

Estudio de la expresión de genes en cacao mediadas por la levadura (*saccharomyces cerevisiae*), para mejorar la producción de manteca de cacao



Study of the expression of genes in cocoa mediated by yeast (*saccharomyces cerevisiae*), to improve the production of cocoa butter

Cagua, Luis; Solis, Erick; Andrade, Job; Riquelme, Maria Paula

Luis Cagua

lcaguam@unemi.edu.ec

Universidad Estatal de Milagro, Ecuador

Erick Solis

esolisg@unemi.edu.ec

Universidad Estatal de Milagro, Ecuador

Job Andrade

mriquelmee@unemi.edu.ec

Universidad Estatal de Milagro, Ecuador

Maria Paula Riquelme

Jandradea@unemi.edu.ec

Estatal de Milagro, Ecuador

Ecuadorian Science Journal

GDEON, Ecuador

ISSN-e: 2602-8077

Periodicidad: Semestral

vol. 5, núm. Esp.4, 2021

esj@gdeon.org

Recepción: 31 Agosto 2021

Aprobación: 04 Octubre 2021

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/606/6062739013/index.html>

DOI: <https://doi.org/10.46480/esj.5.4.177>

Los autores mantienen los derechos sobre los artículos y por tanto son libres de compartir, copiar, distribuir, ejecutar y comunicar públicamente la obra sus sitios web personales o en depósitos institucionales, después de su publicación en esta revista, siempre y cuando proporcionen información bibliográfica que acredite su publicación en esta revista. Licencia de Creative Commons Las obras están bajo una <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional.

Como citar: Cagua, L., Solis, E., Andrade, J., & Riquelme, M. P. (2021). Estudio de la expresión de genes en cacao mediadas por la

Resumen: La manteca de cacao puede utilizarse como materia prima en la producción de chocolates, cosméticos, combustibles entre otros productos. Esto ha generado un aumento en la demanda de MC, de tal forma que a desencadenó en una escasez de productos elaborados debido a su insuficiencia. Se han realizado numerosos estudios con relación a la MC, donde se analizaron varias cepas de levaduras no oleaginosas y oleaginosas en condiciones de cultivo limitadas en nitrógeno. Para la extracción de las diferentes cepas, utilizaron *S. Cerevisiae* no oleaginosa y oleaginosa, que fueron sujetas a análisis, en los cuales se pudo determinar el gran potencial de esta levadura. Actualmente la biotecnología sintética, ingeniería metabólica y la ingeniería genética, han permitido la producción de un alto nivel de triacilgliceroles (TAG) equivalentes a la MC, mediante microorganismos fermentadores como las levaduras. Esto, con el fin de medir la capacidad de producción de lípidos similares a la manteca en la biosíntesis de TAGs. La *Saccharomyces cerevisiae* produce TAG como lípidos de almacenamiento, que consisten en ácidos grasos C16 y C18. Sin embargo, los lípidos similares a la manteca de cacao (CBL, que se componen de POP, POS y SOS) no se encuentran entre las principales formas de TAG en la levadura. No obstante, se han diseñado cepas de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* con una síntesis modificada de ácidos grasos. Al expresar los genes de cacao seleccionados en *S. cerevisiae* mediante transformación molecular, se aumentó con éxito la producción total de ácidos grasos de TAG y CBL.

Palabras clave: Ácidos Grasos, Manteca de cacao, *Saccharomyces Cerevisiae*, Triacilgliceroles.

Abstract: Cocoa butter can be used as a raw material in the production of chocolates, cosmetics, fuels, among other products. This has generated an increase in the demand for MC, in such a way that it triggered a shortage of manufactured products due to their insufficiency. Numerous studies have been carried out in relation to CM, where several non-oleaginous and oleaginous yeast strains were analyzed under nitrogen-limited culture conditions. For the extraction of the different strains, they used non-oleaginous and oleaginous *S. cerevisiae*, which were subjected to analyzes, in which the great potential of this

levadura (*saccharomyces cerevisiae*), para mejorar la producción de manteca de cacao. *Ecuadorian Science Journal*, 5(4), 140-149. DOI: <https://doi.org/10.46480/esj.5.4.177>

