

Presidente

Antonio Ventosa Uvero

Dpto. Microbiología. Facultad de Farmacia.
Universidad de Sevilla.
C/ Prof. García González, s/n. 41012 Sevilla.
ventosa@us.es

Vice-Presidente

Rafael Giraldo Suárez

Centro de Investigaciones Biológicas. CIB-CSIC.
C/ Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid.
rgiraldo@cib.csic.es

Secretario

Juan Alfonso Ayala Serrano

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa.
CSIC-Universidad Autónoma de Madrid.
C/ Nicolás Cabrera, 1. 28043 Madrid.
jayala@cbm.csic.es

Tesorero

Víctor Jiménez Cid

Dpto. Microbiología II. Facultad de Farmacia.
Universidad Complutense de Madrid. 28040 Madrid.
vicjcid@ucm.es

Editores de publicaciones

International Microbiology

José Berenguer (Codirector - Madrid)

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa.
Departamento de Biología Molecular.
CSIC-Universidad Autónoma de Madrid.
C/ Nicolás Cabrera, 1. 28043 Madrid.
jberenguer@cbm.uam.es

Ricardo Guerrero (Codirector - Barcelona)

Institut d'Estudis Catalans.
C/ Carmen, 47. 08001 Barcelona.
rguerrero@iec.cat

SEM@foro

Manuel Sánchez Angulo

Departamento de Producción Vegetal y Microbiología.
Universidad Miguel Hernández.
03202 Elche. (Alicante)
m.sanchez@umh.es

NoticiaSEM

Inmaculada Llamas Company

Departamento de Microbiología.
Facultad de Farmacia. Universidad de Granada.
Campus de Cartuja. 18071 Granada.
illamas@ugr.es

Directora de la Colección Española de Cultivos Tipo

Rosa Aznar Novella

Dpto. Microbiología y Ecología.
Facultat de Ciències Biològiques. Univ. de València.
C/ Dr. Moliner 50. 46100 Burjassot, València.
rosa.aznar@uv.es

Responsable Cursos de Formación Continua on-line

Diego Alejandro Moreno Gómez

Dpto. de Ingeniería y Ciencia de los Materiales.
ETS Ingenieros Industriales.
Universidad Politécnica de Madrid.
José Gutiérrez Abascal, 2. E-28006 Madrid.
diego.moreno@upm.es

Vocales

M^a José Figueras Salvat

Unitat de Biologia i Microbiologia. Facultat de Medicina i
Ciències de la Salut. Universitat Rovira i Virgili.
C/ Sant Llorenç, 21. E-43201 Reus
mariajose.figueras@urv.cat

Inés Arana Basabe

Dpto. de Inmunología, Microbiología y Parasitología.
Facultad de Ciencias y Tecnología.
Universidad del País Vasco (UPV/EHU).
C/ Barrio Sarriena s/n. E-48940 Leioa, Bizkaia
ines.arana@ehu.es

Montserrat Llagostera Casas

Dpto. de Genética i Microbiologia. Universitat Autònoma
de Barcelona. Cerdanyola del Vallès. 08193 Barcelona
montserrat.llagostera@uab.cat

Ignacio Belda Aguilar

Departamento de Microbiología III.
Facultad de Biología. Universidad Complutense
de Madrid. 28040 Madrid.
ignaciobelda@ucm.es

Diego A. Moreno Gómez

Dpto. de Ingeniería y Ciencia de los Materiales.
ETS Ingenieros Industriales. Universidad Politécnica
de Madrid. José Gutiérrez Abascal, 2. E-28006 Madrid.
diego.moreno@upm.es

David Rodríguez Lázaro

Grupo Tecnología y Seguridad Alimentaria.
Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León.
Carretera de Burgos, Km.119. 47071 Valladolid.
ita-rodrlazda@itacyl.es

Presidentes de Grupos

Biodeterioro y Biodegradación

Asunción de los Ríos Murillo

Instituto de Recursos Naturales.
Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC.
Serrano 115 dpdo. 28006 Madrid.
arios@ccma.csic.es

Hongos Filamentosos y Levaduras (Micología)

Humberto Martín Brieva

Dpto. Microbiología II. Facultad de Farmacia.
Universidad Complutense.
Pza. Ramón y Cajal s/n. 28040 Madrid.
humberto@ucm.es

Biología de Microorganismos Patógenos

Ángel Domínguez Olavarri

Departamento de Microbiología y Genética.
Universidad de Salamanca. 37007 Salamanca.
ado@usal.es

Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana

Francisco Javier Pastor Blasco

Dpto. de Genética, Microbiología y Estadística
Facultad de Biología. Univ. de Barcelona.
Avda. Diagonal 643. 08028 Barcelona.
fpastor@ub.edu

Microbiología de los Alimentos

Gonzalo García de Fernando Minguiñón

Dpto. Nutrición, Bromatología y Tecnología
de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, UCM,
Avda. Puerta de Hierro s/n, Madrid 28040
e-mail: mingui@vet.ucm.es

