

Bioadhesivos: La transición hacia los compuestos bio-basados

Gustavo Zamudio^{1*}, Guillermo Gosset², Andrea Sabido-Ramos³,

¹Licenciatura en Ingeniería Biológica. Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa. Av. Vasco de Quiroga 4871, Santa Fe Cuajimalpa, 05348 Ciudad de México, CDMX

²Instituto de Biotecnología. Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis. Av. Universidad 2001, Chamilpa, 62210 Cuernavaca, Morelos

³Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa. Departamento de Procesos y Tecnología. Av. Vasco de Quiroga 4871, Santa Fe Cuajimalpa, 05348 Ciudad de México, CDMX

asabido@correo.cua.uam.mx

Resumen.

El desarrollo y descubrimiento de nuevas biomoléculas con propiedades funcionales como reemplazo para aquellas producidas a partir de compuestos fósiles ha causado un gran interés en los últimos años. Esto debido a las implicaciones y regulaciones ambientales que día a día son más estrictas y al cambio de paradigma que se busca hacia un desarrollo más sustentable para las generaciones subsecuentes. En la industria de los bioadhesivos se ha tenido un crecimiento importante gracias al descubrimiento de nuevas moléculas biológicas con propiedades adhesivas que pueden ser utilizadas en sistemas biológicos gracias a las propiedades de biocompatibilidad y biodegradabilidad que éstas presentan. También se ha logrado funcionalizar materiales considerados como residuos provenientes de distintas industrias para desarrollar su uso como potenciales bioadhesivos. Por su parte, el uso de herramientas moleculares y técnicas de ingeniería genética han permitido producir algunas proteínas con propiedades adhesivas de manera heteróloga en microorganismos como *Escherichia coli* con el objetivo de estudiar, caracterizar, y potencialmente producir bioadhesivos basados en proteínas adhesivas provenientes de animales como los percebes y moluscos.

Palabras clave: Bioadhesivos, Proteínas recombinantes, Ingeniería genética, Moluscos, Percebes.

Abstract

The development and discovery of new functional biomolecules as a replacement for those produced from fossil compounds has gained interest over the last few years. This is related to the increase on strict environmental regulations and to the new paradigm related to more sustainable developments for the new generations. The bioadhesives industry has become larger with the discovery of new natural adhesive molecules that can be applied in biological systems as result of their biocompatibility and biodegradability properties. Also, some materials considered as non-desired byproducts in many industries have been functionalized to improve their potential as bioadhesives. Otherwise, the use of molecular tools and genetic engineering techniques has allowed scientist to produce adhesive proteins from animals like mussels and barnacles in genetically modified microorganisms such as *Escherichia coli*, with the objective of characterizing, studying and applying them as potential bioadhesives.

Key words: Bioadhesives, Recombinant proteins, Genetic engineering, Mussels, Barnacles.

Introducción

Los adhesivos y sus implicaciones ambientales.

Producción y propiedades

Los adhesivos convencionales como el acetato de polivinilo, poliuretano, resinas de fenol-formaldehído (PF), urea-formaldehído (UF), melamina-formaldehído (MF) entre otros, son sintetizados por procesos químicos que están basados en compuestos tóxicos como el di-isocianato de difenilmetano (MDI), di-isocianato de tolueno (TDI), formaldehído, fenol, urea, melamina y algunos compuestos orgánicos volátiles (VOCs) que ofrecen un alto costo-beneficio para la industria debido a las propiedades mecánicas, estabilidad térmica, rendimientos de enlace y resistencia al agua, comparadas con otros tipos de adhesivos (Jivkov, 2013). Estas propiedades son de suma importancia a la hora de desarrollar y evaluar la viabilidad que tiene un adhesivo bajo distintas circunstancias y depende del objetivo final del mismo, es decir, el sitio en el cual será aplicado.

Problemática y regulaciones.

Las formulaciones convencionales de adhesivos basados en compuestos como el formaldehído son un claro ejemplo de estos compuestos tóxicos considerados como carcinogénicos (Ferdosian et al., 2017), pues existe evidencia del desarrollo de cáncer de nasofaringe, nasal y leucemia debido a largas exposiciones a este aldehído (IARC, 2006).

Esta evidencia ha causado una gran preocupación relacionada con el uso de estos compuestos en espacios cerrados, particularmente por vapores desprendidos de los adhesivos cuyo mercado es el uso doméstico.

Durante los últimos años, las regulaciones ambientales han sido cada vez más estrictas con respecto a la producción de compuestos basados en fuentes fósiles y a las emisiones que generan estas industrias. Es por esto que ha surgido un gran interés en los adhesivos de origen biológico (bioadhesivos) como reemplazo a los provenientes de fuentes fósiles.

Mercado.

El mercado de los adhesivos se ha mantenido en crecimiento durante las últimas décadas debido a sus distintas aplicaciones. Por ejemplo, la producción europea de madera contrachapada (plywood), utilizada para la construcción de viviendas y edificaciones, la cual utiliza adhesivos basados en compuestos tóxicos durante la producción de las láminas finales, tuvo un crecimiento del 5.3 % tan solo en el año 2016, produciendo poco menos de 4.9 millones de m³ (Antov et al., 2020). Se espera que para el año 2025 el mercado global de adhesivos alcance los 82.4 billones de dólares, teniendo aplicaciones en múltiples industrias como son la construcción, la producción de automóviles, empaquetado y ensamblado, entre otros. Durante los últimos años se ha observado un incremento importante en la investigación y desarrollo de bioadhesivos relacionada con las nuevas políticas ambientales que prometen un crecimiento en la demanda de este tipo de adhesivos en un futuro cercano (Grandviewresearch, 2019).

Los bioadhesivos

¿Qué son los bioadhesivos?

Los bioadhesivos son aquellos polímeros de origen biológico que presentan propiedades de adhesión y cohesión bajo ciertas condiciones de temperatura, humedad, y superficies. Según la European Biomass Industry Association, un producto "bio-basado" es aquel que está compuesto en su totalidad o parcialmente por materiales de origen biológico, excluyendo aquellos embebidos en formaciones geológicas o fosilizados.

