

Los microbios como biofábricas

Al aplicar las técnicas de ingeniería genética para modificar el metabolismo microbiano, se han obtenido microorganismos que funcionan como biofábricas capaces de sintetizar diversos productos de gran importancia para la industria farmacéutica, química y de alimentos. Esto representa una alternativa para generar de forma sustentable una gran cantidad de productos químicos que necesita nuestra sociedad.

Los microbios han sido utilizados por el ser humano desde tiempos inmemoriales para transformar y generar diversos alimentos y bebidas. Con los avances de la biología, a partir de la década de 1970 se desarrollaron herramientas de ingeniería genética que permiten modificar el metabolismo de los microbios y así poder diseñar biofábricas que sintetizan productos específicos de interés para el ser humano, por ejemplo, el aminoácido tirosina y el polímero eumelanina. La tirosina forma parte de las proteínas de todos los seres vivos y también es precursora de varias hormonas. Por su parte, la eumelanina es un pigmento presente en los vertebrados y entre sus funciones está la protección contra la radiación ultravioleta. Este pigmento se utiliza en algunas formulaciones de cremas cosméticas para protección solar.

Hoy los microbios que son modificados genéticamente para convertirse en biofábricas representan una alternativa para obtener de forma sustentable una gran diversidad de productos químicos que necesita nuestra sociedad.

Los microbios y la biotecnología

Los cultivos microbianos para uso industrial –también llamados fermentaciones– se realizaban originalmente con los microorganismos tal y como se obtenían de su medio natural. Esto permitió, desde finales del siglo XIX e inicios del XX, el desarrollo de diversos procesos para la generación de productos utilizados en la industria química, como al ácido láctico y la acetona. Asimismo, durante la década

de 1940, se desarrolló un proceso fermentativo para la producción del antibiótico penicilina, lo que permitió salvar incontables vidas.

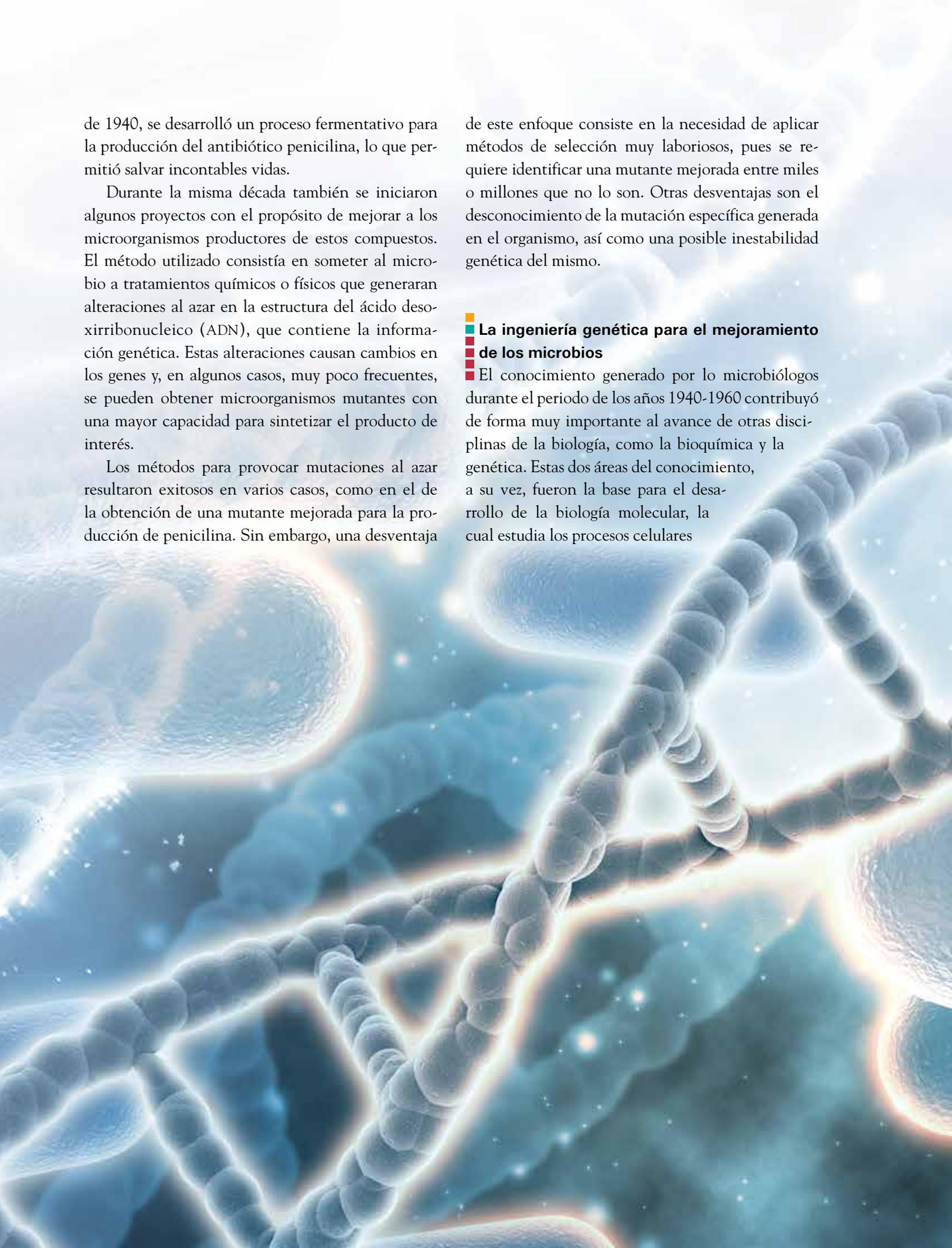
Durante la misma década también se iniciaron algunos proyectos con el propósito de mejorar a los microorganismos productores de estos compuestos. El método utilizado consistía en someter al microbio a tratamientos químicos o físicos que generaran alteraciones al azar en la estructura del ácido desoxirribonucleico (ADN), que contiene la información genética. Estas alteraciones causan cambios en los genes y, en algunos casos, muy poco frecuentes, se pueden obtener microorganismos mutantes con una mayor capacidad para sintetizar el producto de interés.

