

Recibido: 17.12.2021 • Aceptado: 21.09.2022

Palabras clave: Biomasa, biocombustibles, hidrólisis, ingeniería metabólica, sacaros.

Ingeniería genética para la producción de biocombustibles

JORGE SÁNCHEZ ANDRADE

jorge.sanchez@ipicyt.edu.mx

INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA A. C.

RAÚL GONZÁLEZ GARCÍA

raulgg@uaslp.mx

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, UASLP

ANTONIO DE LEÓN RODRÍGUEZ

aleonr@ipicyt.edu.mx

INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA A. C.

¿Qué es la ingeniería genética?

Primero definamos la ingeniería, es la aplicación de los conocimientos científicos a la invención, diseño, perfeccionamiento y manejo de nuevos procedimientos en la industria y campos de aplicación científica. Por su parte, la genética es el estudio de la herencia, el mecanismo en el cual un padre le transmite ciertos rasgos producto de sus genes a sus hijos. Hemos escuchado sobre genética utilizando el ejemplo del color de los ojos: si los padres tienen los ojos verdes o azules, existe una muy alta probabilidad de que los hijos también los tengan del mismo color. Por lo tanto, la ingeniería genética es la manipulación de genes de una especie para transferirlos a la misma o diferente con el objetivo de dotarle de nuevas características o habilidades que de manera natural/evolutiva sería imposible que la tuviesen.

En la naturaleza, el flujo de información genética es muy lento entre especies que pertenecen al mismo género taxonómico, y más lento aún entre diferentes especies, a pesar de que hayan convivido por años. No comparan las mismas características fisiológicas o morfológicas debido a que los mecanismos de transferencia de material hereditario han sido casi nulos. En contraparte, con el desarrollo de la tecnología del ADN (o DNA) recombinante, popularmente conocido como ingeniería genética, se ha roto esta barrera de transferencia de material genético entre especies similares o distintas que a lo largo de la evolución no hayan convivido.

En la naturaleza marina existen medusas fluorescentes que tienen esa habilidad dado que en su ADN tienen un gen que codifica para la proteína verde fluorescente. El gen ha sido aislado de su ADN y mediante técnicas de ingeniería genética se ha clonado en ratones, de esta forma les confieren la nueva habilidad de fluorecer. El mismo gen ha sido clonado en bacterias que hoy en día se utilizan en experimentos ordinarios de laboratorio

(imagen 1). Con la ingeniería genética también es posible transferir genes de bacterias a plantas o de plantas a bacterias. Las plantas transgénicas se generan con diferentes objetivos, tales como aumentar su valor nutricional, hacerlas resistentes a plagas, enfermedades o temperaturas. En el caso de bacterias, se generan con el objetivo de producir metabolitos que tienen importantes aplicaciones en áreas de salud, alimentaria, industrial, entre otras.

Algunos de los descubrimientos más importantes que han posicionado a la ingeniería genética como una tecnología exitosa son el descubrimiento de las enzimas de restricción y la clonación de genes en plásmidos. Las enzimas de restricción son un tipo de enzimas con actividad nucleasa que reconocen sitios específicos de ADN y funcionan como unas tijeras moleculares que les permiten cortar y aislar un fragmento específico de ácidos nucleicos o un gen de un genoma o ADN. Una vez que ese fragmento es separado se liga o se recombina con un ADN extracromosómico, denominado plásmido, es así como se forma una nueva cadena de ADN recombinante.

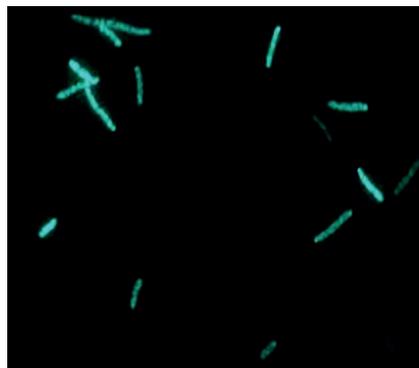


Imagen 1.
Clonación del gen que codifica para la proteína verde fluorescente proveniente de medusas en ratones y bacterias.