Durante los últimos años, el desarrollo de bioadhesivos o adhesivos bio-basados se ha incrementado de manera considerable de tal modo que se han explorado distintos materiales como la lignina, almidón, proteínas de origen vegetal, taninos, aceites vegetales, proteínas de moluscos (Hwang et al., 2004) y percebes (Urushida et al., 2007), entre otros (Ferdosian et al., 2017), con la finalidad de obtener sustancias capaces de igualar las propiedades mecánicas de estabilidad

térmica, rendimientos de enlace (resistencia y tipos de enlaces químicos entre el adhesivo y la superficie) y resistencia al agua, que ofrecen los adhesivos tradicionales. Ahora bien, existen productos cuya formulación está basada principalmente en compuestos químicos y son considerados como “bioadhesivos” debido a su implementación en el área médica y farmacéutica, sin embargo, de acuerdo a lo mencionado arriba, no se trata de materiales con un origen biológico.

Los adhesivos utilizados en el ámbito médico pueden dividirse en dos categorías; internos y externos, los cuales deben cumplir con ciertas características para poder ser aplicados tanto en la superficie de la piel, como en el interior del cuerpo humano.

Bioadhesivos internos.

Este tipo de bioadhesivos deben cumplir con al menos dos características indispensables: deben ser solubles y capaces de polimerizar en condiciones acuosas, esto debido a las condiciones internas del cuerpo humano (Zhu et al., 2018). Sin embargo, el rendimiento de adhesión, el cual se define como la suma de las fuerzas de adhesión y cohesión, es uno de los parámetros más importantes a la hora de diseñar un adhesivo. Existen estudios que buscan encontrar compuestos químicos que, dependiendo de sus grupos funcionales, se pueda encontrar un balance entre estas dos fuerzas (Liu et al., 2017).

Otro aspecto importante a considerar es el grado de penetración del bioadhesivo en la superficie del tejido, ya que, a mayor área de contacto entre estos dos componentes, mejor será la adhesión (Florence et al., 2014).

Además de esto, existen otros factores a considerar como la toxicidad, que se define como el grado en el cual una sustancia puede causar daño en un organismo en sus distintos niveles celulares de organización (citotoxicidad y hepatotoxicidad) (Strang et al., 2018), biodegradabilidad, en la cual el material debe ser degradado vía hidrólisis enzimática a partir de la tercer semana después de la operación, con esto se busca evitar cirugías

adicionales para retirar puntos y suturas (Zhang et al., 2013), y propiedades mecánicas y físicas como buena fluidez, que facilita la aplicación y aumenta el contacto entre las superficies (Mehdizadeh et al., 2013), flexibilidad similar a los tejidos en los cuales se va a aplicar (elasticidad), entre otros (Zhu et al., 2017).

Bioadhesivos externos.

Los bioadhesivos externos son utilizados para tratamiento de heridas, trasplantes de piel y cirugías cosméticas (Zhu et al., 2018). Existen compuestos aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) basados en cianoacrilatos que aún presentan ciertas desventajas como el nivel de toxicidad relacionado con el formaldehído que es producido al hidrolizar estas moléculas. Además de la toxicidad, se ha demostrado que algunos de los productos de esta hidrólisis pueden ser carcinogénicos, causar necrosis tisular, entre otros (Lee et al., 2013, Lee et al., 2015).

Adhesivos actuales en el mercado

Actualmente, se encuentran a la venta bioadhesivos aprobados por la FDA principalmente en Estados Unidos que pueden ser adquiridos en establecimientos especializados. Como se comentó previamente, algunos de estos bioadhesivos presentan ciertas desventajas ya que pueden causar daños a la salud a largo plazo. En la tabla 1 se encuentra una recopilación de los bioadhesivos presentes en el mercado, aplicados principalmente en la industria médica, los cuales muestran ventajas como una rápida polimerización, facilidad de uso y precios relativamente bajos.

Aún habiendo sido aprobados para su comercialización, estos bioadhesivos exhiben muchas desventajas, entre las cuales destaca la polimerización exotérmica; que puede causar daños en el tejido que se aplica por el calor generado, procesos de degradación prolongados que están acompañados de la liberación de compuestos potencialmente tóxicos, reacciones alérgicas, entre otras (Mehdizadeh et al., 2013).

Artículos

Tabla 1. Bioadhesivos disponibles en el mercado.

Bioadhesivos	Compuesto químico	Nombre comercial	Aplicaciones	Farmacéutica	Referencia
Cianoacrilato	2-octil cianoacrilato	Dermabond	-Bordes de incisiones quirúrgicas	Ethicon Inc. (Johnson & Johnson Co).	Mizrahi et al., 2011 Shalaby et al., 2003 Ryan et al., 2004
			-Complemento para suturas		Leggat et al., 2004
			-Cierre de incisiones cutáneas simples	Covidien Inc.	
	n-butil-2-cianoacrilato	Indermil	-Barrera microbiana	B. Braun	
		Histoacryl			
Albúmina y glutaraldehído	Albúmina de suero bovino (BSA) y 10 % de glutaraldehído	BioGlue	-Complemento para suturas y grapas	CryoLife Inc.	Otani et al., 1998 Nakayama et al., 1995
Fibrina	Fibrinógeno y trombina	Tisseel	-Complemento de cirugías complejas	Baxter Inc.	Quinn et al., 2005 Brennan, 1991 Sierra, 1993 Laitakari et al., 1989
			-Complemento para el cierre de colostomía	Ethicon Inc. (Johnson & Johnson Co).	Gauthier et al., 1989 Albes et al., 1993
		Cryoseal system	-Complemento de curación en superficie del hígado	Thermogénesis Corp.	

Fuentes naturales de bioadhesivos.

La gran mayoría de los bioadhesivos comerciales podrían ser mejorados, e incluso reemplazados por nuevos productos biotecnológicos bio-basados aprovechando distintos materiales que provengan de fuentes renovables y adhesivos naturales como aquellos excretados por ciertos animales. Es por esto que diferentes grupos de investigación han comenzado a probar nuevas propuestas biotecnológicas con la finalidad de mejorar y potencialmente reemplazar los productos adhesivos que actualmente se comercializan en el mercado.

Lignina.

La lignina representa uno de los polímeros naturales más abundantes en el planeta, pues forma parte de la estructura celular de plantas, algunos insectos y algas, estando presente en la pared de las células que constituyen a dichos organismos. Por su parte, la gran mayoría de los residuos agroindustriales contiene una cantidad importante de lignina, de la

cual, aproximadamente solo el 10 % es aprovechada (Gosselink et al., 2002). Particularmente, existe un gran interés en mejorar los procesos de fermentación de estos residuos lignocelulósicos para poder aprovecharlos como fuente de energía en distintos bioprocesos para la producción de bioetanol, y otros compuestos generados en las biorrefinerías (Ponnusamy et al., 2019, Anwar et al., 2014).