Los métodos para provocar mutaciones al azar resultaron exitosos en varios casos, como en el de la obtención de una mutante mejorada para la producción de penicilina. Sin embargo, una desventaja

de este enfoque consiste en la necesidad de aplicar métodos de selección muy laboriosos, pues se requiere identificar una mutante mejorada entre miles o millones que no lo son. Otras desventajas son el desconocimiento de la mutación específica generada en el organismo, así como una posible inestabilidad genética del mismo.

La ingeniería genética para el mejoramiento de los microbios

 El conocimiento generado por los microbiólogos durante el periodo de los años 1940-1960 contribuyó de forma muy importante al avance de otras disciplinas de la biología, como la bioquímica y la genética. Estas dos áreas del conocimiento, a su vez, fueron la base para el desarrollo de la biología molecular, la cual estudia los procesos celulares





relacionados con el flujo de información genética en las células. Uno de los principales temas de estudio de la biología molecular se relaciona con la función del ADN como molécula de la herencia. Entre las principales contribuciones de esta disciplina se encuentra la definición de los mecanismos por los cuales la información presente en el ADN es traducida para formar proteínas, las cuales realizan la mayoría de las funciones celulares.

Este conocimiento resultó fundamental para sentar las bases que ahora permiten modificar la información genética de manera directa. Durante los años 1960-1980 se desarrollaron herramientas experimentales –llamadas técnicas de ADN recombinante– para realizar una auténtica *ingeniería genética* en los microorganismos. Mediante estas herramientas es posible inhibir la actividad de los genes o cambiar la información que contienen, así como lograr la transferencia de genes entre especies diferentes.

Más recientemente, se han desarrollado nuevas estrategias y métodos para realizar la modificación dirigida de proteínas –también conocidos como *ingeniería de proteínas*–. Así, es posible cambiar las propiedades de las enzimas (proteínas que aceleran las reacciones químicas) y alterar la capacidad bioquímica de las células, lo que afecta sus funciones.

En particular, desde hace muchos años uno de los modelos de estudio para los microbiólogos ha sido la bacteria *Escherichia coli*, un habitante natural del intestino humano. Entre los primeros logros de la *ingeniería genética* está la modificación genética de *E. coli* para lograr la síntesis de la insulina y la hormona del crecimiento humanas. Esto permitió obtener grandes cantidades de estas dos hormonas y creó las bases para que ahora se produzcan decenas de diferentes proteínas humanas de uso terapéutico a través de modificaciones genéticas de dicha bacteria (Swartz, 2001).