yeast could be determined. Currently, synthetic biotechnology, metabolic engineering and genetic engineering have allowed the production of a high level of triacylglycerols (TAG) equivalent to MC, by means of fermenting microorganisms such as yeast. This, in order to measure the production capacity of lipids similar to butter in the biosynthesis of TAGs. *Saccharomyces cerevisiae* produces TAGs as storage lipids, which consist of C16 and C18 fatty acids. However, cocoa butter-like lipids (CBL, which are made up of POP, POS, and SOS) are not among the main forms of TAG in yeast. However, *Saccharomyces cerevisiae* yeast strains have been designed with a modified synthesis of fatty acids. By expressing the selected cocoa genes in *S. cerevisiae* by molecular transformation, the total fatty acid production of TAG and CBL was successfully increased.

Keywords: Fatty Acids, cocoa butter, *Saccharomyces Cerevisiae*, Triacylglycerols.

INTRODUCCIÓN

La manteca de cacao (MC) puede ser utilizada como materia prima en la producción de chocolates, cosméticos y otros productos (Beg et al., 2017). Esto ha generado un aumento en la demanda de MC y la escasez de su producción, esto se ha convertido en un problema grave para los productores y consumidores. Actualmente, los avances de la biotecnología sintética, ingeniería metabólica e ingeniería genética, han permitido la producción de un alto nivel de triacilgliceroles (TAG) equivalentes a la MC mediante microorganismos fermentadores como las levaduras. (Wang, Wei, Ji, y Nielsen, 2020).

Se conoce que la principal fuente de MC, son los granos de cacao obtenidos de árboles *Theobroma cacao*, que solo crecen en áreas de plantación limitada, en climas tropicales. Por este motivo, las levaduras son opciones atractivas para la producción oleoquímica microbiana a escala industrial de MC, puesto que, las levaduras por la fermentación son potentes en la biosíntesis de triacilgliceroles (Wei, Gossing, Bergenholm, Siewers, y Nielsen, 2017).

La longitud de la cadena y el grado de saturación juegan un papel importante en la característica de varios productos derivados de los ácidos grasos, como combustibles, cosméticos y aditivos alimentarios. Una de las principales especies TAG de manteca de cacao, consta de dos moléculas de ácido esteárico y una molécula de ácido oleico (ácido esteárico-ácido oleico-ácido esteárico, sn-SOS), esta molécula es particularmente rara en la naturaleza, por lo cual, es necesario optimizar su composición al igual que los TAG (POP, POS) (Bergenholm, Gossing, Wei, Siewers, y Nielsen 2018).

El triacilglicerol es un éster compuesto por un glicerol y tres ácidos grasos, además su síntesis es catalizada principalmente por tres tipos diferentes de enzimas: glicerol-3-fosfato aciltransferasa (GPAT), lisofosfolípido aciltransferasa (LPAT) y diacilglicerol aciltransferasa (DGAT), que pueden agregar acil-coenzima As (acil-CoAs) a la posición sn -1, sn -2 y sn -3 del glicerol, respectivamente. Actualmente, la reesterificación enzimática de aceites vegetales utilizando lipasas se utiliza para la producción de CBL. Sin embargo, la reesterificación requiere la hidrogenación de grandes cantidades de aceites vegetales que tienen una producción limitada. Además del método de lipasa asistida, levaduras, especialmente levaduras oleaginosas, también tienen aplicación potencial para la producción de CBL, como los principales ácidos grasos producidos por las levaduras son ácidos grasos C16 y C18. Para la levadura modelo, *Saccharomyces cerevisiae*, el análisis global de su lipidoma ha demostrado que solo se produjeron pequeñas cantidades de CBL. Aunque las condiciones de cultivo que afectan la producción de ácidos grasos se han examinado en

varias levaduras, rara vez se ha informado de una comparación detallada de la capacidad de producción de CBL en diferentes levaduras y condiciones dadas (Kolouchová et al. 2016).

Se han diseñado cepas de levadura *Saccharomyces Cerevisiae* con una síntesis modificada de ácidos grasos los cuales se han analizado extensamente. El análisis del perfil de ácidos grasos de las cepas modificadas, ha mostrado un aumento en el contenido de estos lípidos, (POP, POS y SOS), así como los de los ácidos grasos saturados y otros TAG. El contenido relativo de CBL potenciales en el grupo de TAG alcanzó hasta un 22% en las nuevas cepas, lo que representa un aumento de 5,8 veces con respecto al tipo salvaje. Del mismo modo, el contenido de SOS alcanzó un nivel del 9,8% en las cepas modificadas (Bergenholtm et al., 2018).