Este polímero ha sido considerado como un potencial reemplazo de ciertos compuestos que constituyen los adhesivos tradicionales (particularmente aquellos diseñados para uso en madera) por sus propiedades físico químicas, pues presenta una alta hidrofobicidad la cual está relacionada con su estructura fenólica, y su baja polidispersidad (Antov et al., 2020).

Algunos de los estudios realizados en este campo se enfocan en reemplazar el uso del fenol por lignina, además de combinar este polímero con ciertas resinas para incrementar sus propiedades adhesivas (Pizzi, 2016). Los resultados de estos experimentos han arrojado resultados interesantes, pues en uno de ellos se

obtuvo un adhesivo comparable al comercial, pero sustituyendo hasta el 50 % de fenol, lo cual representa un beneficio económico y ambiental considerable (Akhtar, 2011). Por su parte, Navarrete et al. (2012) lograron obtener un bioadhesivo derivado de la mezcla entre lignina y taninos sin la necesidad de incorporar compuestos tóxicos, este bioadhesivo fue diseñado con la finalidad de ser aplicado en paneles fabricados con madera y la composición final del mismo alcanzó un 94 % de materiales naturales.

Almidón.

Al igual que la lignina, el almidón es uno de los polímeros naturales más prometedores para ser utilizado como reemplazo de ciertos polímeros sintéticos debido a su abundancia, renovabilidad, y bajo precio. Este polímero actúa como una fuente de reserva en una cantidad importante de vegetales, estando presente en el trigo, maíz, papa, cebada, avena, centeno, sorgo, entre otros.

El almidón está compuesto por una mezcla de dos polímeros; amilosa y amilopectina, los cuales a su vez están formados por moléculas de glucosa unidas

entre sí, por enlaces tipo glucosídico α -1,4 en el caso de la amilosa y α -1,4 y α -1,6 en la amilopectina. La proporción de estos dos polímeros varía dependiendo de su origen, y la propiedad adhesiva del almidón se basa en los enlaces tipo puente de hidrógeno que puede establecer con otras moléculas. Esto último representa un reto en el desarrollo de bioadhesivos basados en almidón, pues su gran afinidad por formar puentes de hidrógeno con moléculas de agua provoca una baja resistencia del bioadhesivo en ambientes húmedos (Qiao et al., 2016).

En este aspecto, muchas investigaciones se han enfocado en modificar los radicales del almidón con distintos compuestos para incrementar la resistencia a la humedad. En el año 2016, un grupo de investigadores modificaron los grupos hidroxilo del almidón proveniente de maíz por medio de una reacción de esterificación para así incrementar la hidrofobicidad del polímero, obteniéndose un adhesivo más estable para uso en maderas y resinas (Qiao et al., 2016).

En la tabla 2 se muestra una recopilación e investigaciones relacionadas con el desarrollo de bioadhesivos a partir de este tipo de compuestos.

Tabla 2. Producción de bioadhesivos a partir de distintas fuentes naturales.

Fuente	Objetivo	Innovación/Tecnología	Referencia
Lignina	Reducción de costos en la producción de fibropanel de densidad media (MDF)	Reemplazo de fenol por lignosulfonatos	Akhtar et al., 2011
	Producción de resina fenol-formaldehído	Hidrólisis enzimática	Qiao et al., 2015 Jin et al., 2010
	Adhesivo para madera libre de formaldehído	Lignina y polietilenimina como reemplazo a formaldehído	Geng et al., 2006
	Evaluación de propiedades físicas y mecánicas en bioadhesivo para fibropanel de densidad media (MDF)	Mezcla de lignosulfonato de amonio y polietilenimina	Yuan et al., 2013
	Adhesivo bio-basado sin resinas sintéticas	Lignina de bajo peso molecular y taninos	Navarrete et al., 2012
Almidón	Esterificación de grupos hidroxilo para incrementar las propiedades hidrofóbicas	Almidón de maíz en adición con anhídrido maleico	Qiao et al., 2016
		Mezcla de almidón, isocianato y agentes auxiliares	Zhibang et al., 2015
	Resina epóxica bio-basada	Acetato de polivinilo y almidón	Nie et al., 2013
	Adhesivos para madera sin formaldehído	Proteínas, taninos y almidón	Anderson et al., 2013 Vilas et al., 2017 Moubarik et al., 2009

Moluscos.

Los moluscos, al igual que otras especies marinas, tienen la capacidad de adherirse a distintas superficies como el vidrio, teflón, metal y plástico, y presentan características de interés biotecnológico como son alta biodegradabilidad, enlaces flexibles y resistentes al agua, además de no causar respuesta inmune en el cuerpo humano (Hwang et al., 2004). Estas características representan las propiedades ideales para la formulación de un bioadhesivo de uso médico.

El mecanismo de adhesión de los moluscos consta de una serie de “hilos”, también llamados “biso” los cuales unen al molusco con la superficie (figura 1). Estos hilos a su vez se componen de entre 25 y 30 proteínas, de entre las cuales solo 8 de ellas interactúan directamente con la superficie (Lee et al., 2011). Estas proteínas son conocidas como “mussel foot proteins” (mfps) y están estrechamente ligadas a la molécula dihidroxifenilalanina (DOPA), la

cual está implicada en la ruta metabólica de moléculas como la dopamina, siendo el precursor directo de esta última.

Existen diversos estudios relacionados con la caracterización y expresión de mfps de manera recombinante con la finalidad de comprender mejor el mecanismo por el cual este tipo de moléculas le confieren la propiedad de adhesión a los moluscos y para la producción de un potencial bioadhesivo de uso comercial (Qin et al., 2014, Hwang et al., 2004). Sin embargo, muchas de las limitaciones que se han encontrado se relacionan con las modificaciones post-traduccionales que requieren algunas de las mfps y la hidroxilación de L-Tirosina para la formación de DOPA (figura 2), ambas necesarias para la “activación” de este mecanismo de adhesión, pues esta molécula constituye un porcentaje importante de las mfps (Deming, 1999). Este valor depende de la proteína, y va desde valores de aproximadamente 13 % mol para la mfp-1 y hasta 30 % mol en las mfp-5 (Waite et al., 2001, Jo et al., 2018).

