso del fármaco Oseltamivir, el compuesto anti-influenza más utilizado actualmente y

comercializado por la empresa Hoffmann-La Roche como *Tamiflu*® [3]. La empresa obtiene el SHK por extracción de la “planta anís estrella chino” y también, a partir de cepas propietarias de *E. coli* desarrolladas por IVM; sin embargo, su capacidad de producción es limitada y puede ser insuficiente ante un posible escenario viral pandémico —como lo hemos visto— por lo que los investigadores alrededor del mundo se encuentran desarrollando nuevas estrategias para su producción por IVM [3].

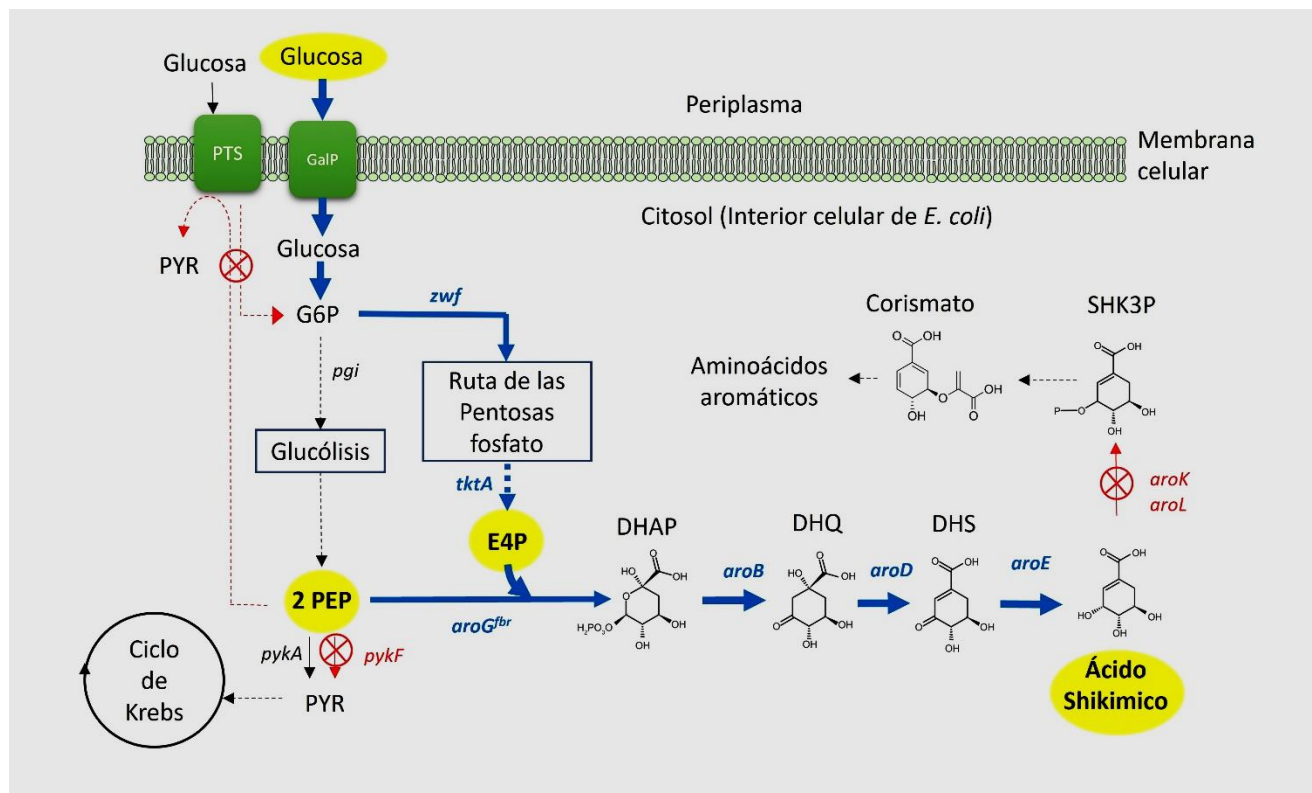
### Conceptos de evolución útiles para el desarrollo de la IVM