En este estudio, se recogieron seis genes biosintéticos MC potenciales (dos genes GPAT, dos LPAT y dos DGAT) en *T. cacao*. Para verificar la función de estos genes del cacao y comprender sus efectos sobre la producción de lípidos de *S. cerevisiae*, de la misma forma estos genes se expresaron individualmente en *S. cerevisiae* para comparar el contenido total de ácidos grasos en las levaduras manipuladas. Basándose en los resultados de los ácidos grasos totales, seleccionaron tres cepas que albergan genes de cacao para un análisis adicional de la composición de lípidos totales y el perfil de TAG y los compararon con medidas similares para la cepa de control. Mediante este análisis se proporcionó una nueva visión funcional de las enzimas biosintéticas MC y la producción avanzada de CBL utilizando *S. cerevisiae* como una fábrica de células.

MATERIALES Y MÉTODOS

Insumos, instrumentos y equipos utilizados en este estudio.

- Solución de glucosa y vitaminas.
- Tubos de falcón.
- Matraz de agitación.
- Éster metílico de ácido graso (FAME).
- Centrifuga.
- Detector RI.
- Termociclador PCR.
- Medio de cultivos (YPD).

TABLA 1.
Genes de cacao utilizados en este estudio.

Genes	Cantidad
GPAT	2
LPAT	2
DGAT	2

Wei et al., 2018

TABLA 2
Lista de cepas derivadas de *S. cerevisiae* utilizadas en este estudio.

Nombre	Plásmidos de expresión	Propiedades
YJ0	pBS01A	Vector vacío.
YJ-111	pYJ-111	Expresión de la combinación de genes TcGPAT 1, TcLPAT 1 y TcDGAT 1.
YJ-121	pYJ-121	Expresión de la combinación de genes TcGPAT 1, TcLPAT 2 y TcDGAT 1.
YJ-221	pYJ-221	Expresión de la combinación de genes TcGPAT 2, TcLPAT 2 y TcDGAT 1.

Wei et al., 2018

Según, Wei, Siewers y Nielsen, (2017) Para la extracción se analizaron varias cepas de levaduras *S. Cerevisiae* no oleaginosas y oleaginosas en condiciones de cultivo limitadas en nitrógeno, que fueron cultivadas en medios enriquecidos de extracto de levadura peptona dextrosa (YPD). El medio limitado en nitrógeno se preparó utilizando glucosa, solución de traza de metales y solución de vitaminas. Siguiendo con el procedimiento, las cepas se inocularon en tubos de falcón y matraz en agitación, durante un tiempo y temperatura determinados. Luego, los cultivos se recogieron por centrifugación en medios de NBL, para proceder con el análisis de lípidos (Wei et al., 2017).

Las células de levadura recogidas se lavaron y utilizaron células liofilizadas para determinar el perfil de lípidos totales y la composición de ácidos grasos, se analizaron mediante métodos asistidos por microondas. Las cepas fueron extraídas para el análisis CBL. Este análisis se realizó con la finalidad de medir el potencial de la *S. Cerevisiae* como precursor en la biosíntesis de lípidos similares de manteca de cacao (MC), para la mejora la producción de la misma (Wang et al., 2020).

Para el proceso de expresión de genes de cacao biosintetizadores de CBL en *S. cerevisiae* para potenciar la producción de manteca de cacao, seleccionaron tres genes (tabla 1). En cuanto la preparación de cepas, plásmidos y medios, se tomó como huésped (vector) el DH5 α de *Escherichia Coli*, para todo el trabajo de clonación molecular y los transformantes se manejó medio de cultivo LB. Utilizaron *S. Cerevisiae*, para expresar genes de cacao y recombinación homóloga para construir cepas derivadas de la misma levadura. Los genes biosintéticos de cacao que codifican GPAT, LPAT y DGAT se amplificaron con la ayuda de cebadores, promotores y terminadores genéticos específicos (Bergenholtm et al., 2018).