Microbiología Molecular

Bruno González Zorn

Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET).
Universidad Complutense.
Av. Puerta de Hierro, s/n. 28040 Madrid.
bgzorn@ucm.es

Microbiología del Medio Acuático

Alicia Estévez Toranzo

Departamento de Microbiología
Facultad de Biología / CIBUS
Universidad de Santiago de Compostela
Campus Universitario Sur, s/n
15782 Santiago de Compostela - A Coruña
alicia.estevez.toranzo@usc.es

Microbiología de Plantas

Antonio de Vicente Moreno

Dpto. de Microbiología. Facultad de Ciencias.
IHSM-UMA-CSIC.
Campus de Teatinos. Universidad de Málaga.
29071 Málaga.
adevicente@uma.es

Protistología

Ana Martín González

Dpto. Microbiología III. Facultad de Biología.
Universidad Complutense.
C/ José Antonio Novais, 2. 28040 Madrid.
anamarti@bio.ucm.es

Taxonomía, Filogenia y Biodiversidad

Jesús López Romalde

Dpto. Microbiología y Parasitología.
Facultad de Farmacia, Univ. de Santiago de Compostela.
15706 Santiago de Compostela. (A Coruña).
jesus.romalde@usc.es

Docencia y Difusión de la Microbiología

Inés Arana Basabe

Dpto. de Inmunología, Microbiología y Parasitología.
Facultad de Ciencias y Tecnología.
Universidad del País Vasco (UPV/EHU).
C/ Barrio Sarriena s/n. E-48940 Leioa, Bizkaia
ines.arana@ehu.es

SEM@foro es una publicación semestral de la **Sociedad Española de Microbiología (SEM)**

Director: **Manuel Sánchez Angulo**. E-mail: m.sanchez@umh.es.

Co-editor de la Sección Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana: **Francisco Javier Pastor Blasco**

Webmaster de la SEM: **Jordi Urmeneta Masó**. E-mail: jurmeneta@ub.edu. Departamento de Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona. Avda. Diagonal, 645. E-08028 Barcelona.

La SEM y el Director no comparten necesariamente las opiniones que puedan aparecer en artículos, informaciones o cartas enviados por los socios, ni se responsabilizan de su veracidad.

ISSN: 2254-4399

Depósito Legal: M-12838-2013

Maquetación e Impresión: **Diseño y Control Gráfico, S.L.** Tel.: 91 731 05 13.

E-mail: info.dcg@design2aa.com • www.design-2aa.com

www.semicrobiologia.org/sec/SEMaFORO

SUMARIO

SEM@FORO

NUM. 63 | JUNIO 2017



Collage realizado a partir de las imágenes de los diferentes artículos de los miembros del Grupo de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana

Visite la página web de la SEM:
www.sem@foro.org

Encontrará información actualizada sobre congresos, reuniones, cursos y becas

Socios protectores de la SEM:

Francisco Soria Melguizo, S.A.



Fundación Medina



Para solicitar más información, inscripciones o publicidad, diríjase a la Secretaría de la

Sociedad Española de Microbiología

C/ Rodríguez San Pedro, 2
Planta 2ª – despacho 210
28015 Madrid
Tel. 91 561 33 81

secretaria.sem@semicrobiologia.org

NOTA DEL PRESIDENTE

Antonio Ventosa 2

NUESTROS GRUPOS

Informes de los grupos especializados 3

ARTÍCULOS

Sellos postales conmemorativos de Congresos de Microbiología 5

España regula el acceso *in situ* y *ex situ* a sus recursos genéticos 10

CONGRESOS

XV WORKSHOP “Métodos rápidos y automatización en microbiología alimentaria” 11

ESPECIAL MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL Y BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA

Carta del Presidente de grupo 13

Evaluación del potencial biotecnológico y medioambiental de microorganismos ligninolíticos (actinobacterias y hongos) y sus sistemas enzimáticos 14

Enzimas Microbianas de Aplicación Industrial 17

Microbiología Aplicada y Biotecnología de Hongos 20

MEDINA: Diversidad microbiana y productos naturales 23

Biología Molecular de Corinebacterias 26

INBIOTEC. Biotecnología microbiana aplicada a la industria farmacéutica, agroalimentaria y medioambiental 29

Grupo de la unidad de biocarburantes del CIEMAT 32

Biotecnología para la utilización de la biomasa lignocelulósica 34

La bacteria marina *Marinomonas mediterranea* como modelo de estudio: de la síntesis de melaninas al análisis de un nuevo sistema CRISPR-Cas 36

Grupo de biosíntesis de compuestos bioactivos por microorganismos (BIOMIC) 38

Regulación génica en *Streptomyces* 41

Biotecnología Microbiana y Alimentaria 43

Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana: Microorganismos y productos microbianos bioactivos 46

NUESTRA CIENCIA

Más allá de la conjugación. Nuevos mecanismos de transferencia horizontal génica 48

El sistema de secreción de tipo VI (T6SS) de *Pseudomonas putida* protege a las plantas del ataque de fitopatógenos 49

Análisis del DNA genómico y determinación de su mecanismo de empaquetamiento de tres nuevos bacteriófagos virulentos de *Salmonella* 50