En nuestro grupo de investigación del IBt, dirigido por los Dres. Francisco Bolívar y Adelfo Escalante y en parte de mi proyecto de posgrado, se han desarrollado cepas de *E. coli* productoras de compuestos aromáticos, de entre las que destaca una cepa sobreproductora de SHK denominada AR36. La historia, va más o menos así: para consumir glucosa (Glu), fuente de carbono que será transformada a SHK por una vía fermentativa, *E. coli* usa como ‘entrada’ a un complejo de proteínas transportadoras de la glucosa o ‘sistema de fosfotransferasa’ (PTS) anclado en la membrana; este sistema utiliza

normalmente una de las dos moléculas de fosfo-enol-piruvato (PEP) que resultan de la degradación de cada molécula de Glu más adelante de la vía. El sistema PTS específico para glucosa es el más importante transportador de este azúcar en *E. coli*. Para la síntesis del SHK también se requiere una molécula de PEP, por lo que la posibilidad de que la bacteria pueda usar las dos moléculas de PEP para incrementar la síntesis de SHK, ha impulsado a diferentes grupos de investigación en el mundo (incluyendo el nuestro) a ‘evitar’ el sistema de PTS como entrada específica para glucosa [Fig. 3].

Bajo condiciones de cultivo, las bacterias son capaces de duplicarse rápidamente (en horas) y por tanto pueden sufrir mutaciones (al azar) que permiten someterlas a una ‘presión de selección’ dentro de biorreactores experimentales y obtener cepas ‘evolucionadas’ —con las características buscadas— en tiempos relativamente cortos. Este es el proceso que denominamos ‘Evolución Adaptativa en Laboratorio’ (ALE, por sus siglas

en inglés; ver adelante). De acuerdo con esta estrategia y para obtener una cepa que pueda utilizar teóricamente dos moléculas de PEP para la síntesis de SHK, se realizó un procedimiento que inactivó el PTS de una cepa silvestre de *E. coli*. Este bloqueo al principal sistema de transporte de glucosa, resultó en una disminución de hasta el 75% en su tasa de crecimiento.



**Figura 3.** Esquema simplificado del metabolismo de la cepa AR36 productora de ácido shikímico (SHK). La estrategia consistió en realizar modificaciones genéticas para aumentar la disponibilidad de precursores bioquímicos como la E4P y el PEP, para canalizarlos hacia la ruta del SHK. Los nombres de genes de las enzimas *sobre-expresadas* se muestran en azul; los indicados en rojo fueron inactivados con técnicas de Ingeniería Genética y las líneas punteadas representan múltiples reacciones enzimáticas. Abreviaturas: G6P: glucosa-6-fosfato; PEP: fosfo-enol-piruvato; PYR: piruvato; E4P: eritrosa-4-fosfato; DHQ: des-hidro-quinato; DHQ: des-hidro-shikimato; SHK3: shikimato-3-fosfato; DHAP: 3-deoxi-D-arabino-heptuloso-7-fosfato.

Entonces, para obtener una *E. coli* que utilice las dos moléculas de PEP para la síntesis de SHK, pero que mejore su capacidad de crecimiento, esta cepa fue sometida a un proceso de ALE bajo