Para la construcción de vectores y la clonación molecular, se utilizó el ensamblaje de Gibson para construir plásmidos pBS01A de expresión génica del cacao mediante la ligación de los caset de expresión y el fragmento lineal amplificado del esqueleto del plásmido; luego fueron verificados mediante PCR y técnica de Sanger. Para realizar la transformación de la levadura, el fragmento del plásmido se amplificó a partir del vector de expresión. Los plásmidos construidos se utilizaron para transformar *S. Cerevisiae* necesaria para la mejora de la producción de MC. (Wei et al., 2018).

Para el cultivo y análisis de las cepas modificadas genéticamente, se seleccionaron tres cepas de levadura que albergan genes de cacao (YJ-111, YJ -121 y YJ-221) y la cepa de control YJ0 (tabla 2) para análisis de lípidos y TAG. Cada cepa fue cultivada en tres réplicas, el éster metílico de ácidos grasos (FAME) y los perfiles de lípidos se analizaron utilizando el método asistido por microondas. Con el fin de obtener suficientes lípidos para los análisis de TAG, se empleó matraces de agitación para la recolección de biomasa de levadura. Los lípidos extraídos de cada cepa se utilizaron para analizar los perfiles de TAG de levadura mediante cromatografía líquida de alta resolución con detección RI. Las composiciones de TAG de cada cepa clonada se expresaron en porcentajes de área relativa. (Wei et al., 2017).

RESULTADOS

Análisis de la capacidad *S. cerevisiae* como productora de lípidos similares a la manteca de cacao

En el análisis de contenido relativo de lípidos y ácidos grasos de *S. cerevisiae* (Tabla 3), se determinó que pueden crecer y producir diferentes niveles de lípidos, en condiciones y medios nitrogenados. Especialmente aumentan su producción de lípidos cuando se agota el nitrógeno y queda un exceso de fuente de carbono en el medio. Los resultados fueron comparados con otras 5 levaduras, *T. oleaginosus*, *R. graminis*, *L. starkeyi*, *toruloides R.*, y *Y. lipolytica*,

Los principales TAG de *S. cerevisiae* fueron TAG (C18: 1, C16: 1, C16: 1; 24,3%) y TAG (C18: 0, C16: 1, C16: 1; 18,9%). Los principales TAG de *R. toruloides* fueron TAG (C16: 0, C18: 1, C18: 1; 22,2%), TAG (C18: 1, C18: 1, C18: 1; 12,0%) y TAG (C16: 0, C18: 2, C18: 1; 10,7%). Los principales TAG de *Y. lipolytica* fueron TAG (C16: 0, C18: 1, C16: 1; 18,4%), TAG (C18: 1, C18: 1, C18: 1; 11,8%) y TAG (C16: 0, C18: 1, C18: 1; 11,4%). (figura. 1)

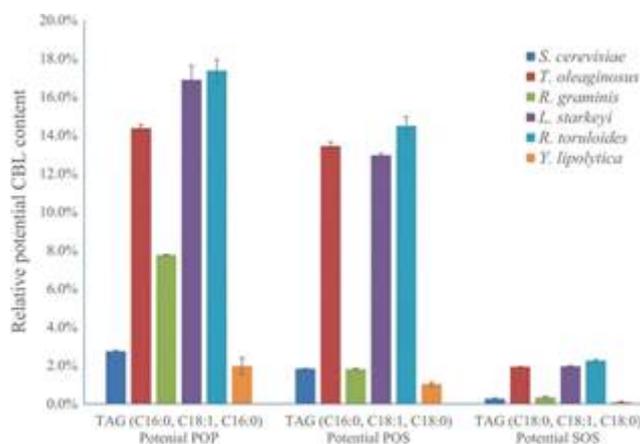


FIGURA 1
 Contenido relativo de POP, POS y SOS potenciales de seis levaduras
 Wei et al., 2017

TABLA 3

Contenido relativo de lípidos y ácidos grasos similares a MC de *S. cerevisiae* cultivadas en medio NBL.