Microencapsulación con alginato: Una estrategia de mejora de la terapia con fagos 51

TESIS

Resúmenes de tesis doctorales 52

Jóvenes Investigadores de la SEM

Informe resumen de actividades JISEM. Marzo 2017 54

Nota del Presidente

Antonio Ventosa

Presidente de la SEM



El gran reto de nuestra Sociedad Española de Microbiología (SEM) para el presente año es sin duda alguna la organización, de manera conjunta con la Federación Europea de Sociedades de Microbiología (FEMS), del VII Congreso FEMS y el XXVI Congreso Nacional de Microbiología de la SEM, durante los días 9 al 13 de julio de 2017 en la bella ciudad de Valencia. No es un evento fácil de organizar, dada la complejidad del programa científico, con hasta ocho sesiones paralelas en temáticas muy diferentes, diversas actividades enfocadas a los más jóvenes, a los emprendedores o los docentes, entre otros, así como por la infraestructura que se requiere en un congreso que acogerá a unos 2500-3000 participantes, pero estamos trabajando con una enorme intensidad e ilusión para que este congreso sea un gran éxito en todos los sentidos. De momento, los datos de los que disponemos hasta la fecha son alentadores. La respuesta que hemos tenido por parte de los conferenciantes invitados ha sido magnífica y no me equivoco si afirmo que el programa científico será de un altísimo nivel, cubriendo campos muy amplios de la Microbiología, y en el que intervendrá un nutrido grupo de representantes españoles, aunque evidentemente será imposible dar cabida a todas las áreas que conforman nuestra ciencia. Hemos recibido una enorme cantidad de resúmenes y el número de participantes que llevamos inscritos hasta la actualidad hacen presagiar que este congreso supondrá un éxito de participación y muy posiblemente un récord con respecto a los congresos anteriormente organizados por FEMS. En gran medida dicho éxito se deberá a la participación masiva de microbiólogos españoles. Desde aquí quisiera agradecer a nuestros investigadores la res-

puesta tan positiva que han mostrado hacia este congreso. También me gustaría resaltar la elevada participación de investigadores de países asiáticos y americanos, contribuyendo a que este congreso tenga un ámbito realmente internacional y no solamente europeo. Sin lugar a dudas, esta será una de las grandes citas internacionales en el ámbito de la Microbiología para el presente año 2017.

Otro reto importante para nuestra sociedad que me gustaría compartir con los socios de la SEM está relacionado con nuestra revista *International Microbiology* (IM). A finales del presente año 2017 finaliza el contrato con el Instituto de Estudios Catalanes (IEC) por el que se ha venido publicando nuestra revista en los últimos años, a través del esfuerzo del equipo editorial dirigido por nuestro compañero Ricardo Guerrero. Hace unas fechas Ricardo nos ha manifestado su intención de terminar esta labor encomiable por la que todos debemos estarle, a él y a todo su equipo, enormemente agradecidos. Aunque desde hace unos años la responsabilidad de la gestión científica, como Editor-Jefe de IM, recae en José Berenguer (Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, CSIC-Universidad Autónoma de Madrid), la sede editorial sigue estando localizada en Barcelona coordinada por Ricardo Guerrero. Actualmente estamos realizando gestiones con empresas del sector editorial para llegar a un acuerdo ventajoso para la SEM y conseguir un contrato que conlleve la publicación de la revista IM a través de una empresa de prestigio que nos permita tener la mayor visibilidad posible y unas altas cotas de calidad, en unos tiempos en los que este sector es realmente muy competitivo y con expectativas cambiantes en un futuro muy cercano.

Como sabéis el gran problema de *International Microbiology* no es otro que el de la escasa calidad de muchos de los manuscritos que se reciben, lo cual supone un enorme trabajo editorial de gestión y evaluación de los mismos, para llegar a un número reducido de artículos que son finalmente publicados. Por otro lado, pese al elevado número de socios de la SEM, el número de manuscritos que se reciben de investigadores españoles sigue siendo muy bajo. Este es un tema recurrente, en el que tanto Ricardo Guerrero como actualmente José Berenguer y muchos de los miembros de la Junta Directiva de la SEM vienen insistiendo de forma reiterada, solicitando la colaboración de todos vosotros. El futuro de nuestra revista está en manos de los socios y debemos ser conscientes de que, independientemente de aspectos tales como el factor de impacto, debemos contribuir con artículos de calidad para lograr que nuestra revista alcance las cotas de calidad que serían deseables, acordes con el excelente nivel de la investigación en ciencias microbiológicas de nuestro país. Bastaría con que cada uno de los laboratorios a los que pertenecen nuestros socios publicase un trabajo en IM para que ésta fuese reflejo fiel del nivel excelente de nuestra Microbiología. Será necesario realizar un debate en profundidad acerca de la opinión de nuestros socios sobre el futuro de *International Microbiology* y animo a todos a que nos hagan llegar sus comentarios al respecto y a que contribuyan generosamente a que nuestra revista tenga el espléndido futuro que merece y todos deseamos.