En la figura 1 se muestra el ADN bacteriano y el ADN plasmídico que se manipula, de esta manera se logran clonar genes que le otorgan nuevas características o habilidades a las bacterias, como por ejemplo, enzimas que le ayuden a degradar almidones, celulosa, hemicelulosas o azúcar de caña. El proceso puede ser escalado a reactores industriales para generar el producto de ese gen en cantidades industriales, posteriormente puede ser purificado y comercializado. El producto de este gen puede tener una gran cantidad de aplicaciones para sectores específicos. Insulina humana, hormona del crecimiento, interferones y enzimas para usos industriales son algunos ejemplos de proteínas recombinantes que se fabrican con genes sintéticos y tecnologías de ingeniería genética, y que hoy en día están disponibles en el mercado.

Papel de la ingeniería genética en la producción de biocombustibles

Un ejemplo más es la producción de biocombustibles como el etanol y el hidrógeno. Una forma de producirlos es mediante el metabolismo fermentativo bacteriano. La bacteria *E. coli* puede oxidar la glucosa en piruvato

to y en condiciones anaerobias el piruvato es reducido a etanol e hidrógeno (figura 2a).

El etanol es uno de los combustibles líquidos más utilizados por motores de combustión interna (Meadows, Kang y Lee, 2018) y también puede ser utilizado como solvente en la industria química o como desinfectante. Por su parte, el hidrógeno es un potente acarreador energético, considerado el combustible del futuro, ya que libera una gran cantidad de energía y su combustión no genera CO_2 , por lo que no contamina. El hidrógeno cuenta con un poder calorífico, por cada gramo, de alrededor de cuatro veces mayor que el de las gasolinas. Actualmente existen enfoques por desplazarse a energías limpias, renovables, que no contaminen o que lo hagan en un menor grado que los derivados del petróleo. Gobiernos de diferentes países buscan utilizar estas energías amigables con el medio ambiente. Sin embargo, todavía no es económicamente viable utilizar biocombustibles. Actualmente es más económico utilizar los derivados del petróleo, aunque impacten drásticamente al medio ambiente. No obstante, cuando los niveles de contaminación sean tan drásticos o

