



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS

**ESTRATEGIAS GENÉTICAS PARA LA PRODUCCIÓN
COMPETITIVA DE ÁCIDO LIPOICO EN LA LEVADURA
METILOTRÓFICA *Pichia pastoris***

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS

PRESENTA:

IBP. FERNANDO DAVID MONTALVO SANDOVAL

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. LUZ MARÍA TERESITA PAZ MALDONADO

CO-DIRECTOR DE TESIS:

DR. OMAR GONZÁLEZ ORTEGA

Proyecto realizado en:

Laboratorio de Ingeniería de Biorreactores de la Facultad de Ciencias Químicas de la
Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Con financiamiento de:

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) PROYECTO: 257616
Beca-Tesis del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT): 887520.

“El programa de Maestría en Ciencias en Bioprocesos de la Universidad
Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Programa Nacional de
Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACyT, registro 000588, en el
Nivel Consolidado”

Número de registro de la beca otorgada por CONACyT: 887520

RESUMEN

El ácido α -lipoico (ALA) es un cofactor necesario para la catálisis y regulación de múltiples reacciones de descarboxilación oxidativa, con actividad antioxidante y exitosamente aplicado como terapia en distintas enfermedades metabólicas y neurodegenerativas. Debido a las limitaciones de la síntesis química y a los alcances limitados de su producción en procariotas, en este estudio se seleccionó a *P. pastoris*, para generar una plataforma de producción competitiva.

Se diseñó un constructo con técnicas moleculares y de ingeniería genética para la incorporación de los elementos necesarios para la expresión de proteínas en levaduras. Las cepas transformantes obtenidas fueron cultivadas bajo condiciones controladas. Las pruebas moleculares revelaron la expresión de las proteínas introducidas con niveles importantes en algunas transformantes, mientras que las características específicas también se observaron tras los análisis cinéticos y de cultivo en lote.

Este estudio establece estrategias genéticas de producción de ALA en levaduras, sin embargo, aún es necesaria la implementación de diversas estrategias para determinar la factibilidad biotecnológica de su producción a gran escala.

Palabras clave: ácido alfa-lipoico, ALA, lipoilación de proteínas, *Pichia pastoris*.

ABSTRACT

α -Lipoic acid (ALA) is a necessary cofactor for catalysis and regulation of oxidative decarboxylation reactions, it has antioxidant activity and has been successfully applied as therapy in a variety of metabolic and neurodegenerative diseases. Due to the limitations of its chemical synthesis and the scarce multiple advances in its production in prokaryotic cells, *P. pastoris* was selected in this study to generate a competitive production platform.

A construct was designed through molecular and genetic engineering techniques for the incorporation of necessary elements for the protein expression in yeasts. The recombinant strains obtained were cultivated under controlled conditions. Molecular analyzes verified the expression of the specific proteins with significant levels in some strains while the specific characteristics were also observed after kinetic and batch culture analyzes.

In this work, genetic strategies were established for the production of ALA in yeast. However, implementation of multiple strategies is necessary to determinate the biotechnological feasibility for its large-scale production.

Keywords: alpha lipoic acid, ALA, protein lipoylation, *Pichia pastoris*.

“El contenido de esta obra se encuentra en proceso de publicación en una revista indexada de circulación internacional. El acceso a la información generada se concederá mediante redirección a la publicación correspondiente tras la finalización del proceso”