



SINTESIS Y DEGRADACIÓN DEL POLI-3-HIDROXIBUTIRATO EN CULTIVOS DE *Azotobacter vinelandii*

Modesto Millán¹, Daniel Segura², Romina Rodríguez³ y Carlos Peña¹, Deptos. de ¹Ingeniería Celular y Biotecnología y ²Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, UNAM, Apdo. Post. 510-3, Cuernavaca, Mor., México, C.P. 62250. ³Depto. de Biología Molecular y Biotecnología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, Tercer Circuito Exterior, Apdo. Post. 70228, C.U. México, D.F., C.P. 04510. mmillanp@ibt.unam.mx

Palabras clave: poli-3-hidroxitirato (P3HB), *Azotobacter vinelandii*, síntesis, degradación

Introducción. El poli-3-hidroxitirato (P3HB) es un homopolímero de reserva de carbono y energía que se acumula en forma de gránulos intracelulares en bacterias como *Azotobacter vinelandii*. Está compuesto por monómeros de hidroxibutirato y se usa en el área biomédica por ser biodegradable, biocompatible, y bioabsorbible. Además, tiene propiedades similares a los plásticos petroquímicos como el polietileno y polipropileno¹. La acumulación del P3HB es un proceso que ocurre bajo condiciones de limitación de oxígeno y exceso de fuente de carbono. Durante este proceso participan simultáneamente enzimas de biosíntesis y degradación que determinan el peso molecular del biopolímero². Las aplicaciones del PHB están determinadas por sus propiedades termo-mecánicas, que dependen de su peso molecular^{3,4}. El objetivo de este trabajo fue estudiar los procesos de síntesis y degradación del P3HB en cultivos lote de *A. vinelandii* (cepa OP) en condiciones de limitación de oxígeno.

Metodología. Se realizaron cultivos en lote en un biorreactor, usando 2 L de medio PY, cuya composición (en g L⁻¹) fue: sacarosa (20), peptona (5) y extracto de levadura (3). Las condiciones del cultivo fueron: 29°C, 500 rpm y tensión de oxígeno disuelto (TOD) en el rango de 0.1-1.0 % de saturación. Se cuantificó el crecimiento celular, la producción de P3HB y su peso molecular, así como el consumo de sacarosa³. Los análisis enzimáticos se realizaron durante las fases exponencial de crecimiento y estacionaria del cultivo, de acuerdo a las técnicas reportadas previamente⁵.

Resultados. En todas las condiciones de cultivo evaluadas se observaron dos etapas: la primera, durante la fase exponencial de crecimiento (Fig. 1a), donde el peso molecular promedio (Mw) del biopolímero se mantuvo en 4,705 ± 155 y una segunda etapa, en donde el Mw disminuyó a valores de 3,660 ± 275 kDa (Fig. 1a), cuando el cultivo entró en la fase estacionaria. Los cambios en el peso molecular del P3HB están relacionados con los perfiles de actividad de la β-cetotiolasa (síntesis) y la P3HB depolimerasa (degradación) (Fig 1b). En la fase exponencial (12 h), la actividad β-cetotiolasa fue de 0.47 ± 0.05 μmol/min mg_{Prot} y la actividad depolimerasa fue de 4.51 ± 0.54 mg PHB/min mg_{Prot}, lo que favoreció la síntesis del P3HB de alto peso molecular. Por el contrario, en la fase estacionaria, la actividad β-cetotiolasa disminuyó (hasta

0.31 ± 0.07 μmol/min mg_{Prot}) y la depolimerasa aumentó (hasta 7.50 ± 1.2 mg PHB/min mg_{Prot}) lo que ocasionó la degradación del P3HB (Fig. 1b) y por consiguiente la disminución de su peso molecular.

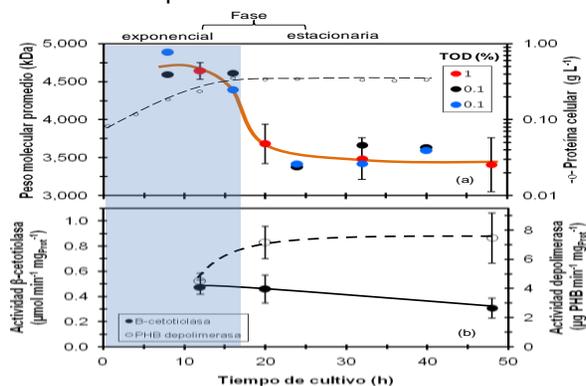


Fig. 1. Evolución del peso molecular promedio (a), actividad β-cetotiolasa (b) y P3HB depolimerasa (b) en cultivos lote de la cepa OP de *A. vinelandii*.

Se sabe que la falta de carbono en el cultivo, favorece la actividad de la P3HB depolimerasa²; sin embargo, durante la fase estacionaria, en todos los cultivos, la concentración de sacarosa (fuente de carbono) en el medio se mantuvo alrededor de 13 g L⁻¹. Hasta ahora, se desconoce qué señal medioambiental favoreció el incremento de la actividad depolimerasa.

Conclusiones. El peso molecular del P3HB generado por *A. vinelandii* estuvo asociado a la etapa fisiológica del cultivo, observándose una mayor degradación en la fase estacionaria, como consecuencia de un incremento en la actividad depolimerasa.

Agradecimiento. Los autores agradecen el apoyo económico de la DGAPA-PAPIIT UNAM (IT100513) y al Conacyt por la beca otorgada a Modesto Millán (no. becario: 278247).

Bibliografía.

1. Leong Y, Show P, Ooi C, Ling T, Lan J. (2014). *J. Biotechnol.* 180: 52-65.
2. Peña C, Castillo T, García A, Millán M, Segura D. (2014). *Microb. Biotechnol.* 7(4): 278-293
3. Peña C, López S, García A, Espín G, Romo-Urbe A, Segura D. (2014). *Ann. Microbiol.* 64: 39-47.
4. Domínguez-Díaz M, Meneses-Acosta A, Romo-Urbe A, Peña C, Segura D, Espín G. (2015). *Eur. Polym. J.* 63: 101-112.
5. Volova T, Zhila N, Kalacheva G, Brigham C, Sinskey A. (2013). *Res. Microbiol.* 164: 164-171.