Recibe un cordial saludo,

Antonio Ventosa
Presidente de la SEM

BIODETERIORO, BIODEGRADACIÓN Y BIORREMEDIACIÓN



Asunción de los Ríos
Presidenta del Grupo

Se ha celebrado con gran éxito el **“International Meeting on New Strategies in Bioremediation Processes-BioRemid-2017”** en Granada durante los días 9 y 10 de Marzo de 2017. Esta reunión organizada por el grupo de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigación del Agua de la Universidad de Granada ha constituido el punto de encuentro de más de cien expertos, procedentes de 12 países diferentes, relacionados con la temática de la biorremediación. Científicos y representantes del sector industrial han presentado comunicaciones de gran calidad correspondientes a un amplio abanico de temas que cubrieron desde recientes avances científicos y metodológicos, hasta aplicaciones de estos procesos en la industria y en la conservación del medio ambiente, lo que ha permitido discutir sobre temáticas de interés común. Esta iniciativa ha contado con el apoyo del grupo Biodeterioro, Biodegradación y Biorremediación de la SEM, quien ha concedido un premio de 300 euros a la mejor presentación de investigador joven. Este premio ha recaído en la comunicación "Development of new molecular tools from Rhodococcus strains to evaluate soil quality and to enhance microbial degradation in soil bioremediation" presentada por Alessandra Di Canito de la Universidad de Milan Bicocca (Italia).

Os animamos a participar en el congreso FEMS-2017 que se celebrará en Valencia del 9-13 de Julio y esperamos podáis asistir tanto al simposio titulado "Role of Microorganisms in the degradation of materials" que el grupo organiza en el citado congreso (martes 11 de julio a las 10:00), como a la reunión del grupo que está previsto tenga lugar el lunes 10 de julio de 17:30 a 18:30.

MICROBIOLOGÍA MOLECULAR



Bruno González-Zorn
Presidente del Grupo

El Grupo de Microbiología Molecular celebró el pasado mes de Septiembre su reunión anual (ver SEM@FORO NUM. 62 | DICIEMBRE 2016, pag 10-11). Con 164 participantes, la Reunión fue todo un éxito y quisiera aprovechar estas líneas para felicitar de nuevo a los organizadores locales, Alicia M. Muro Pastor, Francisco Ramos Morales, Joaquín J. Nieto y Josep Casadesús por su excelentísima labor como anfitriones. La próxima Reunión de Grupo se celebrará en 2018 en Zaragoza, bajo la supervisión de José Antonio Ainsa y Carlos Martín, muchas gracias por ofrecerlos.

El Grupo ha incrementado notablemente su número de socios, ahora somos 319. Cabe destacar además que 49 de los nuevos miembros del Grupo son también nuevas incorporaciones a la SEM. Recordad que tenéis a vuestra disposición el Tablón MicroMol, a través del cual se informa de las ofertas, eventos y convocatorias que los socios consideran importantes para el resto de la comunidad. Esta herramienta de distribución será próximamente integrada en la nueva página web del Grupo, que se presentó en Sevilla (www.micromolecular.es), y que ya es accesible. Invitamos a todos los miembros a que la visiten y aporten sus ideas. Cada Grupo está representado, por lo que conviene revisarlo para incluir nuevos miembros y actividades. Agradecemos desde aquí a Federico Navarro y a Jesús Pla por el apoyo constante y la labor realizada con la antigua página web, que ha servido para construir la nueva.

En Valencia durante el Congreso FEMS se celebrará la reunión de Grupo el día 10 de Julio, de 18:30 -19:30. Anunciaremos el lugar exacto a través del Tablón MicroMol.

Felicidades a nuestro colega Victor Cid por liderar una iniciativa única en España y en Europa continental con el desarrollo de The Small World Initiative (<http://swispain.blogspot.com.es/>), basado en el descubrimiento de antibióticos en Institutos de Secundaria. Tras el proyecto piloto en Madrid, la idea es extender la actividad con un curso para todos los interesados el mes de Julio.

Por último, pero probablemente lo más importante, felicitamos con mucho cariño a Felipe Cava, miembro de nuestro Grupo, y ganador del XVII Premio Jaime Ferrán 2017 de la SEM. (<https://fems-microbiology.org/spotlight-sem-jaime-ferran-awardee/>). El jueves 13 de Julio durante la Jornada de Clausura del Congreso FEMS, 12:30-14:00 Hall A, Felipe recibirá el Premio y dará su Conferencia como premiado. ¡Enhorabuena!

MICROBIOLOGÍA DE PLANTAS



Antonio de Vicente Moreno
Presidente del Grupo

Málaga, a 17 de marzo de 2017

Queridos compañeros,

De acuerdo con los estatutos de la Sociedad Española de Microbiología, correspondía la renovación parcial de la Junta Directiva del Grupo Especializado Microbiología de Plantas de la SEM a principios de este año. El calendario electoral se ha desarrollado durante los meses de enero a marzo de 2017. La única candidatura recibida fue la presentada por la propia Junta Directiva del grupo para la renovación de los tres cargos.

