

DPT.017.19
México, D.F. a 4 de Septiembre de 2019

Dr. Mauricio Sales Cruz
Presidente del Consejo Divisional
División de Ciencias Naturales e Ingeniería
UAM- Cuajimalpa
Presente

Asunto: Informe Final de Proyecto Divisional


Por medio de este conducto, le hago llegar el informe final que presenta el **Dr. Álvaro R. Lara Rodríguez**, en su calidad de responsable de proyecto divisional, y cuyo título es **"ESTRATEGIAS MOLECULARES Y DE CULTIVO PARA MEJORAR LA PRODUCCIÓN DE VACUNAS DE ADN"**, cuya vigencia término en abril de 2019.

Lo anterior para cumplir con lo establecido en los lineamientos divisionales y que pueda ser turnado a la Comisión del Consejo encargada de dar seguimiento y/o en su caso poder expedir la carta de conclusión del proyecto.

Sin otro particular, quedo atenta a cualquier comunicado al respecto y aprovecho para enviarle un cordial saludo

Atentamente

Casa abierta al tiempo


Dra. Marcia Guadalupe Morales Ibarria
Jefa de Departamento de Procesos y Tecnología



Unidad Cuajimalpa

DPT | Departamento de Procesos y Tecnología
Torre III, 7to. Piso.

Avenida Vasco de Quiroga 4871, Colonia Santa Fe Cuajimalpa
Delegación Cuajimalpa de Morelos, C.P. 05348, México, D. F.
Tel. 5814-6500 Ext.- 3895

www.cua.uam.mx

Informe Final del Proyecto Divisional titulado:

ESTRATEGIAS MOLECULARES Y DE CULTIVO PARA MEJORAR LA PRODUCCIÓN DE VACUNAS DE ADN

Clave: S114-15

Responsable: Alvaro R. Lara, DPT. Participante: Dr. Juan Carlos Sigala Alanís, DPT.

En el presente proyecto se desarrollaron alternativas biotecnológicas para contender con el inminente agotamiento de oxígeno en cultivos de alta densidad celular. Se abordó el caso particular de ADN plasmídico, molécula que ha recobrado interés para su uso como agente de vacunación y terapia génica. Se reconfiguró el replicón pUC (alto número de copias) para inducir la replicación del plásmido mediante el agotamiento de oxígeno. También se diseñó un plásmido sintético con los elementos mínimos del replicón R1. El plásmido sintético, denominado miniR1 fue replicado exitosamente en nuestra cepa modificada de *Escherichia coli*, alcanzando rendimientos similares a plásmidos tipo pUC. La cepa modificada consiste en una mutante de *E. coli* W3110 con inactivación del gene *recA* y la inserción cromosomal del gene de la hemoglobina de *Vitreoscilla stercoraria*. Esta cepa permite mejorar la calidad del plásmido producido, así como desempeño metabólico de la cepa bajo limitaciones de oxígeno. La conjunción del rediseño de circuitos de replicación y la ingeniería celular de *E. coli* permite proponer alternativas tecnológicas para la producción de ADN plasmídico en condiciones de proceso.

Enseguida se comparan los productos comprometidos (tomados de la propuesta del proyecto) respecto a los alcanzados.

Productos comprometidos.

a) 2 Servicios sociales.

La alumna Daniela Velazquez Gallegos (Licenciatura en Ingeniería Biológica) llevó a cabo su Servicio Social con el proyecto titulado: "Cuantificación de ARN mensajero y proteínas de control de la replicación de plásmidos R1". El proyecto inició el 8 de febrero de 2018 y terminó el 8 de agosto de 2018, siendo acreditado el 3 de septiembre de 2018.

La alumna Elisa Alejandra Ramírez Campos (Licenciatura en Ingeniería Biológica) llevó a cabo su Servicio Social con el proyecto titulado: Producción de ADN plasmídico en modo lote alimentado en matraz agitado empleando cepas de *E. coli* modificadas genéticamente. El proyecto finalizó el 15 de abril de 2016.

b) 2 Proyectos Terminales finalizados.

Proyecto terminal de Inés Penella, Licenciatura en Ingeniería Biológica, terminado el trimestre 18P, titulado: "Diseño de un vector sintético miniR1 y caracterización de su producción por *Escherichia coli*".

Proyecto terminal de Daniela Velazquez, Licenciatura en Ingeniería Biológica, terminado el trimestre 18P, titulado: "Evaluación de circuitos sintéticos para incrementar la producción de ADN plasmídico".

c) 1 Tesis de Maestría

La Ing. Biol. Janet Galindo Martínez finalizó la redacción de su Idónea Comunicación de Resultados, la cual ha sido aprobada por el Dr. Alvaro R. Lara y se encuentra en revisión por parte del Dr. Juan Carlos Sigala. Se espera que la Ing. Galindo obtenga su grado de Maestra en Ciencias Naturales e Ingeniería durante antes de noviembre de 2019.

d) 1 Tesis de doctorado.

