



MODIFICACIONES DEL METABOLISMO Y DE LOS SISTEMAS DE REGULACIÓN GENÉTICA DE *AZOTOBACTER VINELANDII* PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOPLÁSTICOS DEGRADABLES.

Daniel Segura González,

Departamento de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos. Apdo. Post. 510-3, CP. 62210, E-mail: daniel@ibt.unam.mx.

Palabras clave: plásticos biodegradables, biomateriales, polihidroxicanoatos.

Azotobacter vinelandii es una bacteria de suelo capaz de producir el poliéster polihidroxitirato (PHB), un polímero perteneciente a la familia de los polihidroxicanoatos (PHAs). Este poliéster se produce y acumula en el citoplasma de la bacteria en forma de gránulos intracelulares, y funciona como material de reserva de carbono y energía. Desde un punto de vista biotecnológico, el PHB y otros PHAs son interesantes, porque por sus propiedades termoplásticas se han utilizado para fabricar plásticos biodegradables (1). Además, son materiales biocompatibles, por lo que también se utilizan para generar productos con aplicaciones en medicina, como son prótesis y dispositivos para ingeniería de tejidos (2).

En esta plática se presentará una revisión de los avances alcanzados en el Instituto de Biotecnología de la UNAM en la investigación sobre la producción de PHAs en las siguientes áreas:

1.- Estudio de la genética de la síntesis de PHB. Hemos identificado numerosos sistemas de regulación genética que controlan la síntesis de PHB, entre ellos los sistemas de regulación global PTS^{Ntr} y el sistema de dos componentes GacS/GacA ligado al sistema de regulación postranscripcional RsmA/RsmZ. Esto ha permitido construir mutantes en reguladores negativos como RsmA y la proteína IIA^{Ntr} que muestran una producción mejorada de este poliéster (3).

2.- Modificaciones metabólicas que permiten aumentar la producción de PHB o que alteran la composición de los poliésteres producidos. En este sentido, la introducción de bloqueos metabólicos que afectan vías que compiten con la síntesis de PHB por los precursores metabólicos disponibles, ha permitido obtener mutantes sobreproductoras de PHB. Dos ejemplos se encuentran en la inactivación de la enzima anaplerótica piruvato carboxilasa y en enzimas de la biosíntesis del polisacárido extracelular alginato. Adicionalmente, la introducción de la enzima D-3-hidroxiacil-ACP:CoA aciltransferasa, nos ha permitido producir PHAs de composición diferente al incorporar intermediarios de vías metabólicas como la de síntesis *de novo* de ácidos grasos en la síntesis de los bioplásticos. Esto permite obtener materiales con propiedades físicas diversas y controlables.

3.- Identificación de nuevas proteínas adicionales a las enzimas biosintéticas, involucradas en el metabolismo de PHB. Mediante la identificación de las proteínas asociadas a los gránulos de PHB, y por inactivación de los genes correspondientes hemos encontrado nuevas proteínas participantes en el metabolismo de PHB. Tal es el caso de dos nuevas enzimas PHB depolimerasas que participan en la degradación del polímero.

El establecimiento de estrategias de cultivo en reactores usando algunas de las mutantes obtenidas, en colaboración con el Dr. Carlos Peña del mismo IBT, ha permitido lograr producciones mejoradas de alrededor de 30 gramos del polímero por litro de cultivo, lo que constituye un avance importante en el establecimiento de un proceso para la producción de estos materiales.

1. Chen, G. (2009). A microbial polyhydroxyalkanoates (PHA) based bio- and materials industry. *Chem. Soc. Rev.* 38: 2434–2446.

2. Zinn, M., Witholt, B. Egli, T. (2001). Occurrence, synthesis and medical application of bacterial polyhydroxyalkanoate. *Adv Drug Delivery Rev.* 53: 5–21.

3. García, A., Segura, D., Espin, G., Galindo, E., Castillo, T., Peña, C. (2014). High production of poly- β -hydroxybutyrate (PHB) by an *Azotobacter vinelandii* mutant altered in PHB regulation using a fed-batch fermentation process. *Biochem Eng J.* 82: 117-123.