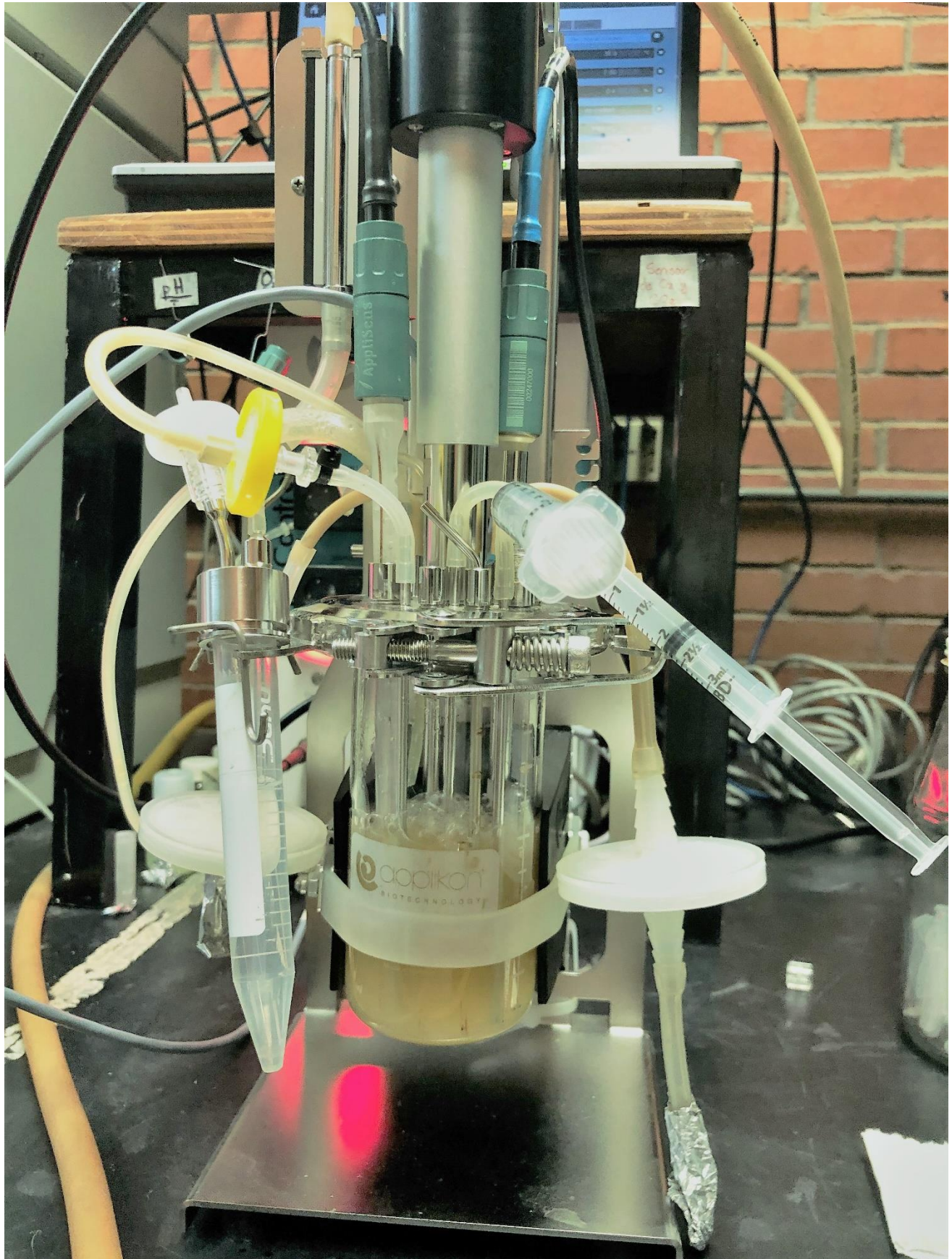
condiciones de ‘cultivo continuo’ conocido como *quimiostato*, donde el flujo del medio de cultivo se ingresa y sale del biorreactor a volumen constante. Después de varias horas, la ‘presión’ de

este sistema sobre la población de células en cultivo, selecciona favorablemente a mutantes que recuperan tasas de división y/o crecimiento más altas; es decir, los microorganismos que han crecido lentamente han sido expulsadas del biorreactor antes de dividirse mientras que las que crecen más rápido prevalecen dentro. De este modo, se aisló una mutante llamada PB12 que recuperó parcialmente su capacidad de consumo de glucosa y de crecimiento. Los estudios que realizamos sobre los genes expresados nos indicaron que esta cepa variante inicia el consumo de Glu con otro sistema transportador conocido como GalP en sustitución al PTS [Fig. 3].