El Dr. Karim Enrique Jaén Chávez obtuvo su grado el 26 de abril de 2018. El Dr. Jaén obtuvo la Medalla al Mérito Universitario en 2018 y su tesis fue galardonada con el Premio "Alfredo Sánchez Marroquín" de la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería en 2019.

e) 6 artículo publicados en revistas indizadas

Se publicaron 11 artículos en revistas de prestigio en el área. Se detallan enseguida:

e.1 Jaén KE, Velázquez D, Sigala JC, Lara AR*. 2019. Design of a microaerobically inducible replicon for high-yield plasmid DNA production. *Biotechnology and Bioengineering*. In press. FI: 4.260.

Describe el diseño del plásmido inducible por microaerobiosis y su producción en cultivos de alta densidad celular.

Received: 14 March 2019 | Revised: 7 June 2019 | Accepted: 10 June 2019

DOI: 10.1002/bit.27091

ARTICLE

BIOTECHNOLOGY
BIOENGINEERING WILEY

Design of a microaerobically inducible replicon for high-yield plasmid DNA production

Karim E. Jaén | Daniela Velázquez | Juan-Carlos Sigala | Alvaro R. Lara

e.2 Jaén KE, Velázquez D, Delvigne F, Sigala JC, Lara AR*. 2019. Engineering *E. coli* for improved microaerobic pDNA production. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 42(9): 1457-1466. FI: 2.371

Describe el diseño de una cepa modificada de segunda generación para la producción microaerobia de ADN plasmídico.

Bioprocess and Biosystems Engineering (2019) 42:1457–1466
<https://doi.org/10.1007/s00449-019-02142-5>

RESEARCH PAPER



Engineering *E. coli* for improved microaerobic pDNA production

Karim E. Jaén¹ · Daniela Velazquez¹ · Frank Delvigne² · Juan-Carlos Sigala³ · Alvaro R. Lara³

Received: 13 January 2019 / Revised: 20 March 2019 / Accepted: 2 May 2019 / Published online: 11 May 2019
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2019

e3. Lara AR*, Velázquez D, Penella, Islas F, González-De la Rosa CH, Sigala JC. 2019. Design of a synthetic miniR1 plasmid and its production by engineered *Escherichia coli*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 42: 1391-1397. FI: 2.371

Describe el diseño del plásmido sintético miniR1, su secuencia, producción por *E. coli* y comparación con un plásmido pUC.

Bioprocess and Biosystems Engineering
<https://doi.org/10.1007/s00449-019-02129-2>

RAPID COMMUNICATION



Design of a synthetic miniR1 plasmid and its production by engineered *Escherichia coli*

Alvaro R. Lara¹ · Daniela Velázquez² · Inés Penella² · Fabiola Islas² · Claudia H. González-De la Rosa¹ · Juan-Carlos Sigala¹

Received: 14 January 2019 / Accepted: 8 April 2019
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2019

e4. Lara AR*, Jaén KE, Folarin O, Keshavarz-Moore E, Büchs J. 2019. Effect of the oxygen transfer rate on oxygen-limited production of plasmid DNA by *Escherichia coli*. *Biochemical Engineering Journal*. 150: 107303. FI: 3.371

Describe la influencia de la velocidad máxima de transferencia de oxígeno en la producción de plásmidos pUC por *E. coli* silvestre y modificada genéticamente.



Contents lists available at ScienceDirect

Biochemical Engineering Journal

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bej



Regular article

Effect of the oxygen transfer rate on oxygen-limited production of plasmid DNA by *Escherichia coli*



Alvaro R. Lara^{a,*}, Karim E. Jaén^a, Olusegun Polarin^b, Eli Keshavarz-Moore^b, Jochen Büchs^c

e5. Lara AR, Jaén KE, Sigala JC, Regestein L, Büchs J. 2017. Evaluation of microbial globin promoters for O₂-limited processes using *E. coli*. Journal of Biological Engineering. 11: 39. FI: 5.256

Describe la respuesta dinámica en *E. coli* de promotores microbianos heterólogos ante el agotamiento de oxígeno a varias tasas de transferencia de masa.