La votación se realizó *online* del 1 al 15 de marzo y se emitieron 23 votos, lo que supone una participación del 35,9%. Los resultados de la votación arrojan el siguiente recuento:

- Vicepresidente, Dr. D. José Manuel Palacios Alberti: 21 votos.
- Secretario, Dr. D Diego F. Romero Hinojosa: 22 votos.
- Vocal, Dr. D^a Marta Martín Basanta: 22 votos.

Por tanto, quedan elegidos los tres candidatos, el nuevo Vicepresidente accede por primera vez al puesto, mientras que el secretario y la vocal inician su segundo mandato de 4 años. La Junta queda completada por los actuales Presidente, Antonio de Vicente; Tesorera, María Trinidad Gallegos y Vocal, Nuria Gaju. El proceso electoral se culminará con la incorporación de los nuevos miembros a la Junta durante la celebración de la séptima reunión (MiP'17) del Grupo Especializado, que tendrá lugar en Salamanca del 8 al 10 de mayo de 2017, donde espero nos encontremos todos.

Finalmente felicitar a los candidatos ya nuevos miembros de la Junta, y agradecer

les su disposición a seguir colaborando con el grupo; así como agradecer a todos los participantes en el proceso electoral.

Un cordial saludo.

MICROBIOLOGÍA DEL MEDIO ACUÁTICO



Alicia Estévez Toranzo
Presidenta del Grupo

En el mes de febrero (del 1 al 10) ha tenido lugar las elecciones para la renovación parcial de la Junta Directiva en los cargos de

Presidente/a, Tesorero/a y dos vocales. Una vez celebrada la votación reglamentaria en la que ha habido un 30% de participación, se proclamaron los candidatos electos. De esta forma, la Junta Directiva queda formada por:

- Presidenta: Alicia Estévez Toranzo
- Vicepresidenta: Rosa M^a Pintó Solé
- Secretaria: M^a Dolores Castro López
- Tesorera: Consuelo Estéve Sánchez
- Vocales:
 - Teresa Pérez Nieto
 - Inmaculada Solis Andrés
 - Manuel Lemos Ramos
 - José Agustín Guijarro Atienza

En nombre de la Junta Directiva queremos expresar nuestro más sincero agradecimiento a los miembros salientes, Juan José Borrego García, M^a Carmen Macián Rovira y M^a José Figueras Salvat, por la gran labor realizada durante estos años.

La Asamblea del Grupo durante el próximo Congreso FEMS/SEM (2017) tendrá lugar el lunes 10 de julio de 17:30 a 18:30 h.

IUMS 2017 SINGAPORE
International Union of Microbiological Societies

17 - 21 July 2017
Sands Expo & Convention Centre, Singapore

15th International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology
15th International Congress of Mycology and Eukaryotic Microbiology
17th International Congress of Virology

Join the Largest, Most Comprehensive Community of Microbiologists at IUMS 2017

Organised by the Singapore Society for Microbiology and Biotechnology (SSMB) and the International Union of Microbiological Societies (IUMS), IUMS 2017 incorporates THREE international congresses!

WHO SHOULD ATTEND

- Undergraduate, post-graduate students and post-doctoral fellows in the related fields of Microbiology
- Scientists, researchers, clinicians and professors in the education and research fields of Microbiology and medical initiatives
- Professionals, department heads, centre directors, section chiefs, course directors, principal investigators and public health policy makers in the field of Microbiology

KEY REASONS TO JOIN US IN SINGAPORE FOR IUMS 2017

- Engage and exchange knowledge and opinions with approximately 3,000 professionals from academia, industry and government agencies
- **Gain insights** on all aspects of Microbiology
- Network and connect with **industry experts and influencers**
- Join the **largest, most comprehensive** community of microbiologists at a single gathering with global participation

Congress Hosts



Managed by



Supported by



Hold in



BRIDGING SESSIONS

Frontiers in Structural Microbiology

Microbial Evolution and Diversity

Microbes and Climate Change

Immunity and Immune Evasion

PLENARY SESSIONS

BACTERIOLOGY AND APPLIED MICROBIOLOGY

- Applied Microbiology
- Bacterial Ecology
- Cell division and morphogenesis
- Modulating Microbiota
- Pathogens and interactions with the host
- Rational design of Vaccines
- Regulation by sRNAs
- Super resolution microscopy in bacteria
- Transcription regulation

MYCOLOGY AND EUKARYOTIC MICROBIOLOGY

- Biodiversity & Ecology
- Cell & Molecular Biology
- Emerging Diseases
- Food security/safety
- Food/edible mushrooms/fermentations/safety
- Genomics/large-scale analysis/evolution
- Inter kingdom Crosstalk
- Mycobiome and protozoome
- "Omics" and Control of Gene Expression
- System/ Industrial Biology/ Synthetic Biology