Contenido de lípidos relativos en <i>S. cerevisiae</i> (% peso / peso) a	
Triacilglicerol (TAG)	50,7 ± 1,0
Ésteres esterilicos	34,0 ± 2,5
Ergosterol	6,4 ± 0
C18: 1	3,5 ± 0,3
C16: 1	50,0 ± 0,3

Wei et al., 2018

Esta información se convirtió en el punto de inicio para que los investigadores comenzaran a utilizar levaduras *S. cerevisiae* transformadas con genes de cacao (GPAT, LPAT y DGAT) biosintetizadores de TAG, en la producción de manteca de cacao, de tal forma esta levadura produjo 38,7 mg de TAG total en estado natural.

Luego de que se comprobó que las cepas de levadura sirven como productoras de CBL, se las transformó con genes de cacao GPAT, LPAT y DGAT para que estas puedan generar a gran escala POP, POS y SOS.

Resultados y análisis de las cepas transformadas con los tres genes de cacao para potenciar la producción de triacilgliceridos (POP, POS y SOS)

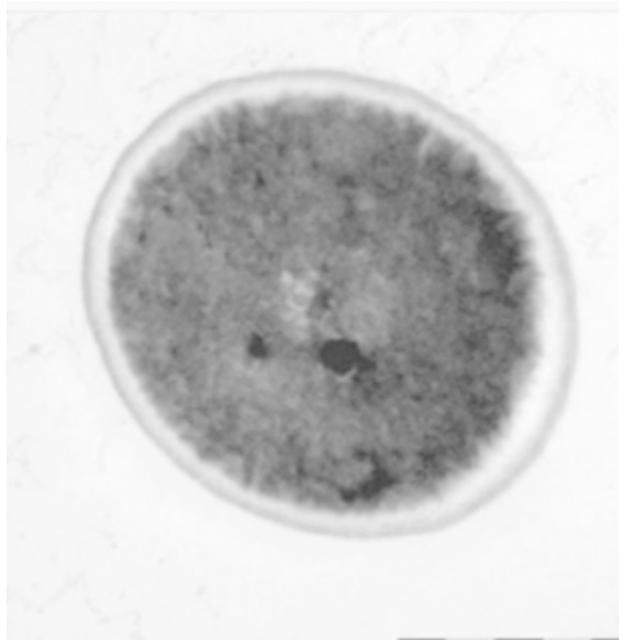


FIGURA 2
S. cerevisiae transformada.

Wei et al., 2018

Para las cepas de *S. cerevisiae* (figura. 2) que se transformaron (YJ-111, YJ -121 y YJ -221), se realizó el análisis de tres cepas donde se obtuvo como resultado YJ-111, que produjo menos ácidos grasos que YJ0, YJ-121 produjo aproximadamente la misma cantidad de ácidos grasos totales que YJ0, mientras que YJ-221

produjo más ácidos grasos que YJ0. Aunque los métodos empleados en este estudio no permiten determinar la posición exacta de cada ácido graso dentro de una molécula de TAG, se puede determinar la composición de ácidos grasos de cada TAG. Las cuatro cepas de levadura probadas en este estudio produjeron al menos 22 tipos diferentes de TAG y hubo un cambio importante en la composición de TAG después de la expresión de los genes del cacao. La mayoría de los TAG representaron menos del 5% del grupo total de TAG.

Con respecto a los TAG de CBL, el POP potencial (C16: 0, C18: 1, C16: 0) y el POS potencial (C16: 0, C18: 1, C18: 0), YJ-111, -121 y -221 mostraron diferencias en comparación con YJ0; la proporción de POP potencial en YJ-111, -121 y -221 aumentó en 85, 97 y 177%, respectivamente, mientras que la proporción de POS potencial aumentó en 83, 187 y 222%, respectivamente. Para otro CBL TAG, el potencial SOS (C18: 0, C18: 1, C18: 0), YJ-121 y YJ-221 también mostraron una diferencia significativa en comparación con YJ0. De hecho, la proporción de SOS potencial había aumentado de 0,14% en YJ0 a 0,81% en YJ-121 y 0,64% en YJ-221, lo que significa un aumento de 354 y 476%, respectivamente (figura. 3). El aumento de los componentes potenciales de CBL fue de 1,63% en YJ0, 4,72% en YJ-111, 5,38% en YJ-121 y 4,82% en YJ-221. Esto sugiere que los genes del cacao son funcionales en *S. cerevisiae*.