Lara et al. Journal of Biological Engineering (2017) 11:39
DOI 10.1186/s13036-017-0082-3



Journal of
Biological Engineering

LETTERS TO THE EDITOR

Open Access

Evaluation of microbial globin promoters for oxygen-limited processes using *Escherichia coli*



Alvaro R. Lara^{1*}, Karim E. Jaén¹, Juan-Carlos Sigala¹, Lars Regestein² and Jochen Büchs^{2*}

e.6 Lara AR, Jaén KE, Mühlmann M, Sigala JC, Regestein L, Büchs J. 2017. Characterization of endogenous and reduced promoters for oxygen-limited processes using *Escherichia coli*. ACS Synthetic Biology. 6: 344-356. FI: 5.382

ACS
SyntheticBiology

Research Article

pubs.acs.org/synthbio

Characterization of Endogenous and Reduced Promoters for Oxygen-Limited Processes Using *Escherichia coli*

Alvaro R. Lara,^{*,†} Karim E. Jaén,[†] Juan-Carlos Sigala,[†] Martina Mühlmann,[‡] Lars Regestein,[‡] and Jochen Büchs^{*,‡}

e7. Jaén KE, Olivares R, Sigala JC, Lara AR*. 2017. Heterogeneous oxygen availability affects the titer and topology but not the fidelity of plasmid DNA produced by *Escherichia coli*. BMC Biotechnology. 17:60. FI: 2.605.

Describe el efecto en la producción y calidad del ADN plasmídico de las condiciones heterogéneas en reactores industriales.

Jaén et al. BMC Biotechnology (2017) 17:60
DOI 10.1186/s12896-017-0378-x

BMC Biotechnology

RESEARCH ARTICLE

Open Access

Heterogeneous oxygen availability affects the titer and topology but not the fidelity of plasmid DNA produced by *Escherichia coli*



Karim E. Jaén¹, Juan-Carlos Sigala², Roberto Olivares-Hernández², Karsten Niehaus³ and Alvaro R. Lara^{2*}

e.8 Pablos TE, Olivares R, Sigala JC, Ramírez OT, Lara AR. 2016. Toward efficient microaerobic processes using engineered *Escherichia coli* W3110 strains. Engineering in Life Sciences. 16(7): 588-597. FI: 1.698.

Describe el diseño de una familia de cepas de primera generación con un mejor desempeño ante limitaciones de oxígeno.

Engineering

in Life Sciences

Eng. Life Sci. 2016, 16, 588–597

www.els-journal.com

Tania E. Pablos¹
Roberto Olivares²
Juan Carlos Sigala²
Octavio T. Ramírez³
Alvaro R. Lara²

Research Article

Toward efficient microaerobic processes using engineered *Escherichia coli* W3110 strains

e.9 Galindo JE, Barrón BL, Lara AR*. 2016. Plasmid DNA production in shake flasks is improved by enzyme-controlled glucose release. Annals of Microbiology. 66(3): 1337-1342. FI: 1.122.

SHORT COMMUNICATION

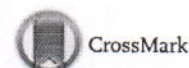
Improved production of large plasmid DNA by enzyme-controlled glucose release

Janet Galindo¹ · Blanca L. Barrón² · Alvaro R. Lara³

e.10 Ramírez EA, Velázquez D, Lara AR*. 2016. Enhancing plasmid DNA production in shake flask by enzyme-mediated glucose release and engineered *E. coli*. *Biotechnology Letters*. 38(4): 651-657.

Describe el uso de modos de cultivo tipo lote alimentado en matraz agitado empleando cepas modificadas de *E. coli*.

Biotechnol Lett (2016) 38:651–657
DOI 10.1007/s10529-015-2017-8



ORIGINAL RESEARCH PAPER

Enhanced plasmid DNA production by enzyme-controlled glucose release and an engineered *Escherichia coli*

Elisa A. Ramírez · Daniela Velázquez ·
Alvaro R. Lara

e.11 Cortés T, Flores N, Bolívar F, Lara AR, Ramírez OT. 2016. Physiological effects of pH gradients on *Escherichia coli* during plasmid DNA production. *Biotechnology and Bioengineering*. 113(3): 598-611. FI: 4.481.

Describe el efecto de variaciones espacio-temporales de pH en la producción de ADN plasmídico.

ARTICLE

BIOTECHNOLOGY
and
BIOENGINEERING

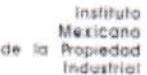
Physiological Effects of pH Gradients on *Escherichia coli* During Plasmid DNA Production

José T. Cortés,¹ Noemí Flores,² Francisco Bolívar,² Alvaro R. Lara,³
Octavio T. Ramírez¹


f) 1 solicitud de patente.


Se sometió la siguiente solicitud de patente ante el IMPI el 17 de mayo de 2017:

Jaén KED, Velázquez DL, Sigala JC, Lara AR*. 2017. Plásmidos inducibles por condiciones microaerobias y su uso. Sometida. Folio Número MX/E/2017/036457.



