

DEGRADACIÓN INTRACELULAR DE BIOPOLIMERO POLIHIDROXIBUTIRATO (PHB) EN *Azotobacter vinelandii*.

Déborah Yanajara, Guadalupe Espín, Josefina Guzmán, Soledad Moreno y Daniel Segura. Instituto de Biotecnología, UNAM. Apdo postal 510-3. Tel (777) 329-1629. yanajara@ibt.unam.mx

Palabras clave: *Depolimerasas, degradación, PHB.*

Introducción. Los polihidroxialcanoatos son polímeros lineales de hidroxiacilos sintetizados por bacterias en forma de gránulos como reserva de carbono y energía (fig 1). Estos compuestos poseen propiedades similares a los plásticos derivados del petróleo, con las ventajas de ser biodegradables, biocompatibles y de producirse a partir de fuentes renovables(1). El principal compuesto sintetizado por *A. vinelandii* es el PHB (fig. 1), el cual se utiliza para fabricación de productos ecológicos en países europeos. Debido al interés comercial de este compuesto, se ha estudiado ampliamente su síntesis, pero es escasa la información sobre la vía de degradación. El objetivo de este trabajo es identificar los genes que codifican para depolimerasas funcionales en *A. vinelandii* y determinar su papel en la movilización del PHB.

Metodología. Mediante un BLAST con secuencias de depolimerasas caracterizadas en otros organismos se buscaron ortólogos en el genoma de *A. vinelandii*. Los genes seleccionados se inactivaron por inserción de cassetes de resistencia a antibiótico y se construyeron mutantes para determinar la participación de sus productos génicos en la movilización del PHB. La inactivación de los genes se verificó con hibridación tipo Southern. El contenido de PHB se cuantificó por conversión a ácido crotónico y espectrofotometría. El peso molecular del polímero se determinó por HPLC.

Se determinaron las condiciones que favorecen la degradación intracelular de PHB. Tras 56 h en fase de acumulación, un cultivo fue lavado y transferido a un medio sin fuente de carbono y con sales de amonio, mientras que otro se dejó envejecer en el medio inicial. A las 139 h el cultivo envejecido degradó el 34% del polímero acumulado, mientras que el cultivo transferido movilizó el 70% del PHB almacenado inicialmente (fig. 2).

Se construyeron mutantes en los genes *Avin03910*, *Avin27080* y *Avin34810*. Se está estudiando el efecto de la inactivación de estas secuencias en la cantidad del polímero acumulado y su peso molecular. Así mismo se han clonado los genes *Avin27080* y *Avin34810* en el vector de expresión pET24a de *E. coli* para evaluar *in vitro* su actividad de depolimerización.

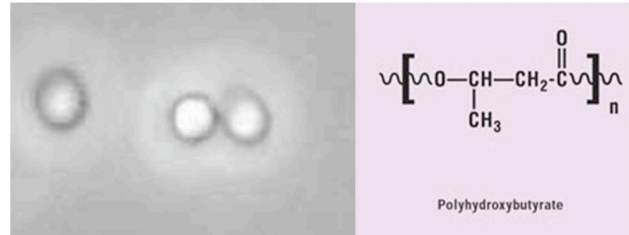


Figura 1. Gránulos en *A. vinelandii* y estructura básica del Polihidroxibutirato

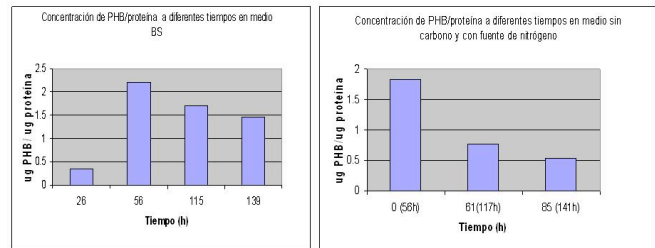


Fig. 1. Cuantificación de PHB en medio envejecido y medio sin carbono y con nitrógeno

Conclusiones. Las condiciones que favorecen la movilización del PHB son ausencia de fuente de carbono y presencia de fuente de nitrógeno (sales de amonio). Bajo éstas condiciones se estudiará el efecto de la inactivación de los genes arriba mencionados sobre la acumulación del polímero y su peso molecular. Estos datos y la comparación con la cepa silvestre se presentarán en el poster.

Agradecimiento. Este trabajo fue realizado con apoyo del donativo DGAPA - PAPIIT UNAM IN221809-3. Déborah Yanajara agradece la beca para estudios de maestría otorgada por el CONACyT.

Bibliografía.

1. Lenz, R. W., Marchessault, R. H. (2005). Bacterial polyesters: Biosynthesis, biodegradable plastics and biotechnology. *Biomacromol.* (6): 1-8