Además, se realizaron modificaciones genéticas adicionales para enriquecer la disponibilidad de otros precursores como la eritrosa-4-fosfato (E4P) y el PEP, que le brindan capacidad a la cepa PB12 de canalizarlos a la vía de síntesis del SHK, en paralelo a la optimización de las condiciones de cultivo. De esta forma se obtuvo la cepa AR36, la cual demostró tener títulos de SHK de hasta 43 gramos por litro (gr/Lt) en cultivos a escala laboratorio; su rendimiento ha sido de 42 gr de SHK por cada 100 de Glu [Fig. 3]. Finalmente, bajo otras condiciones de cultivo llamadas de 'lote alimentado' (*batch-fed*), se obtuvieron hasta 60 gr SHK por litro, con una productividad de 2.45 gr/hr·Lt, siendo la segunda cepa de *E. coli* con el mayor nivel de producción de SHK reportada en la literatura científica [4]. Este resultado

es una de nuestras principales contribuciones académicas, ya que aparte de estimular la innovación tecnológica con el proyecto, este conocimiento que también ha sido aprovechado globalmente por diversos grupos de investigación y desarrollo para la obtención de cepas productoras de compuestos aromáticos [4].





## Nuevos compuestos y retos

En nuestro grupo de trabajo se continúa trabajando en el desarrollo de biofábricas productoras de SHK y otros compuestos aromáticos como las fenazinas, que tienen propiedades de antibióticos y antioxidantes, y en la biosíntesis de ácido amino-shikímico, un análogo del SHK que

permite obtener al *Tamiflu*® en un menor número de pasos [3]. También se continúan estudiando otros los cambios genómicos, fisiológicos y metabólicos que ocurren durante la ALE de las cepas que se afectaron en el sistema PTS.

## Referencias

1. Jens Nielsen & Jay D. Keasling (2016). Engineering Cellular Metabolism. *Cell*. **164**(6): 1185-1197. DOI: [10.1016/j.cell.2016.02.004](https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.02.004)
2. Sang Yup Lee (2016) Systems Metabolic Engineering Turns Microbes into Factories. *Sci Amer*. Disponible en <https://www.scientificamerican.com/article/systems-metabolic-engineering-turns-microbes-into-factories/>
3. Adelfo Escalante, Rubén Mendoza-Flores, Guillermo Gosset, Francisco Bolívar (2021). The aminoshikimic acid pathway in bacteria as source of precursors for the synthesis of antibacterial and antiviral compounds, *J Indust Microbiol Biotech* **48**: (9-10) DOI: [10.1093/jimb/kuab053](https://doi.org/10.1093/jimb/kuab053)
4. Martínez J, Rodríguez A, Moreno F, et al. (2018). Metabolic modeling and response surface analysis of an *Escherichia coli* strain engineered for shikimic acid production. *BMC Syst Biol* **12** (102). DOI: [10.1186/s12918-018-0632-4](https://doi.org/10.1186/s12918-018-0632-4)





---

## Presentación editorial

Los problemas tecnológicos se resuelven a través de métodos y dispositivos que hacen posible determinar factores o procesos para transformar u obtener algo. La ingeniería prosigue averiguando e incorporando otras variables o condiciones, para que pueda convertirse en una aplicación viable desde varias perspectivas, como la económica, ambiental e incluso sociocultural. Hay casos emblemáticos como los antibióticos, los bioinoculantes o los probióticos que son hace ya tiempo, parte de nuestra realidad comercial.

A través de los artículos de este número veremos trayectorias de ideas que iniciaron con técnicas experimentales minuciosas (crecimiento bacteriano en biorreactores, bioensayos de letalidad, transfección celular, biosíntesis enzimática y otras), buscando, con visión ingenieril, como mejorar eficiencias y rendimientos, acoplar procesos, ampliar aplicaciones, bajar costos, etc.

Primeramente, veremos un caso concreto en el que, a través de la Ingeniería de Vías Metabólicas (IVM) en bacterias como la famosa *E. coli*, pueden obtenerse cantidades significativas de biomoléculas para las distintas industrias. Asimismo, los bioinsecticidas que producen otro tipo de bacterias ya han llegado eficientemente al mercado a través de formulaciones granuladas, o bien 'integradas' a la materia viva de los cultivos a quienes protegen (*Bt-crops*). Por otro lado, sistemas de expresión de genes en células animales en cultivo, permiten cambiar sus caminos, o 'programas' de diferenciación, dando información básica y claves para varias aplicaciones terapéuticas. En el caso de los componentes que se pueden formar a partir de cadenas largas de polisacáridos de fructosa, también hay aplicaciones farmacéuticas, así como soluciones para la nutrición, cosméticas e industriales. Justamente, aplicaciones relacionadas —se reseñan 4 de ellas— han logrado desarrollar productos específicos que están ahora protegidos por patentes hacia una eventual explotación comercial. Mas adelante veremos que colegas en nuestro país, trabajando en áreas tan importantes como la biorremediación y la generación de energías limpias, son capaces de montar y ensayar dispositivos para hacer ambas cosas.

