



Caracterización fisiológica de *Acinetobacter* sp. ACE: de cepa contaminante a modelo de estudio.

Juan Carlos Sigala Alanis, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Cuajimalpa, Departamento de Procesos y Tecnología. Av. Vasco de Quiroga 4871, Col. Santa Fe, Del. Cuajimalpa, México D.F. C.P. 05300.

Tel 5814 6500 ext. 3871. e mail: jsigala@correo.cua.uam.mx

Brisa Suárez, Roberto Olivares, Álvaro Lara, Sylvie Le Borgne (Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Cuajimalpa). Alfredo Martínez (Instituto de Biotecnología, UNAM). Víctor González, Patricia Bustos, Rosa Santamaría. (Centro de Ciencias Genómicas, UNAM).

Palabras clave: Acinetobacter, acetato, detoxificadores biológicos.

El género *Acinetobacter* pertenece a la clase de las gammaproteobacterias, al orden *Pseudomonadales* y está compuesto por bacterias gram negativas, aerobias estrictas y de habitats variados que incluyen agua, suelo, alimentos y piel humana. Se les considera ubicuas en ambientes libres y nosocomiales, e incluye especies patógenas y no patógenas. El género *Acinetobacter* es relevante en tres ámbitos: el médico, el de biorremediación y el de la genética. *Acinetobacter baumannii* es la especie de mayor relevancia clínica como patógeno asociado a diversas enfermedades en pacientes inmunosuprimidos. Por otra parte, la especie no patógena *Acinetobacter baylyi* ADP1 presenta interés como modelo de estudio debido a sus capacidad para degradar aromáticos y a sus notables propiedades de transformación y recombinación genética. Hemos aislado del ambiente del laboratorio una cepa de *Acinetobacter* designada ACE que crece en sustratos gluconeogénicos como acetato y succinato pero es incapaz de crecer en fuentes de carbono comunes como glucosa, glicerol, xilosa, arabinosa o citrato. A diferencia de la cepa ADP1, ACE no emplea compuestos aromáticos como p-hidroxibenzoico o vainillínico como sustratos. Sin embargo, la cepa ACE crece a una velocidad específica (μ) inusualmente alta (0.9 h^{-1}) en medio mínimo con acetato como única fuente de carbono. Los parámetros cinéticos obtenidos de cultivos en biorreactor muestran que ACE cataboliza el acetato a mayor velocidad y de forma más eficiente que la cepa de referencia ADP1. Para contribuir a entender este comportamiento fisiológico, se realizó un análisis de balance de flujos (FBA) entre estas dos cepas y tomando como restricciones los datos experimentales de μ y velocidad específica de consumo de acetato de los cultivos en biorreactor. El modelo predice que la cepa ACE, en comparación con ADP1, presenta un incremento significativo en los flujos metabólicos de la parte baja del ciclo de los ácidos tricarboxílicos y en la transformación de oxaloacetato a fosfoenolpiruvato por la enzima Pck. En consecuencia, el modelo estima en ACE una reducción de casi el 50% en el flujo a través del ciclo del glioxalato respecto a ADP1. Esta información preliminar permitirá establecer hipótesis para entender cómo una cepa como ACE es capaz de utilizar una fuente de carbono limitada como lo es el acetato para crecer a altas velocidades y hacerlo de forma eficiente. Análisis de transcripción por RT-qPCR de genes clave en el catabolismo de acetato se efectuarán para complementar estos datos. Por otro lado, dadas las capacidades metabólicas mostradas por *A. baylyi* ADP1, se decidió explorar su desempeño como agente biológico detoxificante de hidrolizados de biomasa lignocelulósica. El desarrollo de procesos biotecnológicos en los que se empleen sustratos derivados de la hidrólisis de biomasa lignocelulósica constituyen una alternativa sustentable para la realización de fermentaciones de gran volumen. Estas materias primas deben ser pre-tratadas para poder extraer los hidratos de carbono que serán utilizados como sustrato por los microorganismos fermentativos. Sin embargo, algunos de los pre-tratamientos comúnmente empleados, como el de hidrólisis ácida a altas temperaturas, generan adicionalmente compuestos tóxicos indeseables como ácidos orgánicos, furanos y compuestos fenólicos que afectan significativamente la viabilidad y la capacidad de producción de los microorganismos. Por tal motivo, ha sido importante el desarrollo de estrategias de detoxificación de los hidrolizados, siendo el uso de agentes biológicos una opción promisoriosa aunque poco explorada hasta el momento. Hemos determinado que la cepa ADP1 es capaz de catabolizar y/o degradar simultáneamente compuestos inhibidores como los encontrados en hidrolizados de biomasa lignocelulósica (acetato, formato, p-hidroxibenzoato, vainillinato, furfural, hidroximetil furfural), sin catabolizar las pentosas (xilosa y arabinosa) que podrían ser empleadas como fuentes de carbono por los organismos fermentativos. Sin embargo, ADP1 cataboliza glucosa y se está trabajando actualmente en la modificación genética de esta cepa para evitar el consumo de esta hexosa. Se ha secuenciado el genoma completo de la cepa ACE y el análisis genómico indica que es posible que esta cepa aislada pertenezca a una especie nueva, lo cual tendrá que ser confirmado fenotípicamente de una manera más amplia. A diferencia de ADP1, la cepa ACE posee 6 plásmidos cuyos tamaños van de las 7 a las 179 kb y se ha establecido que su vecino más cercano es la cepa *A. lwoffii*. Finalmente, se han logrado reconstruir rutas metabólicas de interés biotecnológico como aquellas involucradas en el catabolismo de compuestos aromáticos que permiten plantear estrategias de modificación genética en la cepa ACE para poderla emplear también como agente detoxificante de hidrolizados de biomasa lignocelulósica.