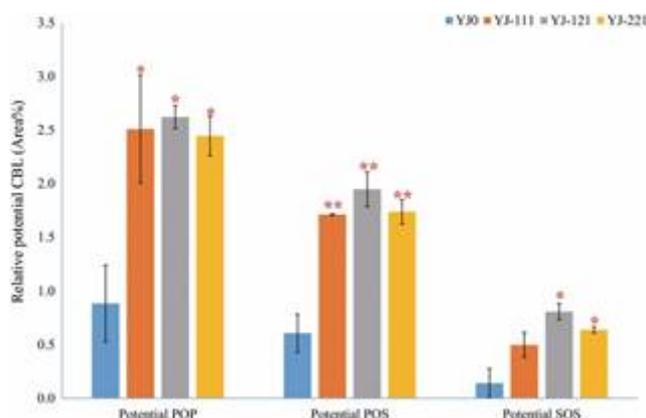


FIGURA 3.
Contenido potencial relativo de CBL de cepas de *S. cerevisiae*.
Wei et al., 2018

(figura. 3) Las barras de error representan la desviación estándar de dos réplicas biológicas. Los asteriscos (*) indican diferencias significativas (los valores se basan en pruebas de pares corregidas, para comparaciones múltiples), entre las cepas de levadura que albergan genes de cacao y YJ0. Los asteriscos indican $p < 0,05$; Los asteriscos dobles indican $p < 0,01$.

Con el fin de obtener información sobre las preferencias de sustrato de GPAT, LPAT y DGAT de *S. cerevisiae* en condiciones fisiológicas, se analizó la composición relativa de ácidos grasos de todos los TAG. Los principales ácidos grasos en los TAG en estas cuatro cepas de levadura fueron los ácidos grasos C16 y C18, lo que concuerda con los resultados de la composición total de ácidos grasos (figura. 4).

Generalmente, los ácidos grasos saturados aumentaron en los TAG de YJ-111, -121 y -221, lo que sería beneficioso para la biosíntesis de CBL y más ácidos grasos saturados que ácidos grasos insaturados en CB. En detalle, la proporción C16: 0 en los TAG de YJ-111, -121 y -221 se incrementó en comparación con YJ0, mientras que la proporción C16: 1 se redujo.

De las tres cepas de levadura modificadas genéticamente, solo YJ-221 exhibió una disminución significativa en la proporción C18: 1. Además, la proporción de ácidos grasos C18: 0 en los TAG aumentó para las 3 cepas de levadura que albergan genes de cacao, sin embargo, este aumento no fue significativo, lo que demuestra que es necesario seleccionar genes adicionales de GPAT, LPAT y DGAT de cacao para aumentar la incorporación de C18: 0 en los TAG.

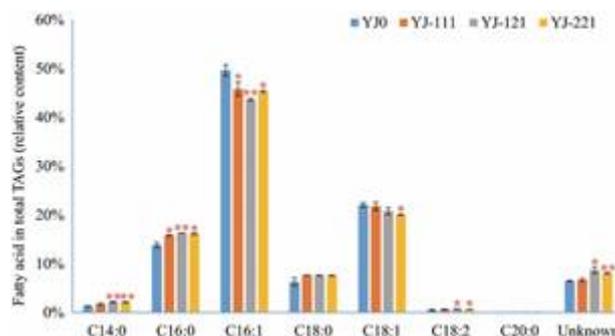


FIGURA 4

Composición relativa de ácidos grasos de los TAG de cada cepa de *S. cerevisiae*.

Wei et al., 2018

(Figura. 4) Las barras de error representan la desviación estándar de dos réplicas biológicas. Los asteriscos (*) indican diferencias significativas (los valores de p se basan en pruebas t pareadas corregidas para comparaciones múltiples) entre las cepas de levadura que albergan genes de cacao y YJ0. Los asteriscos indican $p < 0,05$; Los asteriscos dobles indican $p < 0.01$.

La comparación de cepas de levadura modificadas genéticamente YJ-111, YJ-121 e YJ-221 con YJ0, indicaron que la composición de lípidos y TAG de estas tres cepas de levadura que albergan genes de cacao eran diferentes de YJ0, lo que sugiere la expresión de algunos GPAT, LPAT y DGAT, que podrían aumentar la producción de TAG de levadura y las combinaciones de genes del cacao funcionaron en *S. cerevisiae*. La producción potencial de CBL de las tres cepas de levadura, especialmente la producción potencial de SOS aumentó drásticamente, lo que indica que los genes de cacao seleccionados son genes biosintéticos de MC candidatos muy prometedores.