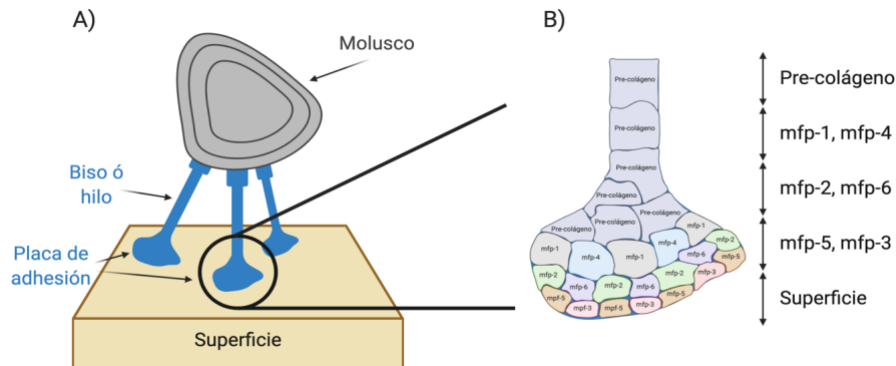


Figura 1. Ilustración esquemática de la adhesión en moluscos. A) Representación de un molusco adherido a una superficie por medio de hilos o biso, B) Distribución de las “mussel foot proteins” (mfp) a través del hilo y la placa de adhesión que se encuentra adherida a la superficie.

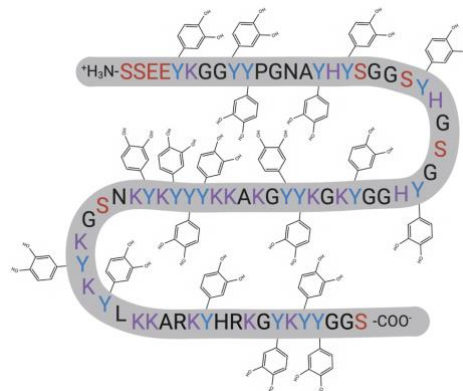


Figura 2. Secuencia de la mfp-5 del molusco *Mytilus edulis*, en donde se muestran los residuos de DOPA (Y-metil catecol), Lis (K), Ser (S) y Gly (G).

Percebes.

Los percebes son crustáceos que habitan en el fondo marino y son considerados como una plaga ya que crecen en todo tipo de superficies como barcos, rocas, basura y hasta en seres vivos como tortugas y ballenas. Durante su etapa de larva o mejor conocido como “cypris larva”, deben elegir un sitio en el cual permanecerán unidos el resto de su vida. Durante la etapa “cypris larva” se excreta un conjunto de proteínas denominadas “Cemento temporal” las cuales les permiten explorar el medio y adherirse de manera temporal a éste. Durante esta exploración se dejan “huellas” de adhesivo temporal en las superficies que el percebe va explorando (Khandeparker et al., 2007). Una vez elegido un sitio para permanecer el resto de su vida, se excretan las proteínas adhesivas permanentes (cemento permanente). Estas proteínas permiten la adherencia a una gran variedad de materiales tanto orgánicos como inorgánicos. Los percebes utilizan como criterio la textura (Kamino et al., 2000), el color de la superficie (Zhang et al., 2013), la presencia de otros percebes, entre otros factores para elegir el lugar al cual se unirán permanentemente.

Las glándulas productoras de “cemento” se reposicionan en el perímetro de la base del percebe adulto, ya que durante la fase “cypris larva” se encuentran detrás de los ojos (Naves et al., 2008).

La composición del “cemento” se basa principalmente en dos proteínas hidrofóbicas e insolubles que tienen tamaños de 52 y 100 kDa (Kamino et al., 2000). Sin embargo, existen distintas proteínas en menor cantidad que muestran una mayor solubilidad y se cree que están relacionadas directamente con la interacción adhesiva entre el percebe y la superficie (figura 3). Estas proteínas son relevantes para el diseño de nuevos bioadhesivos ya que muy pocos adhesivos tienen la capacidad de actuar eficientemente sobre superficies húmedas, limitando su utilidad a ciertas aplicaciones. Dichas proteínas muestran tamaños de 19, 20, 36, 38 y 68 kDa (Khandeparker et al., 2002). A cada una de estas proteínas se les ha relacionado con una función en específico dentro del conjunto de proteínas denominadas “cemento proteico”.

Proteínas adhesivas recombinantes.

El caso de los organismos genéticamente modificados (OGMs) para su uso potencial como productores de adhesivos naturales.

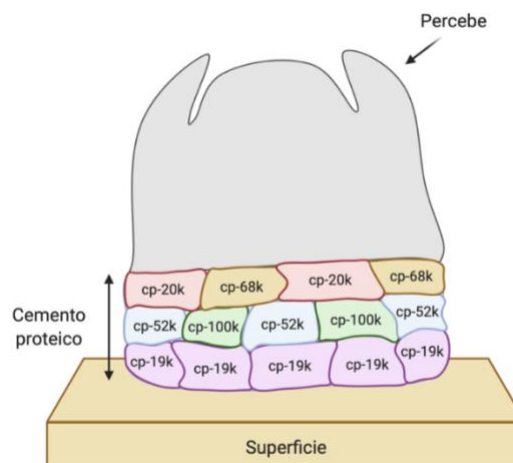


Figura 3. Representación de percebe adherido a una superficie por medio del cemento proteico, y su distribución a través del mismo.

La producción de proteínas recombinantes utilizando microorganismos genéticamente modificados (OGMs) como biofábricas celulares ha sido una solución exitosa para la síntesis de compuestos como hormonas, interferones, interleucinas, factores de crecimiento, factores de coagulación, enzimas para tratamiento de enfermedades, entre otros (Barh et al., 2017). Siguiendo las mismas estrategias de ingeniería genética que se aplicaron para generar los fármacos mencionados arriba, se ha buscado producir algunas de las proteínas involucradas en la adhesión de organismos marinos como moluscos y percebes de manera recombinante en distintas cepas de *E. coli* que han sido modificadas con este mismo objetivo (tabla 3). Esto se ha realizado con la finalidad de producir proteínas recombinantes que presenten características de adhesión similares a las que tienen sus organismos nativos, para su utilización en la formulación de nuevos bioadhesivos (Hwang et al., 2004, Urushida et al., 2007).