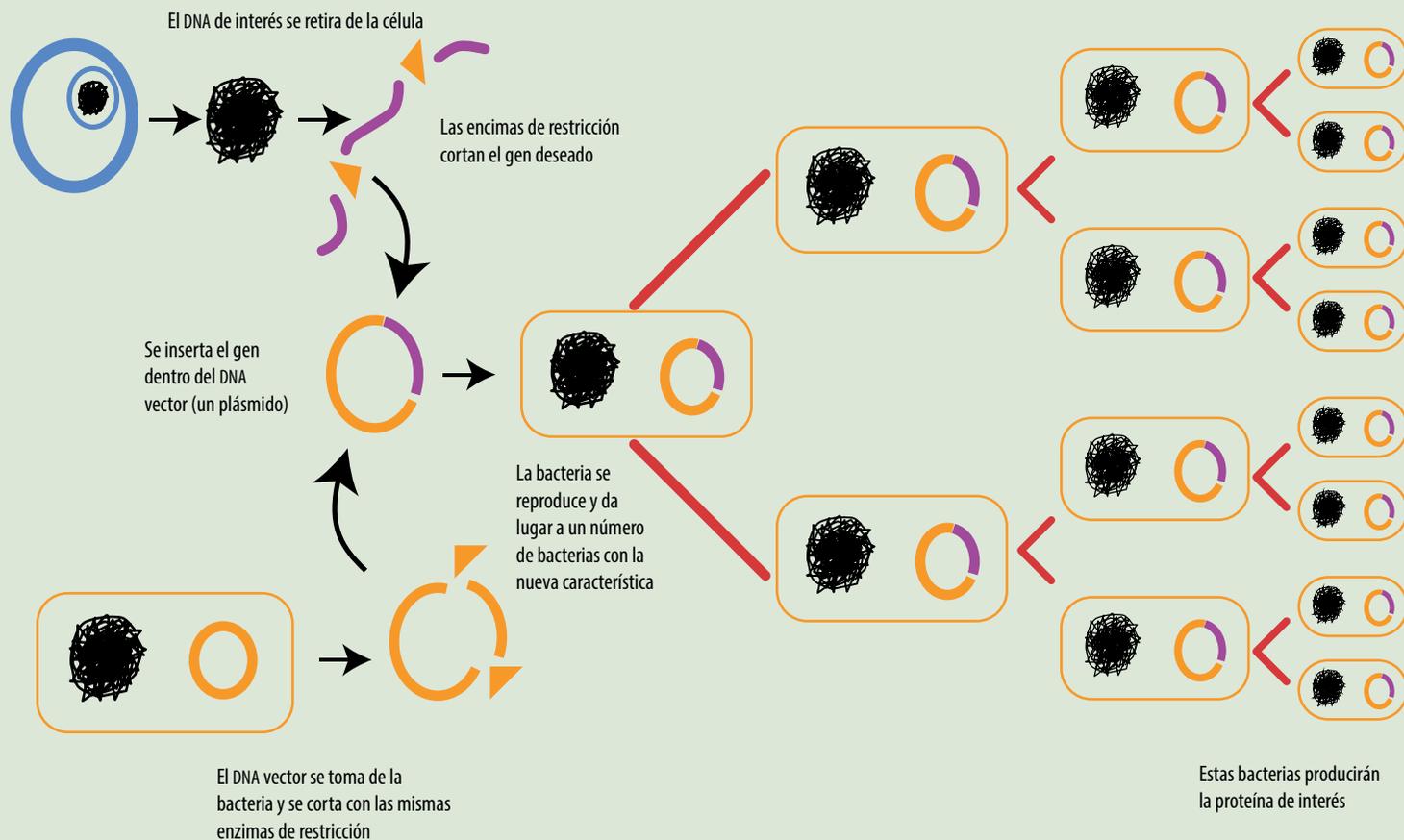


Figura 1. Esquema de obtención de proteínas recombinantes mediante la donación de genes en plásmidos.

cuando el petróleo se agote, se requerirá una tecnología que permita economizar la producción de biocombustibles. Una tecnología prometedora es el diseño de herramientas de ingeniería genética para la aplicación en la generación de microorganismos benéficos para su uso como biofábricas en la síntesis de productos útiles a través de procesos amigables con el medio ambiente y fuentes de carbono renovables.

Para ello, en el Laboratorio de Bioingeniería y Biotecnología Molecular del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT) en colaboración con la Facultad de Ciencias Químicas de la UASLP, hemos generado cepas modificadas por ingeniería de vías metabólicas para aumentar los niveles de producción de etanol e hidrógeno. En el laboratorio contamos con cepas etanológicas de *E. coli* de las que hemos eliminado los genes *idha*, *frdA* y *pta* que codifican para las enzimas D-lactato deshidrogenasa, fumarato reductasa y fosfato

acetil transferasa (Balderas-Hernandez, Landeros Maldonado, Sánchez Smoliński y De León Rodríguez, 2020), con el objetivo de redirigir el flujo de carbono hacia los metabolitos de interés que son principalmente el etanol e hidrógeno (figura 3b).

Otro de los enfoques que tenemos en el grupo es dotarle a *E. coli* la habilidad de utilizar fuentes de carbono alternas a la glucosa tales como la sacarosa. La sacarosa comúnmente conocida como azúcar está formada por glucosa y fructosa que se obtiene a partir de la extracción de caña de azúcar o de la remolacha azucarera. La sacarosa es el disacárido más abundante de la tierra y la materia prima más barata y disponible para bioprocesos industriales. Tan sólo en México se ha reportado la producción de más de 55 millones de toneladas de caña de azúcar al año. Además, una gran cantidad de melazas ricas en sacarosa son generadas como subproductos o desechos en la producción de azúcar.

