



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



La filogenómica como herramienta para entender la evolución de la función enzimática: el caso de las isomerasas que participan en la biosíntesis de histidina y triptófano.

Lianet Noda-García, Vilmos Fülöp y Francisco Barona-Gómez.

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N., Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad. Irapuato, Guanajuato C.P. 36821 (lnoda@ira.cinvestav.mx)

Palabras clave: Evolución, Filogenómica, Biocatálisis.

Introducción. La falta del gen *trpF* (biosíntesis de triptófano) en el genoma de ciertos actinomicetos (*Streptomyces coelicolor* y *Mycobacterium tuberculosis*), llevó al descubrimiento de un homólogo de *hisA* (biosíntesis de histidina), capaz de llevar a cabo ambas actividades. Este homólogo fue renombrado PriA (del inglés phosphoribosyl isomerase), nombre que refleja su actividad bi-funcional como isomerasa, sobre los sustratos PRA y ProFAR, en sus actividades de TrpF y HisA, respectivamente. Interesantemente, en estos organismos, los genes de las rutas biosintéticas de los aminoácidos triptófano e histidina se encuentran conservados en el mismo cluster, formando un bloque de sintenia localizado en el centro del genoma.¹

Metodología. Haciendo uso de herramientas filogenómicas se analizó el contexto genómico, así como la historia evolutiva de PriA. Esto nos permitió encontrar genomas que contienen enzimas cercanas en secuencia a PriA, pero divergentes en el contexto genómico y en su función catalítica. Dichos homólogos fueron caracterizados enzimática y estructuralmente; y sometidos a evolución semi-racional con la finalidad de cambiar su actividad.

Resultados. La publicación de más de 150 genomas de actinomicetos nos permitió detectar la existencia del cluster *his/trp* como un elemento común para todos los miembros de este grupo. La bi-funcionalidad de PriA ha sido comprobada, incluso en la bifidobacterias, organismos que divergieron temprano en este clado (Fig 1-A). Sin embargo, a pesar de la existencia de un cluster que agrupa ambas rutas biosintéticas, el 20% de los genomas analizados contiene otra copia del gen *trpF*. El 10% corresponde a organismos de diferentes géneros, tales como *Rhodococcus* y *Arthobacter*, cuyo gen *trpF* no se encuentra asociado a ningún contexto genómico. El 10% restante corresponde a organismos del género *Corynebacterium*, cuyo gen *trpF* está presente en un operón de biosíntesis de triptófano, que ha sido adquirido mediante transferencia horizontal, de algún organismo del linaje entérico de las gammaproteobacterias.² Los eventos evolutivos detectados por filogenómica y ejemplificados en la Figura 1, han sido la base para detectar diferencias en la actividad catalítica de los homólogos de PriA de estas bacterias. En el caso donde PriA co-existe con el gen *trpF* “solo”, su actividad de

ProFAR isomerasa está intacta y no así la de PRA isomerasa. Estos homólogos fueron renombrados “HisA –promiscua” (Fig 1-B). En el caso de las corinebacterias, donde *trpF* está presente en un operón completo y regulado de biosíntesis de triptófano, la actividad de PRA isomerasa ha sido perdida completamente. Estos homólogos fueron renombrados “sub-HisA” (Fig 1-C).

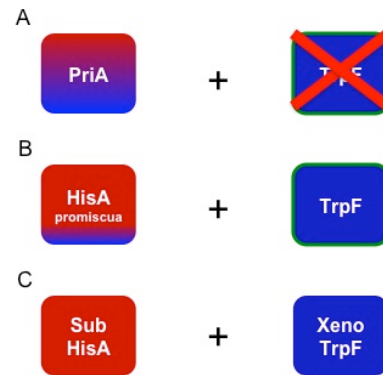


Fig. 1. Evolución de los homólogos PriA en los actinomicetos.

En nuestro grupo hemos cristalizado homólogos de PriA y sub-HisA. Debido a que las enzimas sub-HisA (monofuncional) y PriA (bi-funcional) existen dentro del mismo género, la identidad de secuencia entre ellas es muy alta (80%). La existencia de las estructuras cristalográficas, aunado al análisis de la secuencia, y la historia evolutiva de esta familia de enzimas, facilitó el diseño de experimentos de evolución semi-racional; mismo que resultó en la generación de enzimas bi-funcionales a partir de una enzima mono-funcional.

Conclusiones. El análisis filogenómico de la familia de enzimas $(\beta\alpha)_8$ isomerasas involucradas en la biosíntesis de histidina y triptófano en los actinomicetos nos ha permitido evolucionar una nueva actividad enzimática en la enzima sub-HisA. En el proceso hemos comprendido que la historia evolutiva de las enzimas es primordial para llevar a cabo un experimento exitoso de evolución de la catálisis.

Bibliografía.

1. Barona-Gomez F, Hodgson DA. (2003). *EMBO Rep.* 4(3):296-300.
2. Xie G, Keyhani NO, Bonner CA, Jensen RA. (2003). *Microbiol Mol Biol Rev.* 67(3):303-42.