Artículos

Estrategias de ingeniería genética utilizadas para la generación de proteínas adhesivas recombinantes.

Durante la última década, son muy pocas las investigaciones que se han realizado con respecto a proteínas adhesivas provenientes de moluscos y percebes, expresadas de manera recombinante en microorganismos como *E. coli*.

especie. Para ello se utilizó la técnica de resonancia de plasmones superficiales (SPR) en superficies hidrofóbicas (placa de poliestireno) e hidrofílicas (placa de vidrio), sin embargo, los resultados de dicho estudio no permitieron comprobar que esta proteína tuviese actividad adhesiva, contrario a lo reportado por otros investigadores (Tilbury et al., 2019).

Fuente	Especie	Objetivo	Innovación/Tecnología	Referencia
Molusco	<i>Perna viridis</i>	Elucidar el rol de DOPA en la adhesión de la proteína PVFP-5	Cepas de <i>E. coli</i> JW2581 recombinantes con el gen de la proteína PVFP-5	Bilotto et al., 2019
		Expresión y caracterización de proteína adhesiva recombinante Pvfp-5β	Cepas de <i>E. coli</i> BL21-Gold(DE3) recombinantes con el gen de la proteína Pvfp-5β	Santonocito et al., 2019
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Expresión y caracterización de proteína adhesiva recombinante Mgfp-5	Células de <i>E. coli</i> BL21 recombinantes con el gen de la proteína Mgfp-5	Hwang et al., 2004
		Expresión y caracterización de proteína adhesiva recombinante Mgfp-3A	Células de <i>E. coli</i> BL21 recombinantes con el gen de la proteína Mgfp-3A	Hwang et al., 2005
		Expresión y caracterización de proteína adhesiva recombinante fp-5 para recubrimiento de superficies	Células de <i>E. coli</i> BL21 (DE3) recombinantes con el gen de la proteína fp-5	Choi et al., 2011
		Modificación de los residuos de tirosina en proteína adhesiva recombinante <i>in vivo</i>	Células de <i>E. coli</i> BL21 (DE3) recombinantes con el gen de la proteína fp-151 y el de la enzima tirosinasa	Choi et al., 2012
	<i>No especificado</i>	Producción de bioadhesivo para madera a partir de proteína adhesiva de molusco	Células de <i>E. coli</i> BL21 (DE3) recombinantes productoras de la proteína adhesiva en forma de cuerpos de inclusión	Song et al., 2016
Percebe	<i>Pollicipes pollicipes</i>	Expresión y caracterización de proteína adhesiva recombinante CP-19k	Células de <i>E. coli</i> BL21 recombinantes con el gen rPpolcp-19k	Tilbury et al., 2019
	<i>Megabalanus rosa</i>		Células de <i>E. coli</i> BL21 (DE3) recombinantes con el gen Mrcp-19k	Urushida et al., 2007

Cada uno de estos trabajos se ha enfocado en distintas aplicaciones para estas proteínas y las metodologías empleadas pueden variar dependiendo de los objetivos de cada investigación. En la figura 4 se muestra el procedimiento general que es seguido para poder expresar de manera recombinante una proteína adhesiva en bacterias.

Recientemente, en el año 2019 se expresó la proteína adhesiva cp-19k del percebe *Pollicipes pollicipes*, con el fin de evaluar las características y la actividad que ésta tiene en el cemento proteico de esta

Otros trabajos se han enfocado en utilizar las proteínas adhesivas de moluscos como recubrimiento de algunas superficies, con la finalidad de funcionalizarlas para distintos objetivos como lo sería la inmovilización de biomoléculas, tales como anticuerpos, ácidos nucleicos, y para la formación de microambientes. Esto se ha logrado modificando la estructura de las mfps, añadiendo péptidos funcionales a su estructura. Sin embargo, aún queda mucho trabajo por hacer en este campo, ya que es necesario evaluar estas propiedades en más tipos de superficies para lograr diseñar de manera racional mpfs recombinantes para

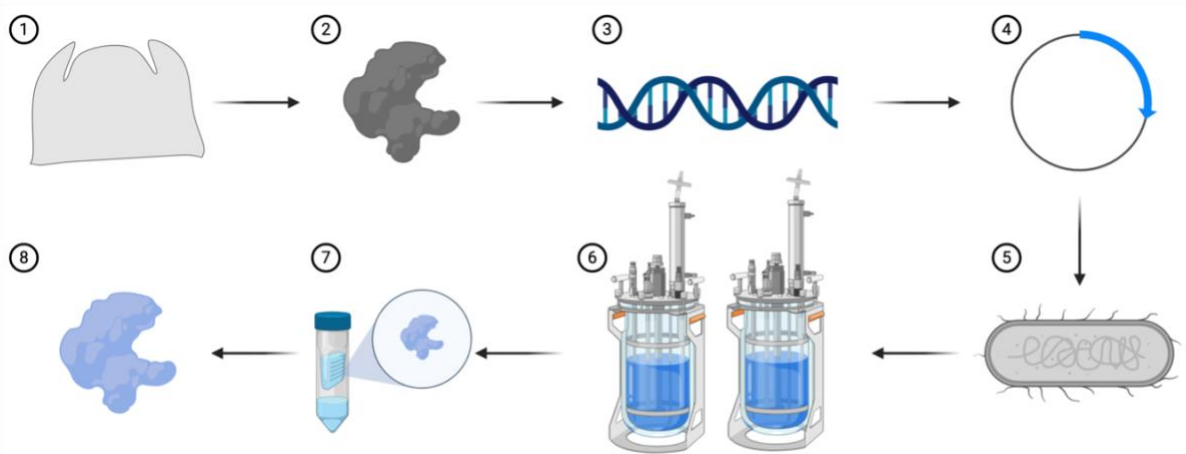


Figura 4. Estrategia utilizada para la producción de proteínas adhesivas recombinantes. 1) Obtención de las proteínas adhesivas del organismo nativo. 2) Purificación e identificación de las proteínas adhesivas. 3) Obtención del gen codificante para la proteína adhesiva de interés. 4) Clonación del gen en un vector comercial. 5) Transformación de las células de *E. coli* con el vector. 6) Cultivo de las células modificadas en biorreactor. 7) Purificación de la proteína adhesiva recombinante. 8) Evaluación de las propiedades adhesivas de la proteína recombinante.

aplicaciones específicas en este campo de biomateriales (Jo et al., 2018).

