



## EL PAPEL DE PhaP1 EN LA SÍNTESIS DE BIOPLÁSTICO POR *Azospirillum brasilense* Sp7

Luis Javier Martínez Morales<sup>1</sup>, María de los Ángeles Martínez Martínez<sup>1</sup>, Lucía Soto Urzúa<sup>1</sup>, Bertha González Pedrajo<sup>2</sup> y Georges Dreyfus<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, BUAP., Puebla, México. <sup>2</sup>Departamento de Genética Molecular, Instituto de Fisiología Celular, UNAM. CDMX. México.

[luis.martinez@correo.buap.mx](mailto:luis.martinez@correo.buap.mx)

**Palabras clave:** Fasinias, Polihidroxibutirato, *Azospirillum brasilense* Sp7.

**Introducción.** El Polihidroxibutiro (PHB) es uno de los bioplásticos con mayor potencial para reemplazar el uso de los plásticos petroquímicos. *Azospirillum brasilense* Sp7 produce PHB en un 80 % respecto a su peso seco. La síntesis de PHB por *A. brasilense* requiere de un exceso de fuente de carbono y limitada fuente de nitrógeno (1) con tres reacciones enzimáticas secuenciales, condensación de acetyl-CoA, reducción de acetoacetyl-CoA y polimerización de 3-hidroxibutirato (2). Una vez sintetizado el polímero es almacenado en forma de gránulos citoplasmáticos recubiertos por proteínas GAP. Entre estas destacan, las enzimas PHB polimerasas (PhbC) y PHB depolimerasas (PhbZ) (implicadas en su síntesis y degradación, respectivamente), además de proteínas fasinias (PhaP) y reguladores (PhaR). Las fasinias regulan el número y tamaño de los gránulos de PHB mientras que los reguladores controlan la expresión de las fasinias. A la fecha no hay reporte alguno sobre la dinámica de las fasinias en *A. brasilense* Sp7, por lo que, el objetivo del presente fue analizar la función de la fasina PhaP1 en la estructura del gránulo de PHB y en la acumulación del polímero.

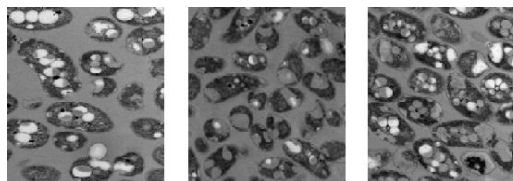
**Metodología.** Las proteínas conteniendo el dominio Phasin\_2 (PF09362) fueron analizadas utilizando las bases de datos PFAM, NCBI y SMART. La delección del gen *phaP1* (AMK59\_RS17065) se realizó según lo reportado (3). La mutante se denominó *A. brasilense* 57 y la mutante con función restaurada *A. brasilense* 5712 (complementada). La cuantificación del polímero se realizó como en estudios previos (4 y 5) utilizando relaciones C/N de 30, 60 y 90 en dos condiciones, una de recambio y otra de limitación de O<sub>2</sub>. La morfología de los gránulos de PHB se analizó mediante TEM.

**Resultados.** Los análisis bioinformáticos permitieron encontrar 6 proteínas que contienen un dominio Phasin\_2. Los genes que codifican a PhaP1 y PhaP6 se ubican en el plásmido 1 y el resto (PhaP2 – PhaP5) en el cromosoma de *A. brasilense* Sp7. Las características de las proteínas se enlistan en la Tabla 1. El gen de la proteína PhaP1 fue deletado y se analizó la morfología del gránulo de PHB (Fig. 1), así como su posible función en la acumulación del polímero (Fig. 2).

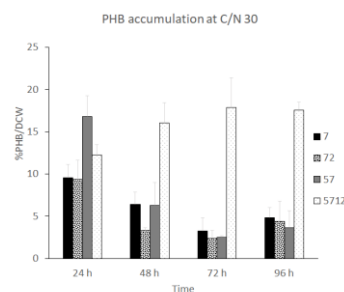
**Tabla 1.** Características generales de las fasinias de *A. brasilense* Sp7.

Fasina	e-value	Peso molecular <sup>1</sup>
PhaP1 (AMK58_RS17065)	4.56e-15	15.23
PhaP2 (AMK58_RS04265)	3.59e-14	16.98
PhaP3 (AMK58_RS04270)	3.89e-12	18.57
PhaP4 (AMK58_RS07520)	4.61e-10	20.37
PhaP5 (AMK58_RS13850)	6.20e-03	18.34
PhaP6 (AMK58_RS20955)	3.42e-03	28.84

<sup>1</sup> KDa



**Fig. 1.** Micrografías TEM de los gránulos de PHB. De izquierda a derecha: *A. brasilense* Sp7 (WT), mutante (*A. brasilense* 57) y complementada (*A. brasilense* 5712).



**Fig. 2.** Acumulación de PHB por *A. brasilense* WT (7), mutante (57) y mutante complementada (5712).

**Conclusiones.** PhaP1 en *A. brasilense* controla en número y tamaño de los gránulos de PHB, además de incrementar la síntesis de polímero a tiempos cortos.

### Bibliografía.

1. Tal & Okon. (1985). *Can J Microbiol* 31: 608-613.
2. Madison LL & Huisman GW. (1999). *Microbiol Mol Biol Rev* 63:21-53.
3. Mishra MN *et al.* (2011). *Microbiology* 157:988-999.
4. Hahn *et al.* (1994). *Biotechnol Bioeng* 44(2), 256-261.
5. Law & Sleepecky (1963). *J. Bacteriol* 82(1):33-6.

