

BIOCATALIZADORES INÉDITOS PARA EL APROVECHAMIENTO DE ALMIDÓN: DESDE LAS AGUAS TERMALES HASTA LA INGENIERÍA DE PROTEÍNAS

Sara G. Centeno-Leija

Laboratorio de Agrobiotecnología. Universidad de Colima
scenteno0@ucol.mx

Las cicloglucanotransferasas (CGTasas) poseen la capacidad única de catalizar la ciclación de α -(1,4)-glucooligosacáridos de almidón para formar ciclodextrinas (CDs). El 80% de las CGTasas reportadas pertenecen al sobreexplorado género *Bacillus*, con un arquetipo estructural de 5 dominios estructurales (A-E); mientras que sólo se han caracterizado 2 CGTasas termorresistentes bacterianas, a pesar de su evidente valor industrial. Mediante minería de datos de metagenomas de nichos termófilos, identificamos un clúster de genes relacionado con el procesamiento de α -glucanos, conservado en 27 especies de *Caldanaerobacter* y *Thermoanaerobacter*. Cada clúster contiene la secuencia de una CGTasa atípica de solo 3 dominios (ABC), que se agrupan en un clado independiente al de cualquier CGTasa reportada. La forma recombinante de una de ellas (CldC1), demostró actividad hasta los 100°C en un intervalo de pH ácido (4-5). En condiciones óptimas (80°C/pH 4), CldC1 mostró modesta actividad de ciclación (28 U/mg), alta actividad de hidrólisis (135 U/mg) y discreta actividad de desproporción (10 U/mg), transformando el almidón en CDs, azúcares fermentables y oligosacáridos lineales, respectivamente. La estructura cristalográfica de CldC1 a 1.67 Å, sugirió que la preferencia hidrolítica obedece a la ausencia de los dominios típicos D-E, así como a la presencia de los residuos Phe²¹⁶/Ser²⁰⁰/Met²⁸¹ en el sitio activo, que podrían estar aumentando el tiempo de residencia del sustrato, favoreciendo su hidrólisis. En efecto, la quimera CldC1-DE demostró que la adición de dominios, disminuye 2 veces la actividad de hidrólisis y mejora 1.5 veces la actividad de ciclación (40.4 U/mg). Más aún, la triple mutante F216Y/S200G/M281F de CldC1, logró aumentar 6 veces el rendimiento de producción de CDs. Estos datos permiten confirmar la existencia de un grupo inédito de CGTasas termófilas de 3 dominios, cuyo sentido funcional-evolutivo, restó especificidad a la actividad de ciclación, favoreciendo la hidrólisis. Su descubrimiento y factibilidad de optimización, abre la oportunidad de continuar estudiándolas como biocatalizadores termorresistentes para el aprovechamiento industrial del almidón.