Del mismo modo, el grupo de Santonocito et al. (2019) expresaron de manera recombinante la proteína adhesiva Pvfp-5 β del molusco *Perna viridis* en *E. coli* para evaluar su estructura y propiedades adhesivas. Se obtuvo como resultado la producción exitosa en forma de cuerpos de inclusión que una vez purificados, mostraron propiedades intrínsecas de adhesión en placas de vidrio y plástico, aún sin la presencia de DOPA, prometiendo ser un material con aplicaciones en recubrimiento de superficies, aplicaciones biomédicas, entre otras. Los resultados obtenidos en esta investigación sugieren que estas proteínas poseen propiedades adhesivas aún y en ausencia de DOPA. Esta característica también fue observada por Bilotto et al. (2019), quienes compararon por microscopía de fuerza atómica (AFM) y Surface Force Apparatus (SFA), dos variantes de la proteína Pvfp-5, observando que la proteína recombinante (Tyr-Pvfp-5) sin residuos tipo DOPA muestra características adhesivas.

En el Departamento de Procesos y Tecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa, se trabaja con cepas de *E. coli* modificadas genéticamente que expresan la proteína adhesiva Mrcp-19k del percebe *Megabalanus rosa* en la superficie de la membrana externa de estas bacterias.

Actualmente se lleva a cabo la caracterización fisiológica de estas cepas para conocer las propiedades que las células bacterianas de *E. coli* podrían adquirir al expresar la proteína adhesiva (datos no mostrados). Hasta el momento no existen artículos publicados en los que se genere y estudie un fenotipo adhesivo en las propias células productoras. Los resultados que se obtengan en este estudio podrán formar la base de nuevas tecnologías que consistan en poder controlar la adhesividad de células de *E. coli* a diversas superficies.

El desarrollo de cepas con propiedades adhesivas podría ser de gran interés para la biotecnología, pues éstas podrían ser de utilidad en el desarrollo de biopelículas en los procesos que así lo requieran, reducir de manera importante la etapa de centrifugación y recuperación de células, entre muchas otras aplicaciones.

Perspectivas y conclusiones

El desarrollo de nuevos productos bio-basados es fundamental para promover un cambio positivo en los procesos de producción y en los productos que consumimos diariamente. Esto fomentará cada vez más el uso de aquellos productos provenientes de procesos comprometidos con el medio ambiente, que resulten menos dañinos para el

ser humano debido a su origen natural y que presentan las mismas o mejores propiedades que las de aquellos sintetizados en la industria química tradicional.

Para lograr este objetivo, se requiere de una mayor cantidad de investigadores y empresarios interesados en buscar y desarrollar nuevos productos, no solo en el campo de los bioadhesivos, sino en todas aquellas industrias que dependen del uso de fuentes fósiles.

Actualmente existe un incremento en la cantidad de investigaciones relacionadas con el tema, sin embargo, aún falta enfocar la investigación y promover la cooperación interdisciplinaria en los campos de la biotecnología, la ciencia de materiales y medicina relacionada con este tema, pues aún quedan preguntas por responder que podrían potenciar el desarrollo y uso de estos nuevos bioadhesivos en un futuro cercano.

Los avances tecnológicos en las herramientas de ingeniería genética y biología molecular han vuelto a los microorganismos genéticamente modificados, en opciones viables para producir este tipo de productos a gran escala. Además de muchas de las ventajas que ofrecen este tipo de bioprocesos, si se plantea extraer directamente las proteínas adhesivas de animales como moluscos o percebes, se requerirían de aproximadamente 10,000 moluscos de la especie *M. edulis* para obtener 1 gramo de la proteína mfp-1 (Wang et al., 2018), lo cual lo convertiría en un proceso sumamente ineficiente, tardado y costoso.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo de CONACyT a Guillermo Gosset Lagarda mediante el proyecto A1-S-8646, y el apoyo PRODEP a Andrea Sabido mediante el proyecto 47410680.

Referencias

Akhtar, T., Lutfullah, G., & Zahoorullah. (2011). Lignonsulfonate-phenolformaldehyde Adhesive: A Potential Binder for Wood Panel Industries. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*. 33. 535-538.

Albes, J. M., Krettek, C., Hausen, B., Rohde, R., Haverich, A., & Borst, H. G. (1993). Biophysical properties of the gelatin-resorcin-formaldehyde/glutaraldehyde adhesive. *The Annals of thoracic surgery*, 56(4), 910-915.

Anderson, K.R., Porter, M.A., & Satyavolu, J.V. (2011) Protein and Starch Compositions, Methods for Making and Uses Thereof. EP 2307494 A1, 13 April 2011.

Antov, P., Savov, V., & Neykov, N. (2020). Sustainable bio-based adhesives for eco-friendly wood composites a review. *Wood research*. 65. 51-62.

Anwar, Z., Gulfranz, M., & Irshad, M. (2014). Agro-industrial lignocellulosic biomass a key to unlock the future bio-energy: A brief review. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. 7. 163-173. 10.1016/j.jrras.2014.02.003.

Barh, D., & Azevedo, V. (2017). Omics technologies and bio-engineering: towards improving quality of life.

Bilotto, P., Labate, C., De Santo, M. P., Deepankumar, K., Miserez, A., & Zappone, B. (2019). Adhesive Properties of Adsorbed Layers of Two Recombinant Mussel Foot Proteins with Different Levels of DOPA and Tyrosine. *Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids*, 35(48), 15481-15490.

Brennan M. (1991). Fibrin glue. *Blood reviews*, 5(4), 240-244.

Choi, Y. S., Kang, D. G., Lim, S., Yang, Y. J., Kim, C. S., & Cha, H. J. (2011). Recombinant mussel adhesive protein fp-5 (MAP fp-5) as a bulk bioadhesive and surface coating material. *Biofouling*, 27(7), 729-737.

Choi, Y. S., Yang, Y. J., Yang, B., & Cha, H. J. (2012). In vivo modification of tyrosine residues in recombinant mussel adhesive protein by tyrosinase co-expression in *Escherichia coli*. *Microbial cell factories*, 11(1), 1-8.