Estos contenidos apuntan a valorar mejor la sinergia imprescindible de ambas perspectivas, la científica y de ingeniería, de ida y vuelta, para que interactuando con los otros campos de incumbencia humana, sigamos impulsando una revolución biotecnológica que nos alinee a los Objetivos del Desarrollo Sustentable de la ONU.

En esta nueva etapa de acceso a la revista, esperamos tus comentarios en  
**biotecmov@ibt.unam.nmx**

---

## DIRECTORIO

### UNAM

#### RECTOR

Dr. Enrique Luis Graue Wiechers

#### SECRETARIO GENERAL

Dr. Leonardo Lomelí Vanegas

#### SECRETARIO ADMINISTRATIVO

Dr. Luis Álvarez Icaza Longoria

#### SECRETARIA DE DESARROLLO INSTITUCIONAL

Dra. Patricia Dolores Dávila Aranda

#### SECRETARIO DE PREVENCIÓN, ATENCIÓN

Y SEGURIDAD UNIVERSITARIA

Lic. Raúl Arcenio Aguilar Tamayo

#### OFICINA DE LA ABOGACÍA GENERAL

Dr. Alfredo Sánchez Castañeda

#### COORDINADOR DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

Dr. William Henry Lee Alardín

#### DIRECTOR GENERAL DE COMUNICACIÓN SOCIAL

Lic. Néstor Martínez Cristo

### IBt

#### DIRECTORA

Dra. Laura Alicia Palomares Aguilera

#### SECRETARIO ACADÉMICO

Dr. Alfredo Martínez Jiménez

#### SECRETARIA DE VINCULACIÓN

Dra. Brenda Valderama Blanco

#### SECRETARIO ADMINISTRATIVO

C.P. Francisco Arcos Millán

#### COORDINADORA GENERAL DE DOCENCIA

Dra. Marcela Ayala Aceves

#### COORDINADOR DE INFRAESTRUCTURA

Dr. Gerardo Corzo Burguete

#### COORDINADOR DE ANÁLISIS NORMATIVO

Lic. Christian Rodríguez Caro

#### JEFES DE DEPARTAMENTO

##### BIOLOGÍA MOLECULAR DE PLANTAS

Dr. José Luis Reyes Taboada

##### GENÉTICA DEL DESARROLLO Y FISIOLÓGIA MOLECULAR

Dra. Hilda Ma. Lomelí Buyoli

##### INGENIERÍA CELULAR Y BIOCÁTALISIS

Dr. Guillermo Gosset Lagarda

##### MEDICINA MOLECULAR Y BIOPROCESOS

Dra. Leonor Pérez Martínez

##### MICROBIOLOGÍA MOLECULAR

Dr. Enrique Merino Pérez

#### EDITOR

Dr. Enrique Galindo Fentanes

enrique.galindo@ibt.unam.mx

#### EDITOR EJECUTIVO

Dr. Jaime Padilla Acero

jaime.padilla@ibt.unam.mx

#### COMITÉ EDITORIAL

Dr. Edmundo Calva Mercado

Dra. Claudia Díaz Camino

Dr. Ricardo Grande Cano

Dr. Carlos Peña Malacara

M.C. Blanca Ramos Cerrillo

Dr. Enrique Reynaud Garza

Dr. Paul Rosas Santiago

Biotecnología en Movimiento Año 7, No. 28. Publicación trimestral, editada por la Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 3000, Col. Universidad Nacional Autónoma de México, C.U. Alcaldía Coyoacán C.P. 04510, a través del Instituto de Biotecnología, Av. Universidad 2001, Col. Chamilpa, C.P. 62210, Cuernavaca, Mor., Tel. 329 16 71, correo electrónico [biotecmov@ibt.unam.mx](mailto:biotecmov@ibt.unam.mx). Editores responsables Enrique Galindo y Jaime Padilla. Reserva de derechos al uso exclusivo 04-2015-060211444700-102 otorgada por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. ISSN en trámite. Responsable de la última actualización M.C. Walter Santos. Publicado como PDF el 17 de junio del 2022. Disponible en [biotecmov.ibt.unam.mx](http://biotecmov.ibt.unam.mx)

