

## ANÁLISIS DE LA ESTRUCTURA, AFINIDAD POR SUSTRATOS POLIMÉRICOS Y EXPRESIÓN DE CUTINASAS CODIFICADAS EN EL GENOMA DEL HONGO DEGRADADOR DE POLIURETANO *Cladosporium tenuissimum* A3.I.1

Herminia Loza-Tavera<sup>1</sup>, Itzayana Chavarría Quintanilla<sup>1</sup>, Octavio Pérez Vargas<sup>1</sup>, Ana Paulina García Bernal<sup>1</sup>, Martín González Andrade<sup>2</sup>, Lilianha Domínguez Malfavón<sup>1</sup>, Ayixon Sánchez Reyes<sup>3</sup>, Martín Vargas Suárez<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Depto. de Bioquímica, Fac. Química, UNAM. <sup>2</sup>Depto. de Bioquímica, Fac. Medicina, UNAM, Ave. Universidad 3000, Col. UNAM, CDMX 04510, México. <sup>3</sup>Investigador por México, CONACyT, Instituto de Biotecnología, UNAM, Ave. Universidad 2001, Col. Chamilpa, Cuernavaca 62210, Morelos, México. hlozat@unam.mx.

*Palabras clave: biodegradación, poliuretano, cutinasas*

**Introducción.** El poliuretano (PU) es un polímero sintetizado a partir de polioles e isocianatos, ampliamente utilizado en espumas de colchones, aislantes térmicos, fibras y barnices, es recalcitrante y de escaso reciclaje. Se han reportado hongos con capacidad de degradar PU, por lo que la biodegradación puede ser una alternativa para su reciclaje. Hemos aislado al hongo *C. tenuissimum* A3.I.1 por su capacidad de crecer en el barniz de poliéster(PS)-PU Impranil como única fuente de carbono y de degradar espumas de poliéter(PE)-PU de colchones (1) e identificamos una cutinasa extracelular con capacidad de degradar Impranil (2). Las cutinasas son enzimas de importancia biotecnológica que catalizan reacciones de hidrólisis, esterificación y aminólisis, e incluso algunas tienen actividad degradativa sobre PET (3) y PU (4).

El objetivo de este trabajo fue identificar los genes que codifican proteínas de la familia de las cutinasas en el genoma de *C. tenuissimum* A3.I.1, modelar sus estructuras tridimensionales y calcular sus afinidades para distintos polímeros sintéticos, así como analizar la expresión durante el crecimiento en Impranil.

**Metodología.** Secuenciar el genoma de A3.I.1 con Illumina, PacBio y Hi-C. Identificar los genes que codifican cutinasas empleando el Modelo Oculto de Markov para la familia de las cutinasas (PF01083.hmm) (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>) y realizar un análisis filogenético. Modelar con AlphaFold2 las cutinasas codificadas en el genoma de A3.I.1. y comparar con cutinasas capaces de degradar polímeros sintéticos. Determinar puentes disulfuro en las proteínas por DiANNA (<http://clavius.bc.edu/~clotelab/DiANNA>). Calcular la afinidad de diversos sustratos a las cutinasas utilizando acoplamiento molecular (Autodock4). Analizar la expresión diferencial de genes de cutinasas durante el crecimiento de A3.I.1 en Impranil (RNASeq).

**Resultados.** El genoma haploide de *C. tenuissimum* A3.I.1 tiene 33.64 Mbp con 53% GC y está organizado en 19 cromosomas. Codifica 13 genes de proteínas de la familia de las cutinasas: siete cutinasas *sensu stricto* y seis acetil xilano estererasas (AXE). El modelado estructural mostró que las cutinasas de A3.I.1 son semejantes a las reportadas con capacidad de degradar polímeros sintéticos. Específicamente, la cutinasa de A3.I.1 degradadora de Impranil codificada en el gen C6962, presentó tres puentes disulfuro y un surco continuo y profundo semejante a la cutinasa de *Aspergillus oryzae* (3GBS) degradadora de polímeros sintéticos (6). No se han reportado AXEs con capacidad de degradar polímeros sintéticos. Las afinidades de algunas cutinasas y AXEs de A3.I.1 para ciertos sustratos poliméricos fueron mayores que las de las cutinasas degradadoras de polímeros sintéticos reportadas. El análisis de expresión genética mostró que cuatro cutinasas, entre ellas la C6962, y una AXE se sobre-expresaron en Impranil.

**Conclusiones.** El genoma de *C. tenuissimum* A3.I.1 codifica siete cutinasas y seis AXEs. La cutinasa con actividad degradativa sobre PS-PU está codificada en el gen 6962. Algunas de las cutinasas de A3.I.1 mostraron mayor afinidad por polímeros sintéticos que las ya reportadas. Cuatro genes de cutinasas y uno de AXE se sobre-expresan en Impranil.

**Agradecimientos.** A DGAPA-PAPIIT-UNAM IN227317, IN227620, IN225123; Programa Presupuestario F003 CONACyT 101737 y PAIP-FQ-UNAM (5000-9117). ICHQ, OPV y APGB agradecen a CONACyT por sus becas de Maestría en CBq-UNAM.

**Bibliografía.** 1) Álvarez Barragán *et al.*, (2016a) AEM 82:5225. 2) Álvarez Barragán J (2016b) Tesis M. C. Bioquímicas, UNAM. 3) de Castro *et al.*, (2017) Biochem Eng J 124:64. 4) Di Bisceglie *et al.* (2022) Polymers 14:411. 5) Chavarría Quintanilla I (2021) Tesis M. C. Bioquímicas, UNAM. 6) Liu *et al.*, (2009) J Am Chem Soc 131:15711.