Deming, T.J. (1999). Mussel byssus and biomolecular materials. *Current opinion in chemical biology*, 3 1, 100-5.

Ferdosian, F., Pan, Z., Gao, G., & Zhao, B. (2017). Bio-Based Adhesives and Evaluation for

Artículos

- Wood Composites Application. *Polymers*, 9(2), 70.
- Gauthier, L., & Lagoutte, F. (1989). Utilisation d'une colle de fibrine (Tissucol) pour traiter les ulcères de cornée perforés et préperforés. *Journal français d'ophtalmologie*, 12(6-7), 469–476.
- Geng, X., & Li, K. (2006). Investigation of wood adhesives from kraft lignin and polyethylenimine. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 20, 847-858. 10.1163/156856106777638699.
- Gosselink, R. J. A., de Jong, E., Guran, B., & Abächerli, A. (2004). Co-ordination network for lignin: standardisation, production and applications adapted to market requirements. *Industrial Crops and Products*, 20(2), 121-129.
- Grandviewresearch. (2019). Adhesives and Sealants Market Size, Share & Trends Analysis Report By Technology, By Product, By Application, By Region (North America, Europe, Asia Pacific, CSA, MEA), And Segment Forecasts, 2019 – 2025. Retrieved from <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/adhesives-and-sealants-market>
- Hwang, D. S., Gim, Y., & Cha, H. J. (2005). Expression of functional recombinant mussel adhesive protein type 3A in *Escherichia coli*. *Biotechnology progress*, 21(3), 965-970.
- Hwang, D. S., Yoo, H. J., Jun, J. H., Moon, W. K., & Cha, H. J. (2004). Expression of functional recombinant mussel adhesive protein Mgfp-5 in *Escherichia coli*. *Applied and environmental microbiology*, 70(6), 3352–3359.
- IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans (2006). Formaldehyde, 2-butoxyethanol and 1-tert-butoxypropan-2-ol. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 88, 1–478.
- Jin, Y., Cheng, X., & Zheng, Z. (2010). Preparation and characterization of phenol-formaldehyde adhesives modified with enzymatic hydrolysis lignin. *Bioresource technology*, 101(6), 2046–2048.
- Jivkov, V. (2013). Study of gluing abilities of solid surface composites with different woodbased materials and foamed PVC. 10.13140/RG.2.1.4671.1846.
- Jo, Y. K., Kim, H. J., Jeong, Y., Joo, Kye-Il., & Cha, H. J. (2018). Biomimetic Surface Engineering of Biomaterials by Using Recombinant Mussel Adhesive Proteins. *Advanced Materials Interfaces*. 5. 1800068. 10.1002/admi.201800068.
- Kamino, K., Inoue, K., Maruyama, T., Takamatsu, N., Harayama, S., & Shizuri, Y. (2000). Barnacle cement proteins. Importance of disulfide bonds in their insolubility. *The Journal of biological chemistry*, 275(35), 27360–27365.
- Khandeparker, L., Anil, A., & Raghukumar, S. (2002). Exploration and metamorphosis in *Balanus amphitrite* Darwin (Cirripedia; Thoracica) cyprids: Significance of sugars and adult extract. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 281. 77-88. 10.1016/S0022-0981(02)00414-8.
- Khandeparker, L., & Anil, A. (2007). Underwater adhesion: The barnacle way. *International Journal of Adhesion and Adhesives*. 27. 165-172. 10.1016/j.ijadhadh.2006.03.004.
- Laitakari, K., & Luotonen, J. (1989). Autologous and homologous fibrinogen sealants: adhesive strength. *The Laryngoscope*, 99(9), 974–976.
- Lee, B. P., Messersmith, P. B., Israelachvili, J. N., & Waite, J. H. (2011). Mussel-Inspired Adhesives and Coatings. *Annual review of materials research*, 41, 99–132.
- Lee, Y. J., Son, H. S., Jung, G. B., Kim, J. H., Choi, S., Lee, G. J., & Park, H. K. (2015). Enhanced biocompatibility and wound healing properties of biodegradable polymer-modified allyl 2-cyanoacrylate tissue adhesive. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 51, 43–50.
- Lee, Y. J., Jung, G. B., Choi, S., Lee, G., Kim, J. H., Son, H. S., Bae, H., & Park, H. K. (2013). Biocompatibility of a novel cyanoacrylatebased tissue adhesive: cytotoxicity and biochemical property evaluation. *PLoS one*, 8(11), e79761.
- Leggat, P. A., Kedjarune, U., & Smith, D. R. (2004). Toxicity of cyanoacrylate adhesives and their