La modificación del metabolismo microbiano

La capacidad de la *ingeniería genética* para modificar a los microbios puede enfocarse a diversas funciones celulares. Esto incluye al metabolismo, el cual consiste en la totalidad de reacciones bioquímicas de



un organismo que transforman los nutrientes consumidos y generan un nuevo producto. Las reacciones del metabolismo se pueden agrupar dependiendo del compuesto inicial que se consume o del compuesto final que se sintetiza. Así, se conforma un conjunto de reacciones conocido como *vía metabólica*.

Como resultado del estudio de la bacteria *E. coli* a lo largo de los años, ahora sabemos que en su metabolismo participan aproximadamente 800 diferentes compuestos orgánicos, también llamados *metabolitos*. Las reacciones químicas que constituyen el metabolismo dependen de la acción de las enzimas del microorganismo; en *E. coli* se han identificado aproximadamente 2 800 enzimas diferentes que participan en sus *vías metabólicas*.

Un número importante de los compuestos que constituyen el metabolismo celular tiene aplicaciones en la industria. Sin embargo, *E. coli* normalmente sintetiza sólo una cantidad muy pequeña de estos *metabolitos*. Esto se debe a que en la célula también existen mecanismos regulatorios que controlan la cantidad de los *metabolitos* producidos para que coincidan con las necesidades de la propia célula; de esta forma se evita que el organismo desperdicie energía al producir más de lo que necesita.

Existen dos mecanismos regulatorios principales que actúan en el metabolismo celular. Uno consiste en la regulación de la actividad de las enzimas que catalizan (aceleran) las reacciones del metabolismo. Por lo general, en estos casos el producto metabólico final ejerce un efecto inhibitorio de alguna de las enzimas que participan en su síntesis. El segundo

mecanismo es la regulación transcripcional, la cual controla el nivel de expresión de los genes que codifican para las enzimas de una vía metabólica específica. Este tipo de control también depende del producto generado, el cual ejerce un efecto represor en la expresión genética a partir de un cierto nivel de producción.

Por lo tanto, para lograr que un microorganismo se convierta en una biofábrica que sintetice mayores cantidades de un compuesto de interés, es necesario realizar modificaciones genéticas que alteren dichos mecanismos regulatorios de la vía metabólica. A la aplicación de la ingeniería genética para modificar el metabolismo se le llama ingeniería de vías metabólicas o ingeniería metabólica. El objetivo es modificar al microorganismo para que produzca un nivel elevado de un metabolito específico. Las recientes estrategias de la ingeniería metabólica han sido utilizadas con éxito para obtener microorganismos modificados que funcionan como biofábricas capaces de sintetizar un número importante de compuestos químicos, como los que se describen a continuación.

Biofábricas de L-tirosina

Entre los productos generados por los microorganismos modificados mediante ingeniería metabólica se encuentran los compuestos aromáticos. Éstos son productos químicos derivados del hidrocarburo benceno y tienen un papel importante en la industria farmacéutica, química y de alimentos. Ejemplos de este tipo de compuestos son el ácido acetil salicílico, conocido como aspirina; los polímeros poliéster y nylon, utilizados para la manufactura de ropa; así como el poliestireno, empleado para la generación de productos plásticos.

Los compuestos aromáticos utilizados actualmente se producen mediante síntesis química a partir de derivados del petróleo como principal materia prima. Las desventajas de estos procesos son que generan subproductos tóxicos contaminantes y que dependen de recursos no renovables. Como una alternativa, podemos considerar que existen microbios que comúnmente metabolizan azúcares simples como la glucosa u otras fuentes renovables de carbono. Así,

se pueden emplear microorganismos como biofábricas de compuestos aromáticos en procesos biotecnológicos no contaminantes (Alper, 1999).