Al expresar estos genes de cacao clonados y sintetizados en *S. cerevisiae*, se aumentó con éxito la producción total de ácidos grasos, TAG y de CBL en algunas de las cepas. En el mejor productor, el contenido potencial de CBL fue ocho veces mayor que de la cepa control, lo que sugiere que los genes del cacao expresados en esta cepa eran funcionales y podrían ser responsables de la biosíntesis de CBL, sugiriendo además que los genes GPAT y LPAT de cacao funcionaban en levadura.

Los perfiles de lípidos totales en las levaduras generalmente cubren TAG, ésteres (SE), ergosterol (ES), cardiolipina (CL), ácido fosfatídico (PA), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilinositol (PI), fosfatidilserina (PS) y fosfatidilcolina (PC). Aunque YJ-111 y YJ-121 no mostraron diferencias en la producción total de ácidos grasos en comparación con YJ0, YJ-111 mostró diferencias en comparación con YJ0 en la producción de ES, PE, PC y PS, YJ-121 mostró diferencias en comparación con YJ0 en los niveles de PE, PC y PS, lo que sugiere que los genes del cacao tienen un efecto sobre la producción de fosfolípidos de levadura. YJ-221, que mostró diferencias con YJ0 en el contenido total de ácidos grasos, también mostró diferencias en comparación con YJ0 en la producción de TAG (Figura. 5). De hecho, YJ-221 produjo 2,25 veces más TAG que YJ0. Aunque YJ-221 exhibió una acumulación mejorada de TAG, ningún otro lípido de YJ-221 mostró diferencias en comparación con YJ0 (Fig. 5). Además, mientras que el contenido de TAG comprendió el 37,2% de los lípidos totales en YJ0, los TAG representaron el 48,0, 56,3 y 60,3% de los lípidos totales en YJ-111, -121 y -221 (Figura. 5).

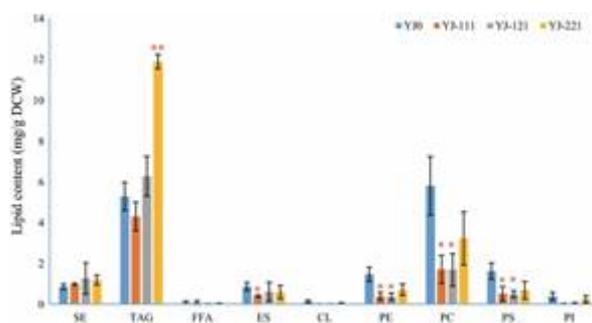


FIGURA 5
Producción total de lípidos en diferentes cepas de *S. cerevisiae*.
Wei et al., 2018

(Figura.5) SE ésteres de esterilo, FFA ácidos grasos libres, ES ergosterol, CL cardiopina, PE fosfatidiletanolamina, PC fosfatidilcolina, PS fosfatidilserina, PI fosfatidilinositol. En este estudio no se determinaron los ácidos fosfatídicos. Las barras de error representan la desviación estándar de dos réplicas biológicas. Los asteriscos (*) indican una diferencia significativa (los valores de p se basan en pares de pruebas corregidas para comparaciones múltiples) entre las cepas de levadura que albergan genes de cacao y YJ0. Los asteriscos indican $p < 0,05$; Los asteriscos dobles indican $p < 0.01$.

Discusión

La expresión del gen DGAT en *S. cerevisiae* puede aumentar la producción total de TAG. Además, la eliminación o sobreexpresión de GPAT o LPAT de *S. cerevisiae* puede alterar la producción de lípidos total y la composición. Al comparar las tres cepas de levadura modificadas genéticamente YJ-111, YJ-121 e YJ-221 con YJ0, mostraron que la composición de lípidos y TAG de estas tres cepas de levadura que albergan genes de cacao eran diferentes de YJ0, lo que sugiere que la expresión de algunos GPAT, LPAT y DGAT podrían aumentar la producción de TAG.