- occupational impacts for dental staff. *Industrial health*, 42(2), 207–211.
- Liu, X., Zhang, Q., & Gao, G. (2017). Bioinspired Adhesive Hydrogels Tackified by Nucleobases. *Advanced Functional Materials*, 27. 10.1002/adfm.201703132.
- Mehdizadeh, M., & Yang, J. (2013). Design strategies and applications of tissue bioadhesives. *Macromolecular bioscience*, 13(3), 271–288.
- Mizrahi, B., Weldon, C., & Kohane, D. (2011). Tissue Adhesives as Active Implants. 10.1007/8415_2010_48.
- Moubarik, A., Pizzi, A., Allal, A., Charrier - El Bouhtoury, F., & Charrier, B. (2009). Cornstarch and tannin in phenol-formaldehyde resins for plywood production. *Industrial Crops and Products*, 30. 188-193. 10.1016/j.indcrop.2009.03.005.
- Nakayama, Y., & Matsuda, T. (1995). Newly designed hemostatic technology based on photocurable gelatin. *ASAIO journal (American Society for Artificial Internal Organs: 1992)*, 41(3), M374–M378.
- Navarrete, P., Mansouri, H. R., Pizzi A., Tapin-Lingua, S., Benjelloun-Mlayah, B., Pasch, H., & Rigolet, S. (2012). Wood Panel Adhesives from Low Molecular Mass Lignin and Tannin without Synthetic Resins. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 24. 1597-1610. 10.1163/016942410X500972.
- Naves, P., Prado, G., Huelves, L., Gracia, M., Ruiz, V., Blanco, J., Rodríguez-Cerrato, V., Ponte, M.C., & Soriano, F. (2008). Measurement of biofilm formation by clinical isolates of *Escherichia coli* is method-dependent. *Journal of applied microbiology*, 105. 585-90. 10.1111/j.1365-2672.2008.03791.x.
- Nie, Y., Tian, X., Liu, Y., Wu, K., & Wang, J. (2013) Research on Starch-g-Poly-vinyl Acetate and Epoxy Resin-Modified Corn Starch Adhesive. *Polymer Composites*, 34, 77-87.
- Otani, Y., Tabata, Y., & Ikada, Y. (1998). Hemostatic capability of rapidly curable glues from gelatin, poly(L-glutamic acid), and carbodiimide. *Biomaterials*, 19(22), 2091–2098.
- Pizzi, A. (2016). Wood products and green chemistry. *Annals of Forest Science*, 73. 185-203.
- Ponnusamy, V. K., Nguyen, D. D., Dharmaraja, J., Shobana, S., Banu, J. R., Saratale, R. G., Chang, S. W., & Kumar, G. (2019). A review on lignin structure, pretreatments, fermentation reactions and biorefinery potential. *Bioresource technology*, 271, 462–472.
- Qiao, Z., Gu, J., Lv, S., Cao, J., Tan, H., & Zhang, Y. (2016). Preparation and Properties of Normal Temperature Cured Starch-Based Wood Adhesive. *BioResources*, 11. 4839-4849. 10.15376/biores.11.2.4839-4849.
- Qiao, W., Li, S., Guo, G., Han, S., Ren, S., & Ma, Y. (2015). Synthesis and characterization of phenol-formaldehyde resin using enzymatic hydrolysis lignin. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 21. 1417-1422. 10.1016/j.jiec.2014.06.016.
- Qin, Z., & Buehler, M. (2014). Molecular mechanics of mussel adhesion proteins. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 62. 19–30. 10.1016/j.jmps.2013.08.015.
- Quinn, J. V. (2005). Tissue Adhesives in Clinical Medicine (2nd ed.). *BC Decker Inc, Hamilton*, pp. 27-76
- Ryan, B. M., Stockbrugger, R. W., & Ryan, J. M. (2004). A pathophysiologic, gastroenterologic, and radiologic approach to the management of gastric varices. *Gastroenterology*, 126(4), 1175–1189.
- Santonocito, R., Venturella, F., Dal Piaz, F., Morando, M. A., Provenzano, A., Rao, E., Costa, M. A., Bulone, D., San Biagio, P. L., Giacomazza, D., Sicorello, A., Alfano, C., Passantino, R., & Pastore, A. (2019). Recombinant mussel protein Pvfp-5β: A potential tissue bioadhesive. *The Journal of biological chemistry*, 294(34), 12826–12835.
- Shalaby, S. W., & Burg, K. J. L. (2003). Absorbable and Biodegradable Polymers. *Amsterdam University Press*.
- Sierra D. H. (1993). Fibrin sealant adhesive systems: a review of their chemistry, material properties and clinical applications. *Journal of biomaterials applications*, 7(4), 309–352.

Artículos

- Song, Y. H., Seo, J. H., Choi, Y. S., Kim, D. H., Choi, B. H., & Cha, H. J. (2016). Mussel adhesive protein as an environmentally-friendly harmless wood furniture adhesive. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 70, 260-264
- Strang, J., Neale, J., McDonald, R., & Kalk, N. (2018). Toxicity: exploring and expanding the concept. *Addiction (Abingdon, England)*, 113(4), 592–594.
- Tilbury, M. A., McCarthy, S., Domagalska, M., Ederth, T., Power, A. M., & Wall, J. G. (2019). The expression and characterization of recombinant cp19k barnacle cement protein from *Pollicipes pollicipes*. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 374(1784), 20190205.
- Urushida, Y., Nakano, M., Matsuda, S., Inoue, N., Kanai, S., Kitamura, N., Nishino, T., & Kamino, K. (2007). Identification and functional characterization of a novel barnacle cement protein. *The FEBS journal*, 274(16), 4336–4346.
- Vilas Indubai, G., Mahanwar, P & Gadekar, P. (2017). Starch-Based Adhesives for Wood/Wood Composite Bonding: Review. *Open Journal of Polymer Chemistry*. 7. 19-32. 10.4236/ojpcem.2017.72002.
- Waite J. H. (2017). Mussel adhesion - essential footwork. *The Journal of experimental biology*, 517–530.
- Waite, J. H., & Qin, X. (2001). Polyphosphoprotein from the adhesive pads of *Mytilus edulis*. *Biochemistry*, 40(9), 2887–2893.
- Wang, Jia & Scheibel, Thomas. (2018). Recombinant Production of Mussel Byssus Inspired Proteins. *Biotechnology Journal*. 13. 10.1002/biot.201800146.
- Wang, Z., Tai, L. R., McLean, D., Wright, E. J., Florence, G. J., Brown, S. I., Andre, P., & Cuschieri, A. (2014). Mucoadhesive polymer films for tissue retraction in laparoscopic surgery: Ex-vivo study on their mechanical properties. *Bio-medical materials and engineering*, 24(1), 445–451.
- Yuan, Y., Guo, M., & Liu, F. (2013). Preparation and Evaluation of Green Composites Using Modified Ammonium Lignosulfonate and Polyethylenimine as a Binder. *Bioresources*, 9, 836-848.
- Zhang, H., Bré, L. P., Zhao, T., Zheng, Y., Newland, B., & Wang, W. (2014). Mussel-inspired hyperbranched poly (amino ester) polymer as strong wet tissue adhesive. *Biomaterials*, 35(2), 711–719.
- Zhibang, Q., Jiyou, G., Shanshan, L., Jun. C., Haiyan, T., & Yanhua, Z. (2015) Preparation and properties of isocyanate prepolymer/corn starch adhesive, *Journal of Adhesion Science and Technology*, 29:13, 1368-1381
- Zhu, W., Chuah, Y. J., & Wang, D. A. (2018). Bioadhesives for internal medical applications: A review. *Acta biomaterialia*, 74, 1–16.
- Zhu, W., Yang, J., Iqbal, J., Peck, Y., Fan, C., & Wang, D. A. (2017). A mussel-inspired double-crosslinked tissue adhesive on rat mastectomy model: seroma prevention and in vivo biocompatibility. *The Journal of surgical research*, 215, 173–182.