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial



<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 60%;"> <input checked="" type="checkbox"/> Solicitud de Patente <input type="checkbox"/> Solicitud de Registro de Modelo de Utilidad <input type="checkbox"/> Solicitud de Registro de Diseño Industrial <div style="display: flex; justify-content: space-around; font-size: small;"> <input type="checkbox"/> Modelo Industrial <input type="checkbox"/> Objeto Intelectual </div> </div> <div style="width: 35%; text-align: center; font-size: x-small;"> Uso exclusivo Delegaciones y Subdelegaciones de la Secretaría de Economía y Oficinas Regionales del IMPI Sello Folio de entrada Fecha y hora de recepción </div> </div> <div style="margin-top: 10px;"> Solicitud: MX/E/2017/036457 Expediente: 18/001/2017 Hora: 10:42:03 Fecha: 18/05/2017 Folio: MX/E/2017/036457 (8494)  </div>	<div style="text-align: center; font-weight: bold; font-size: small;"> INSTITUTO MEXICANO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL Dirección General de Patentes </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 5px;"> DATOS DEL (DE LOS) SOLICITANTE(S) </div> <div style="font-size: x-small;"> 2) Solicitante es el inventor <input type="checkbox"/> El solicitante es el causahabiente <input checked="" type="checkbox"/> </div> <div style="margin-top: 5px;"> 1) Nombre (s): UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA 2) Nacionalidad (es): MEXICANA 3) Domicilio, calle, número, colonia y código postal: PROLONGACIÓN CANAL DE MIRAMONTES No. 3855, COLONIA EX-HACIENDA SAN JUAN DE DIOS, CÓDIGO POSTAL 14387 Población, Estado y País: DELEGACIÓN TLALPÁN, CIUDAD DE MÉXICO, MÉXICO. 4) Teléfono (clave): 55 5483 4000 EXT. 1234 Y 1235 5) Fax (clave): </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 5px;"> DATOS DEL (DE LOS) INVENTOR(ES) </div> <div style="font-size: x-small;"> 6) Nombre (s): KARIM ENRIQUE JAÉN CHÁVEZ, DANIELA VELÁZQUEZ GALLEGOS, JUAN CARLOS SIGALA ALANÍS Y ALVARO RAÚL LARA RODRÍGUEZ 7) Nacionalidad (es): MEXICANAS 8) Domicilio, calle, número, colonia y código postal: AV. VERACRUZ, No. 195, INT. 1 A, COL. CUAJIMALPA, C.P. 06000 Población, Estado y País: DELEGACIÓN CUAJIMALPA, CIUDAD DE MÉXICO, MÉXICO. 9) Teléfono (clave): 55 5483 4000 EXT. 1234 Y 1235 10) Fax (clave): </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 5px;"> DATOS DEL (DE LOS) APODERADO(S) </div> <div style="font-size: x-small;"> 11) Nombre (s): SARA PÉREZ SALAZAR 12) R.G.P.R.P. BOA2 02495 13) Domicilio, calle, número, colonia y código postal: PROLONGACIÓN CANAL DE MIRAMONTES No. 3855, COLONIA EX-HACIENDA SAN JUAN DE DIOS, CÓDIGO POSTAL 14387. Población, Estado y País: DELEGACIÓN TLALPÁN, DISTRITO FEDERAL, MÉXICO 14) Teléfono (clave): 55 5483 4000 EXT. 1234 15) Fax (clave): 16) Personas Autorizadas para otorgar notificaciones: LIC. JULIANA DEL CRISTO SAUCEDO 17) Denominación o Título de la invención: PLÁSMIDOS INDUCIBLES POR CONDICIONES MICROAEROBIAS Y SU USO </div>
--	---

g) 2 presentaciones en congresos

2018. Effect of the oxygen transfer rate on oxygen-limited production of plasmid DNA by *Escherichia coli*. Presentado en el congreso: *Microbial Engineering*. Engineering Conferences International. Santa Fe, Nuevo México, EUA. El trabajo se presentó gracias a una invitación y beca otorgada por la *Bill and Melinda Gates Foundation*.

2018. Lara AR. High yield plasmid DNA production under oxygen limitation using microaerobically induced replication. Conferencia plenaria presentada en el 5th *BioProScale Symposium*, en Berlín, Alemania.

Resultados esperados

Los resultados esperados de acuerdo al protocolo de proyecto aprobado son:

Productos tecnológicos: una cepa de *E. coli* con un eficiente crecimiento bajo condiciones microaerobias, un plásmido auto inducible por microaerobiosis, un proceso de producción de pDNA inducible por microaerobiosis. Una solicitud de patente nacional.

Productos académicos: Una tesis doctoral, una tesis de maestría, dos proyectos terminales, 6 artículos en revistas indizadas.

Conclusiones.

Se alcanzaron todos los productos comprometidos para el presente proyecto. El número de publicaciones fue casi el doble del propuesto. Se considera que cumplió satisfactoriamente con la ejecución del mismo.