#### FOTOGRAFÍA

Colaboración especial del Sistema de Archivos Compartidos UAEM-3Ríos (Adalberto Ríos Szalay, Ernesto y Adalberto Ríos Lanz).

Correspondencia: [biotecmov@ibt.unam.mx](mailto:biotecmov@ibt.unam.mx)

#### DISEÑO EDITORIAL E ILUSTRACIÓN

letrasDC.com  
[letras@letrasdc.com](mailto:letras@letrasdc.com)

NÚMERO 29

ABRIL-MAYO-JUNIO DE 2022

ISSN en trámite

# Biotecnología en MOVIMIENTO

REVISTA DE DIVULGACIÓN DEL INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA DE LA UNAM



## Presentación editorial

A



## GENERANDO CONOCIMIENTO EN EL IBt

### Ingeniería de vías metabólicas: rediseñando bacterias para convertir las en biofábricas productoras de compuestos de interés

29.1

Por Rubén Mendoza Flores, Francisco Bolívar y Adelfo Escalante

### La bacteria *Bacillus thuringiensis* como bioinsecticida en la agricultura actual

29.2

Por Isabel Gómez y Sabino Pacheco

### Ingeniería celular mediante reprogramación de circuitos de regulación génica

29.3

Por Luis Fernando Covarrubias Robles, Concepción Valenia García, Sinaid Martínez Pérez, Lían Mishel Sánchez Cázares y Celina García Meléndrez

### Dispositivos a nanoescala: una aproximación práctica a las nanopartículas a base de polisacáridos de fructosa

29.4

Gerardo Ortiz Vargas, Salvador Guillén Tinoco y Clarita Olvera Carranza



## PROPIEDAD INTELECTUAL, TECNOLOGÍA Y EMPRESA

### Cuatro patentes concedidas al IBt en 2021: innovaciones potenciales para la bioindustria química, médica y agroalimentaria

29.5

Por Mario Trejo Loyo y Martín Patiño Vera

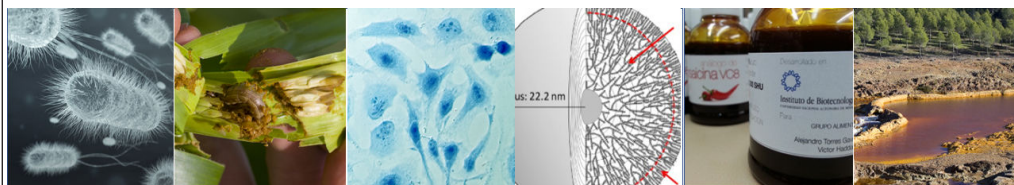


## VIAJES BIOTECNOLÓGICOS

### ¿Es posible generar bioelectricidad procesando drenaje ácido de minas y aguas negras?

29.6

Por Jazmin Alaide López Díaz, Mariana Martínez Castrejón y Giovanni Hernández Flores



# Biotecnología en MOVIMIENTO

REVISTA DE DIVULGACIÓN DEL INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA DE LA UNAM

Disponible en  
biotecmov.ibt.unam.mx



## Ingeniería de vías metabólicas en bacterias

Abatiendo la contaminación y generando electricidad con biotecnología

Patentes otorgadas al IBt en 2021

El amplio uso de bioinsecticidas *Bt* contra plagas agrícolas

Reprogramando la diferenciación celular

Nanoestructuras con fructanos: síntesis y usos



Instituto de Biotecnología



Aniversario