CONCLUSIONES

La biosíntesis de manteca de cacao utilizando *Saccharomyces Cerevisiae* es una forma prometedora de satisfacer la creciente demanda de este tipo de grasa. Esto se puede realizar gracias a la ingeniería metabólica, puesto que es la ciencia que ha permitido convertir *S. cerevisiae* de la fermentación alcohólica a la lipogénesis. Esta disciplina, en conjunto con otras más que son de carácter biológico, genético y metabólico que permitieron incrementar la productividad específica de los TAGs, mediante la introducción de enzimas eficientes de GPAT, LPATs y DGATs que codifican para la producción de POP, POS y en especial SOS, a partir de cultivos oleaginosos, los cuales se caracterizan por generar lípidos de alto nivel de forma natural.

Se pudo observar como la expresión de algunos genes de cacao en una cepa de *S. cerevisiae* de tipo silvestre aumentó la producción de manteca de cacao más de ocho veces, por lo cual, la expresión de genes biosintéticos lipídicos en una cepa de levadura *S. Cerevisiae* con capacidad de producción de alto nivel de C16 y C18, podría llegar a aumentar la producción de MC alrededor de 134 veces, lo que resulta muy prometedor y esperanzador para los estudios y análisis que se han realizado hasta ahora.

La utilización de *S. Cerevisiae* demuestra ser una alternativa rentable y adecuada para la producción de manteca de cacao, como se ha podido evidenciar. Cabe mencionar que esta levadura ha sido usada desde la antigüedad en numerosos procesos e investigaciones, lo que manifiesta su gran aplicabilidad y en la actualidad

se la puede emplear también como una fábrica de células para producir otros metabolitos vegetales de valor agregado mediante la ingeniería metabólica y la detección de datos del genoma de las plantas.

En conclusión, se aumentó la producción de CBL por *S. cerevisiae* mediante la expresión de genes seleccionados de *T. cacao* potencialmente implicado en la biosíntesis de CB, que podrían utilizarse en la producción de CBL de levadura en el futuro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Beg, M.S., Ahmad, S., Jan, K. y Bashir, K. Status (2017), supply chain and processing of Cocoa—a review. *Tendencias Food Sci Technol*, 66:108–16. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224416301868>
- Bergenholt, D., Gossing, M., Wei, Y., Siewers, V., y Nielsen, J. (2018). Modulación de la saturación y la longitud de la cadena de ácidos grasos en *Saccharomyces cerevisiae* para la producción de lípidos similares a la manteca de cacao. *Biotecnología y bioingeniería*, 115(4), 932–942. Recuperado de: <https://www.osti.gov/biblio/1537506-modulationsaturation-chain-length-fatty-acids-saccharomyces-cerevisiae-production-cocoabutter-like-lipids>
- Kolouchová, I., Maťátková, O., Sigler, K., Masák, J., Řezanka, T. (2016). Producción de ácido palmitoleico y linoleico en biomasa de levadura oleaginosa y no leaginosa. *Revista Internacional de Química Analítica*, 1-9. Recuperado de: <https://www.hindawi.com/journals/ijac/2016/7583684/>
- Wei, Y., Siewers, V., y Nielsen, J. (2017). Capacidad de producción de lípidos similares a la manteca de cacao de levaduras no oleaginosas y oleaginosas en condiciones de cultivo limitadas en nitrógeno. *Microbiología y biotecnología aplicadas*, 101(9), 3577–3585. Recuperado de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28168314/>
- Wei, Y., Bergenholt, D., Gossing, M., Siewers, V., y Nielsen, J. (2018). La expresión del gen del cacao en *Saccharomyces cerevisiae* mejora la producción de manteca de cacao. *Célula microbiana Factories*, 17(1), 1–11. Recuperado de: <https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/s129340180866-2>
- Wei, Y., Gossing, M., Bergenholt, D., Siewers, V., y Nielsen, J. (2017). Aumento de la producción de lípidos similares a la manteca de cacao de *Saccharomyces cerevisiae* mediante la expresión de genes de cacao seleccionados. *AMB Express*, 7(1), 34. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5293708/>
- Wang, M., Wei, Y., Ji, B., y Nielsen, J. (2020). Avances en la ingeniería metabólica de *Saccharomyces cerevisiae* para la producción equivalente de manteca de cacao. *Fronteras en bioingeniería y biotecnología*, 8, 594081. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7594527/>