Ingeniería genética

para la producción de biocombustibles



La ingeniería genética es la manipulación de genes de una especie para transferirlos a la misma o diferente con el objetivo de dotarle de nuevas características o habilidades que de manera natural/evolutiva sería imposible que tuviesen. Incluso cuando las especies no hayan convivido a lo largo de su evolución.



Gracias a la ingeniería genética también es posible transferir genes de bacterias a plantas o de plantas a bacterias.



Las plantas transgénicas se generan para aumentar su valor nutricional, volverlas resistentes a plagas, enfermedades o temperaturas.



En el caso de bacterias, se generan con el objetivo de producir metabolitos que tienen importantes aplicaciones en áreas de salud, alimentaria, industrial, entre otras.



El etanol y el hidrógeno son dos biocombustibles, es decir, energías amigables con el medio ambiente, pero su uso no es tan económico como el de los derivados del petróleo.

Una forma de producirlos es mediante el metabolismo fermentativo bacteriano. La bacteria *E. coli* puede oxidar la glucosa en piruvato y en condiciones anaerobias el piruvato es reducido a etanol e hidrógeno.



El Laboratorio de Bioingeniería y Biotecnología Molecular del IPICYT, en colaboración con la Facultad de Ciencias Químicas de la UASLP, han generado cepas modificadas por ingeniería de vías metabólicas para aumentar los niveles de producción de ambos biocombustibles. Aún falta mucho camino por recorrer en el área de la producción de energía de manera sustentable, pero instituciones como las mencionadas ya están haciendo esfuerzos para contribuir a ello.