VIROLOGY

- Anti-cancer viruses
- Ebola virus control
- Highly potent anti-HIV antibodies
- Interactions between influenza virus proteins and the host
- Molecular mechanisms of norovirus replication
- Native virus microcrystals
- New antiviral strategies
- Small RNAs as antiviral therapeutics
- Structural basis of antibody-mediated neutralization of dengue virus
- Synthetic viruses
- Wolbachia infection of mosquitoes as a vector control strategy for dengue
- Zika virus pathogenesis and immune responses

REGISTRATION FEES

	EARLY BIRD 25 August 2016 - 5 May 2017	REGULAR 6 May 2017 - 14 July 2017	ON SITE 15 July 2017 - 21 July 2017
DELEGATES	\$1000	\$1200	\$1500
POST-DOCTORAL	\$800	\$950	\$1200
STUDENT	\$500	\$700	\$850
GALA DINNER	\$150	\$150	\$150

* All rates are in SGD
** Marina Bay Sands (MBS) is the official congress hotel. MBS special room rate is based on Single Occupancy and Twin-sharing (2 persons sharing one room)
*** Accommodation options are available on the congress website.

- Registration fee includes:**
- Full access to the congresses and exhibition
 - Welcome Reception
 - Lunch & Coffee/Tea Breaks
 - Wifi internet access at Sands Expo and Convention Centre

Gala Dinner:
Limited seats are available. Bookings will be on a first-come-first served basis



Scan QR Code with your smart phone for more details.

For more information and to join our mailing list, please go to: www.iums2017singapore.com
+65 6411 6670 info@iums2017singapore.com

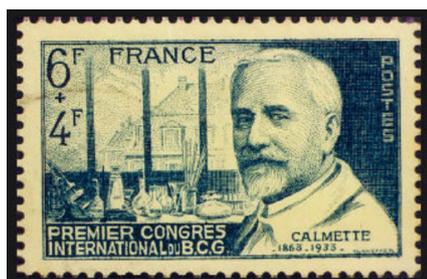
Sellos postales conmemorativos de Congresos de Microbiología

Juan J. Borrego

Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga. 29071-Málaga

Nuestra disciplina, en comparación con otras ramas de las ciencias, ha sido muy mal tratada por los diversos países emisores de sellos. Con sana envidia veo la gran cantidad de sellos dedicados a Congresos Médicos (en sus distintas especialidades), Congresos de Química, e incluso a los Congresos de Bioquímica, pero parece que la Microbiología no ha sido ni es un tema prioritario para las autoridades de los Servicios Postales que seleccionan las emisiones de sellos de un año y país. No obstante, hay algunos ejemplos de sellos conmemorativos de Congresos y Simposios de Microbiología que vamos a reseñar a continuación.

1948. PREMIER CONGRES INTERNATIONAL DU BACILO DE CALMETTE-GUERIN



Sello de FRANCIA de 1948 dedicado al 1º Congreso Internacional de B.C.G. celebrado en París y Lille del 19 al 23 de junio (Fuente del sello colección particular de JJB).

El primero de ellos, por fecha, se refiere al “Premier Congres International du B.C.G.” celebrado en los Institutos Pasteur de París y Lille del 19 al 23 de junio de 1948. El Congreso fue presidido por Jean-Marie-Camille Guérin, y tuvo dos Secretarios Generales, los Dres. L. Negre y J. Bretey. En la sede del Instituto Pasteur de Lille, el organizador fue su director el Dr. C. Gernez-Rieux.

El Congreso contó con la participación de 300 delegados oficiales de 35 países (entre ellos España), y como fruto de las conclusiones de los delegados se realizó una publicación que fue presentada a la 1ª Asamblea Mundial de la Salud celebrada el 3 de Julio de 1948. Las principales conclusiones fueron las siguientes:

1. En base al estudio de la vacuna de Calmette-Guerin aplicada a 10 millones de personas, se confirmó la inocuidad absoluta de la vacunación para la especie humana.
2. La vacunación para el B.C.G. es el medio de prevención más eficaz contra la tuberculosis.
3. Que la vacuna utilizada en todos los países del mundo procede del Instituto Pasteur de París.
4. El diseño vacunal realizado en el Instituto Pasteur de París asegura la vitalidad y fijeza de la vacuna.
5. El Congreso aconseja la utilización de la vacuna en todo el mundo en base a su baja reacción alérgica y su duración de la protección.
6. Se recomienda la inoculación intradérmica de la vacuna, aunque puede haber otras vías de inoculación.
7. El Congreso no excluye la utilización de la vacuna vía oral por razones de orden práctica.
8. Que si la vacunación de niños debe ser impuesta como obligatoria, la vacunación de jóvenes y adultos, con una reacción negativa a la tuberculina, debe ocupar un lugar primordial en el personal sanitario y docente que trata con los niños.
- 8 bis. El Congreso recomienda la revacunación de sujetos vacunados cuando la sensibilidad cutánea a la tuberculina ha desaparecido.
9. El Congreso considera de interés urgente la mayor difusión posible de la vacunación contra el BCG.
10. El Congreso recomienda el mantenimiento de todas las otras medidas profilácticas que están en uso, para la lucha contra la tuberculosis.

