XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería

METAGENÓMICA FUNCIONAL COMO HERRAMIENTA PARA OBTENER ENZIMAS CON APLICACIONES POTENCIALES EN BIOCATÁLISIS

Dolores Reyes Duarte[a], Carlina Peña García[a], Francisco Sánchez Enriquez[a], Manuel Ferrer[b]
[a]Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa, Depto. Procesos y Tecnología, México, D.F. 01120
[b]Departamento de Biocatálisis, CSIC - Instituto de Catálisis y Petrolequímica, 28049 Madrid, España
dreyes@correo.cua.uam.mx

Palabras clave: metagenómica, enzimas, biocatálisis

La biodiversidad presente en nuestro planeta, en particular la microbiana, es la mayor fuente de recursos biotecnológicos. Los métodos tradicionales para obtener nuevos biocatalizadores por cultivo directo de microorganismos puros son una estrategia estándar y potente, que ha permitido formar una amplia colección de microorganismos de diferentes ambientes. Sin embargo, estos métodos tradicionales de cultivo de microorganismos han limitado el análisis sólo a aquellos que pueden crecer en condiciones de laboratorio, es decir, sólo a los "microorganismos cultivables" y que representan a una muy pequeña parte de la gran diversidad microbiana(1). Se estima que son únicamente entre 1 y 10% del total de bacterias, virus y arqueas, dejando una gran cantidad de microorganismos por explorar (más de 10,000 especies diferentes).

Actualmente se tiene la capacidad de acceder a nuevos genes y sus productos, explotando los genomas secuenciados y generando librerías genómicas de microorganismos cultivables, pero el aislamiento, clonación y análisis del ADN total de una muestra (el llamado "metagenoma")(2) permite el acceso al potencial genético "prácticamente ilimitado" de los "microorganismos no cultivables". Esta técnica se basa en la extracción global de ADN a partir de todos los microorganismos presentes en una muestra de una fuente natural, y su posterior clonación en genotecas complejas recombinantes. La identificación de las enzimas o genes de interés se realiza a través de protocolos de selección o "screening" (búsqueda funcional) o bien a través del análisis de la secuencia de cada clon (búsqueda basada en secuencia).

La búsqueda funcional, en contraste con la búsqueda por homologías de secuencia, permite seleccionar enzimas en base a su actividad. De esta forma se han revelado gran número de genes que codifican péptidos con baja similitud de secuencias con las proteínas conocidas, con nuevas estructuras y con propiedades diferentes. Por lo tanto, esta estrategia no solo provee nuevas enzimas para nuevas aplicaciones biotecnológicas sino también permite asignar funciones a proteínas designadas como "hipotéticas". Así, los métodos de screening funcionales garantizan la máxima diversidad enzimatica para la búsqueda de lipasas y esterasas, entre otras enzimas.

El uso de estas técnicas metagenómicas para el descubrimiento de enzimas actualmente constituye una potente herramienta que hemos venido trabajando desde hace varios años.

Se participó en el desarrollo de una genoteca metagenómica de una muestra de rumen de vaca de la cual se aislaron 22 nuevas enzimas hidrolíticas (esterasas, celulasas y ciclodextrinasas) de las cuales 9 eran completamente nuevas. Este fue el primer estudio enzimático en rumen de vaca y uno de los primeros exitosos en la obtención de nuevas enzimas por técnicas metagenómicas y búsqueda funcional. En este trabajo se clonaron, purificaron, caracterizaron bioquímicamente y se estudió el potencial biocatalítico de las enzimas obtenidas(3-6).

México, siendo el cuarto país megadiverso, posee numerosas e inimaginables fuentes de enzimas. Entre ellas, una de nuestras riquezas son los alimentos fermentados tradicionales mexicanos. Desde esta perspectiva, el pozol y el atole agrio son muy interesantes para explorar funcionalmente debido a sus características de acidez, viscosidad y contenido de azúcares. Hay que recordar que cada hábitat explorado para tomar muestras de su metagenoma, debido a las extenuantes condiciones físicas, tendrá una microfauna especial que pueda permitir la obtención de enzimas con características o especificidades muy atractivas para un uso industrial específico y así permitir el desarrollo de nuevos bioprocesos (por ejemplo, patrones de hidrólisis específicos, temperaturas, pH y presiones óptimas elevados o muy bajos, etc.).

En esta plática se describirán las fortalezas de la metagenómica funcional para la búsqueda de enzimas, especialmente lipasas y esterasas, así como avances en las investigaciones desarrolladas.

Agradecimiento. Este trabajo ha sido financiado por PROMEP Apoyo a Nuevos PTC No. 4710061 y CONACYT CB-2008 No. 101784.

Bibliografía.

1. Pace, NR (1997) 276:734-740.
2. Handelsman, J *et al.* (1998) Chem Biol 5:R245-R249.
3. Ferrer, M., *et al.* (2005). *Environ. Microbiol.* 12(7) :1996-2010.
4. Reyes-Duarte, D., *et al.* (2005) *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* 44:7553-7557.
5. Beloqui A., *et al.* (2006). *J Biol Chem.* 11:281(32) pág. 22933-42 6. 4.
6. Reyes-Duarte, D., *et al.* (2007) Conociendo lo incultivable: Metagenoma y biocatálisis. *Memorias del 6º Simposio de Recursos Genéticos para América Latina y el Caribe.* Univ. Autónoma de Chapingo. México, D.F. (formato electrónico).