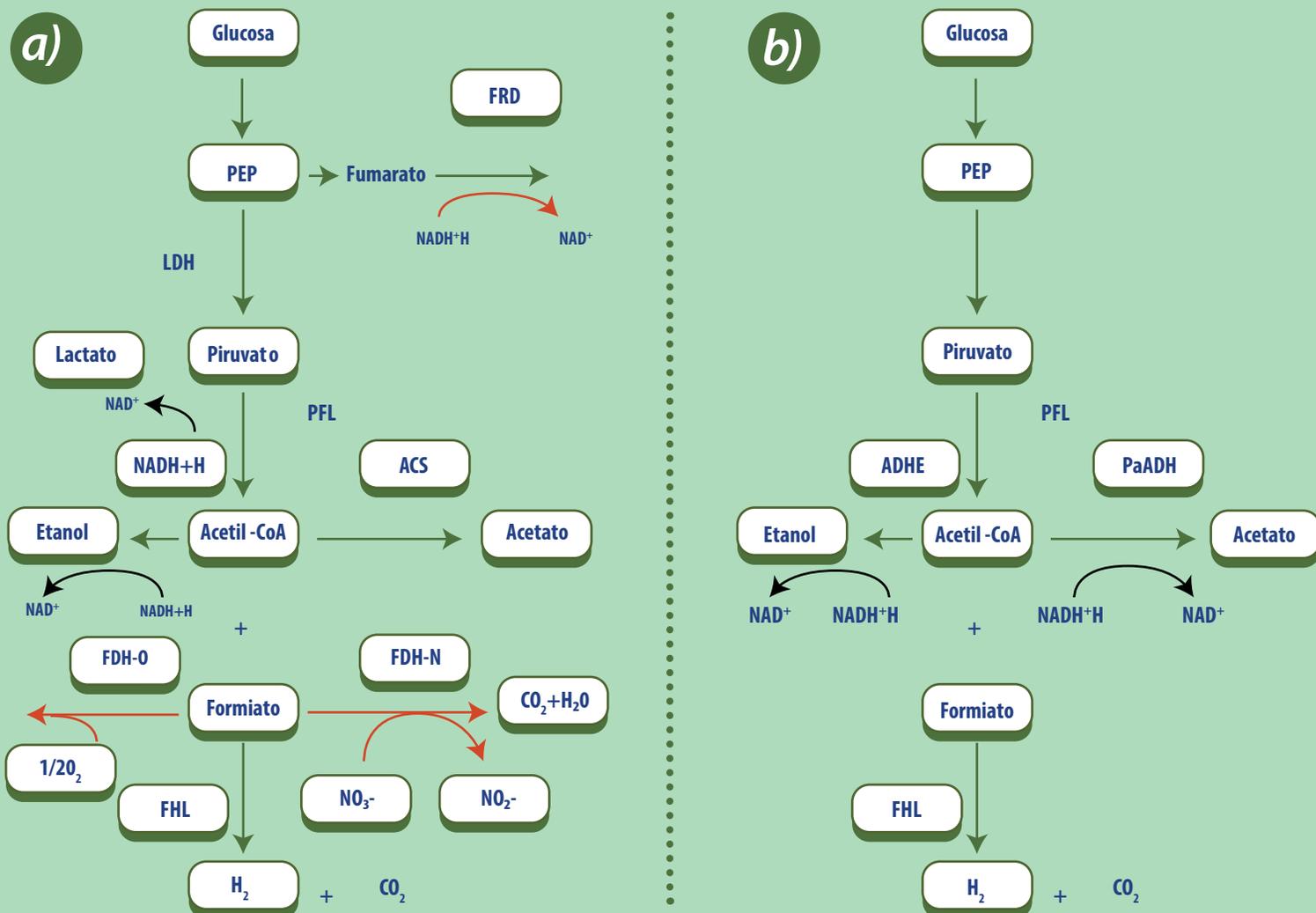


Figura 2
 a) Vía metabólica que *E. coli* utiliza para la producción de etanol e hidrógeno, b) vía metabólica modificada por ingeniería de vías metabólicas en *E. coli* para aumentar los títulos de etanol e hidrógeno.

Los azúcares contenidos en estas melazas pueden ser liberados mediante tratamientos fisicoquímicos o enzimáticos y transformados en biocombustibles mediante el metabolismo fermentativo bacteriano. Desafortunadamente, *E. coli* no puede utilizar sacarosa como fuente de carbono. No obstante, desde el punto de vista industrial y con técnicas de ingeniería genética es posible generar cepas de *E. coli* que posean esta habilidad con la finalidad de transformarla en metabolitos de alto valor industrial como etanol e hidrógeno. Para ello, hemos generado una

cepa de *E. coli* que produce una sacarasa proveniente de *B. subtilis* (microorganismo especializado en degradar azúcares (imagen 2)). Al dotarle esta habilidad a *E. coli* y al crecerla en medio mínimo con sacarosa como única fuente de carbono es capaz de asimilarla para transformarla en etanol e hidrógeno. El desarrollo de herramientas de ingeniería genética, así como la expresión de enzimas hidrolíticas como la sacarasa en *E. coli* modificadas genéticamente promete ser un proceso económico y eficiente para la producción de biocombustibles.

Es maestro en Biotecnología Aplicada por el Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada y actualmente estudia el Doctorado en Biología Molecular en el Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, en donde elabora el proyecto "Generación de cepas de *E. coli* para la producción de biocombustibles."