El sello conmemorativo de este Congreso fue emitido el 18 de junio de 1948 (Nº del catálogo Yvert et Tellier 918), con una tirada de 1.800.000 ejemplares. Fue retirado de su circulación el 4 de diciembre del mismo año, y el sello tiene una tarifa de 6 F + 4 F (a estos sellos se les denominan “sobrecargados”), los 6 F hace referencia a la tarifa de circulación, mientras que los 4 F se dedica para otros fines, en el caso concreto de este sello se aplicó para luchar en la erradicación de la tuberculosis en Francia.

En este sello se homenajea a Leon Charles Albert Calmette (1863-1933), descubridor del bacilo de Calmette-Guerin, una forma atenuada del *Mycobacterium tuberculosis*, agente causal de la tuberculosis en humanos. También fue el primer científico que desarrolló un suero anti-toxina contra el veneno de serpiente (suero de Calmette). Su doctorado lo realizó trabajando contra la malaria (1886), siendo su supervisor Louis Pasteur. Trabajó con Louis Pasteur y Emile Roux, y el primero asignó a Calmette la fundación del Instituto Pasteur en Saigón (antigua Indochina) donde estudiaría antídotos para venenos de serpiente y abejas, así como la producción de vacunas contra la viruela y la rabia. Pocas informaciones hay sobre los estudios de Calmette en el campo de la Microbiología de Alimentos, pero fue pionero en los estudios de fermentación y producción de alimentos fundamentalmente orientales. En 1894, de vuelta a Francia, colaboró con Yersin en el desarrollo del primer suero

inmunizante contra la peste bubónica, y un año más tarde Roux le confió la dirección del Instituto Pasteur de Lille, donde permaneció como director durante 25 años. En 1918 se trasladó a París, donde ocupó el puesto de Director Adjunto del Instituto Pasteur en esa ciudad. El principal logro científico de Calmette, que lo colocaría como uno de los más importantes microbiólogos de la historia, fue el diseño junto con Guérin de una vacuna contra la tuberculosis. Ambos microbiólogos consiguieron atenuar el *M. tuberculosis* por pases sucesivos en medios con bilis hasta obtener una cepa vacunal muy efectiva en la profilaxis de esta enfermedad.

1950. V CONGRESO INTERNACIONAL DE MICROBIOLOGÍA



Sello de **BRASIL** de 1950 dedicado al 5º Congreso Internacional de Microbiología celebrado en Petrópolis (Brasil). El sello homenajea a la figura del Dr. Oswaldo Cruz (editado el 23 de Agosto de 1950; Catálogo Yvert et Tellier, nº 486)(Fuente del sello colección particular de JJB).

El “5º Congreso Internacional de Microbiología” se celebró en la ciudad de Petrópolis (Brasil), a 40 kms de Río de Janeiro, por eso en muchos escritos viene notificado como el Congreso de Río, del 17 al 24 de Agosto de 1950. Fue un Congreso muy importante por el número de participantes y por las decisiones que allí se tomaron. Fundamentalmente, el Congreso se constituyó en tres Secciones: Bacteriología, Virología y Micología, aunque fueron numerosas las presentaciones y

comunicaciones sobre parasitología y medicina tropical. Una reseña del Congreso se publicó en la revista *Maroc Med.* Vol 308: 55-63 en 1951.

Entre los hitos más importantes que se llevaron a cabo en el Congreso fue la constitución de los International Committee on Bacteriological Nomenclature formado por los Dres. F. Kauffmann, R.E. Buchanan, S.T. Cowan, P.R. Edwards, E. Horneche, G. Olin, G.S. Wilson y R. John-Brooks. También se constituyó por primera vez el International Committee on Virus Taxonomy formado por los Dres. C.H. Andrewes, G. Bergold, G. Henneberg, P. Lepine, G. Rake, S. Gard y A. Bitancourd, y aquí se establecieron las bases para la clasificación de los virus animales. Por último, se formó el Special Committee on Medical and Veterinary Mycopathology constituido por los Dres. J.W. Nickerson, A.L. Carrión, F. De Almeida, P. Negroni, A.C. Arca Leao, G. Segretain, C.W. Emmons, G.C. Ainsworth, J.E. Mackinnon y P. Redaelli. Este Comité propuso una lista con los nombres de hongos patógenos para el hombre y los animales. Es de reseñar la asistencia a este Congreso de dos Premios Nobel, los Dres. Luria y Burnet, que impartieron sendas ponencias plenarias.

El sello conmemorativo del Congreso hace referencia al Dr. Oswaldo Gonçalves Cruz, microbiólogo brasileño nacido en Sao Luis de Paraitinga (Brasil) en 1872 y fallecido en Petrópolis en el 1917. El Dr. Cruz, como se le conoce popularmente, fue un microbiólogo pionero en el estudio de las enfermedades tropicales, tanto en Brasil como en el resto de Sudamérica. En 1900 fundó el Instituto Sueroterapéutico Nacional en Petrópolis, el cual se transformaría tras su muerte, en el Instituto Oswaldo Cruz, hoy reconocido internacionalmente.