Diversos microorganismos, y también las plantas, poseen la capacidad natural de sintetizar compuestos aromáticos como parte de su metabolismo. La vía común de síntesis de estos productos constituye una fuente de metabolitos esenciales, así como de un gran número de los llamados metabolitos secundarios. En el caso de *E. coli*, después de seis reacciones enzimáticas y la participación de un metabolito intermediario, se pueden obtener como productos finales los aminoácidos aromáticos L-triptofano (L-Trp), L-fenilalanina (L-Fen) y L-tirosina (L-Tir) (véase la Figura 1), de gran importancia para el ser humano.

Las técnicas actuales permiten lograr una versión genéticamente modificada –también denominada cepa– de las especies microbianas, con el fin de que éstas sean capaces de producir una cantidad elevada de alguno de los aminoácidos aromáticos de interés. La estrategia general consiste en eliminar los mecanismos de control de la actividad enzimática y de la expresión de genes relacionados con estas vías metabólicas. En términos generales, se utiliza la ingeniería metabólica para producir enzimas que no sean

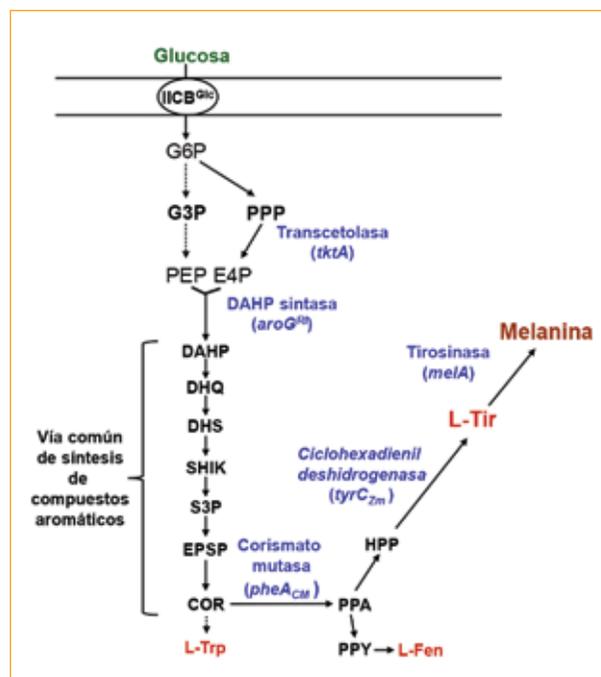


Figura 1. Vías metabólicas de síntesis de compuestos aromáticos en la bacteria *Escherichia coli*.



inhibidas por el producto final, así como para permitir que ciertos genes se expresen a pesar de la presencia de los compuestos aromáticos. Estas modificaciones en su conjunto tienen como efecto un aumento de la capacidad de síntesis de los metabolitos intermedios y de los productos finales.

Por ejemplo, para obtener una cepa de *E. coli* sobreproductora de L-tirosina, se requiere realizar modificaciones en esa vía biosintética específica. La L-tirosina es un aminoácido esencial en la dieta del ser humano y además tiene aplicaciones como precursor para la síntesis de fármacos y polímeros. En la vía metabólica de *E. coli* para L-tirosina hay dos reacciones que son realizadas por una enzima que se inhibe ante la presencia del compuesto aromático. Para evitar este punto de control, se buscó expresar genes que codifican para versiones naturales de la enzima que no son inhibidas por este aminoácido; incluso se utilizaron genes de otras especies de bacterias.

La cepa obtenida ha sido empleada en cultivos en fermentador (véase la Figura 2); esto es, un recipiente, generalmente de metal, el cual puede ser esterilizado para posteriormente agregarle un medio de cultivo y el microorganismo que se desea cultivar. El fermentador o biorreactor también permite mantener las condiciones óptimas para el crecimiento



Figura 2. Cultivo en fermentador de 1.5 litros para la producción de L-tirosina por *Escherichia coli*, modificada mediante ingeniería metabólica.

del microorganismo cultivado, que incluyen la temperatura, el pH y el nivel de oxígeno, entre otros parámetros. En cultivos en fermentador con la cepa de *E. coli* modificada por ingeniería metabólica, se ha logrado producir 9 g/l de L-tirosina a partir de glucosa (Chávez-Béjar y cols., 2008). En comparación, es importante señalar que una cepa no modificada de *E. coli* no es capaz de producir L-tirosina.