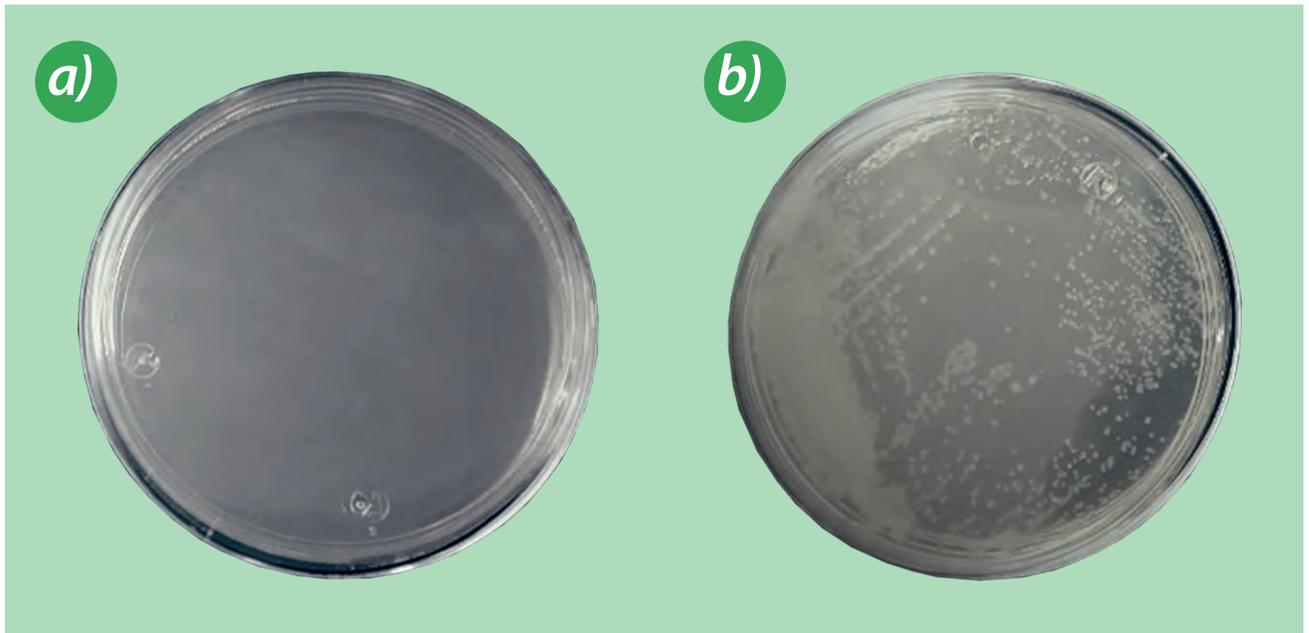


Imagen 2. Cultivo en placas *E. coli* en medio mínimo con sacarosa como única fuente de carbono. a) Cultivo en placa de células de *E. coli* antes de la manipulación genética; b) Células de *E. coli* manipuladas mediante ingeniería genética para asimilar sacarosa.

Hoy en día, modificar genéticamente las bacterias y dotarlas de la capacidad de utilizar materias primas económicas y producir metabolitos de valor agregado como etanol e hidrógeno, promete ser un proceso para obtener energía de manera sustentable. Sin embargo, todavía queda un largo camino por recorrer, por lo que es necesario seguir investigando para desarrollar procesos novedosos de producción que en un futuro no muy lejano puedan aplicarse a escala comercial.

Agradecimientos

Al doctor Víctor E. Balderas Hernández del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A.C. por su apoyo técnico. También al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento parcial a través de los proyectos Conacyt-Ciencias Básicas 281700.

Referencias bibliográficas:

- Balderas-Hernandez, V. E., Landeros Maldonado, K. P., Sánchez, A., Smoliński, A. y De León Rodríguez, A. (2020). Improvement of hydrogen production by metabolic engineering of *Escherichia coli*: Modification on both the PTS system and central carbon metabolism. *International Journal of Hydrogen Energy*, 45(9), pp. 5687-5696. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.01.162>
- Meadows, C. W., Kang, A. y Lee, T. S. (2018). Metabolic Engineering for Advanced Biofuels Production and Recent Advances Toward Commercialization. *Biotechnology Journal*, 13(1). Recuperado de: <https://doi.org/10.1002/biot.201600433>