■ Biofábricas de melanina

■ Además de los aminoácidos aromáticos mencionados, en las plantas y algunos microorganismos se sintetizan otros tantos compuestos aromáticos. Entre ellos se encuentran las melaninas, las cuales son polímeros que se han identificado en diversos organismos, desde bacterias hasta humanos.

Existen varios tipos de melaninas, entre los que podemos destacar a la eumelanina, la cual proviene de la transformación de la L-tirosina por medio de la acción de la enzima tirosinasa. Una de las principales características de la eumelanina es el amplio rango de absorción dentro del espectro electromagnético, y por esta propiedad se le considera un pigmento. Recientemente ha aumentado el interés en el estudio y la producción de este tipo de polímeros, debido a que se han identificado algunas propiedades importantes. Se ha reportado que la eumelanina puede actuar como fotoprotector, agente quelante (que atrapa átomos de algunos metales), semiconductor amorfo, agente antioxidante y antiviral.

Las melaninas se pueden obtener mediante extracción a partir de tejidos vegetales o animales, o de cultivos de cepas naturales productoras de estas sustancias. Sin embargo, estos métodos tienen deficiencias, como el bajo rendimiento y la variabilidad en la composición química del producto. Debido a estas limitaciones, se decidió evaluar la posibilidad de generar una cepa de *E. coli* capaz de sintetizar eumelanina, lo cual permitiría desarrollar un proceso biotecnológico eficiente para producir este polímero.

Puesto que *E. coli* carece de un gen que codifica para la tirosinasa, se decidió obtener este gen a partir de la bacteria del suelo *Rhizobium etli*. Al introdu-



Figura 3. Producción de eumelanina en medio sólido por una cepa de *Escherichia coli* modificada mediante la inserción del gen *melA* de *Rhizobium etli*.

Al introducir dicho gen a la cepa de *E. coli*, se observó la formación de un polímero de color oscuro que corresponde a la eumelanina (véase la Figura 3). Esta cepa productora de eumelanina permitió el desarrollo de un proceso fermentador para la producción de 3 g/l de eumelanina a partir de glucosa, el nivel más alto reportado hasta el momento (Chávez-Béjar y cols., 2013).

■ Conclusiones y perspectivas

■ La ingeniería genética ha tenido un impacto importante en la industria desde hace ya un par de décadas; en este caso, al ser utilizada para la generación de biofábricas microbianas. Estos organismos modificados constituyen la fuente principal de un número importante de proteínas humanas que son usadas para tratar enfermedades. Es de esperarse que los avances en el estudio del genoma humano y su relación con algunos padecimientos permitan identificar nuevas proteínas con potencial uso terapéutico, las cuales muy probablemente serán producidas por microorganismos.

Por su parte, la ingeniería metabólica también ha permitido la generación de biofábricas para obtener diversos productos químicos. Estos incluyen a los biocombustibles, plásticos biodegradables, así como precursores para la industria química, farmacéutica y de alimentos. Es importante resaltar que la materia prima utilizada en estos procesos está constituida de azúcares o aceites de origen vegetal, y algunos de ellos son materiales de deshecho. Se espera que los procesos de producción basados en los organismos genéticamente modificados contribuyan a lograr la transición hacia una industria que no dependa del petróleo como materia prima.

El autor agradece el apoyo del Conacyt con el donativo 177568.

Guillermo Gosset

Instituto de Biotecnología, UNAM.
gosset@ibt.unam.mx

Lecturas recomendadas

- Alper, J. (1999), "Engineering metabolism for commercial gains", *Science*, 283:1625-1626.
- Chávez-Béjar, M. I., A. R. Lara, H. López *et al.* (2008), "Metabolic engineering of *Escherichia coli* for L-tyrosine production by expression of genes coding for the chorismate mutase domain of the native chorismate mutase-prephenate dehydratase and a cyclohexadienyl dehydrogenase from *Zymomonas mobilis*", *Applied and Environmental Microbiology*, 74(10):3284-3290.
- Chávez-Béjar, M. I., V. E. Balderas-Hernández, A. Gutiérrez-Alejandro *et al.* (2013), "Metabolic engineering of *Escherichia coli* to optimize melanin synthesis from glucose", *Microbial Cell Factories*, 12:108.
- Swartz, J. R. (2001), "Advances in *Escherichia coli* production of therapeutic proteins", *Current Opinion in Biotechnology*, 12:195-201.