El Dr. Cruz se graduó en la Facultad de Medicina de la Universidad de Río de Janeiro en 1892, y en 1896 se traslada a París para cursar estudios en el Instituto Pasteur, donde fue discípulo de Emile Roux. De vuelta a Brasil en 1899, se dedicó a la lucha contra la peste bubónica, y para tal fin convenció a las autoridades brasileñas que se creara un Instituto que pudiera fabricar un suero inmune. Así surge en 1900 el “Instituto Sueroterapéutico Nacional, cuya dirección asumió en 1902. Fue nombrado Director de

Salud Pública en 1903, desde donde coordinó las brigadas de erradicación de mosquitos encargados de eliminar los focos de los insectos transmisores de la peste amarilla y el control de la peste bubónica (“Brigadas Mata Mosquitos”, grupos de funcionarios del Servicio Sanitario que invadían las casas, para la desinsectación y exterminio de los mosquitos transmisores de la fiebre amarilla. Simultáneamente inició también la campaña de exterminio de ratas y ratones, considerados como los principales transmisores de la peste bubónica). Convenció al Presidente Rodrigues Alves a decretar la vacunación obligatoria contra la viruela (Ley de vacuna obligatoria), lo que provocó una rebelión popular y además otra de la Escuela Militar Playa Vermelha, en 1904, contra lo que consideraban una invasión de sus casas por la vacunación forzada; este hecho fue conocido como la “Revolución de la Vacuna” (10 al 16 de noviembre de 1904). La reacción popular llevó al gobierno a suspender la obligatoriedad de la vacuna y declarar el estado sitio el 16 de noviembre. La rebelión fue contenida, dejando 30 muertos y 110 heridos. Posteriormente en 1908, conoció al Dr. Carlos Chagas, quien cuando descubrió el *Trypanosoma cruzi* puso el nombre en honor al Dr. Cruz. Por sus méritos epidemiológicos recibió algunos reconocimientos internacionales (medalla de oro del XVI Congreso Internacional de Higiene y Demografía, Berlín 1907), y a su regreso a Brasil, es recibido como un héroe nacional. En 2001 André Sturm realizó una película sobre Oswaldo Cruz, cuyo título “Sueños Tropicales”, está basado en la novela homónima de Moarcy Scliar. El papel del doctor fue interpretado por Bruno Giordano.

1953. VI CONGRESSO INTERNAZIONALE DI MICROBIOLOGIA

Del 6 al 12 de septiembre de 1953 se celebró en Roma el “VI Congresso Internazionale di Microbiologia”, y la Poste Italiana emitió un sello de 25 liras en que se representaba la figura del microbiólogo Agostino Bassi (1773-1856). El Congreso reunió a más 600 microbiólogos de todo el mundo, y debido al éxito de inscritos tuvo que celebrarse en dos sedes, una ubicada en el Istituto Superiore di Sanita, y la segunda en la Fondazione Emanuele Paterno, ambas en Roma. El Congreso



Sello de **ITALIA** en **1953** dedicado al VI Congreso Internacional de Microbiología celebrado en Roma del 6 al 12 de septiembre (Fuente del sello colección particular de JJB).

se organizó en 6 Symposia y 5 Secciones. Todas las secciones y symposia se publicaron en un libro de Actas en el año 1955, siendo su editor el Prof. A Staderini. Los temas de los Symposium fueron:

1. Actinomycetales.
2. Citología batterica.
3. Inibitori de crescita e chemioterapia.
4. Metabolismo microbico.
5. Nutrizione e fattori di crescita.
6. Virus e cellula ospite.

Mientras que las Secciones se establecieron de la siguiente forma:

- A) Microbiologie generale.
- B) Fattori di inibizione.
- C) Genetica dei micro-organismi.
- D) Azioni patogene: virulenza e tossine.
- E) Tecnica e diagnostica microbiologica.

Una curiosidad fue que el Congreso se alargó un día más, hasta el 13 de septiembre, ya que su S.S. Pio XII que estaba planificado que diera el discurso de clausura del Congreso, no pudo asistir hasta ese día por estar en su residencia de verano en Castel Gandolfo.

Como hemos comentado el sello conmemorativo del Congreso hace referencia a Agostino Bassi, microbiólogo italiano que precedió a Louis Pasteur en descubrir que los microorganismos pueden causar enfer-

medades (Teoría de los Gérmenes), y descubrió el “mal del segno”, una enfermedad del gusano de seda provocada por el hongo *Beauveria bassiana* en 1835. Bassi, a lo largo de su trayectoria científica, estudió otras enfermedades de animales y hombres, como el sarampión, tifus exantemático, sífilis, peste bubónica, rabia, gonorrea y cólera, considerando que todas ellas podían tener un origen microbiano. Quizás un mérito de Bassi fue la inspiración que provocó con sus ideas y teorías a otros microbiólogos; se dice que Pasteur tenía en su despacho un retrato de Bassi y en su laboratorio otro de Spallanzani.

1955. GIONARTE MEDICHE INTERNAZIONALE



Sello de **ITALIA** en **1955** dedicado a las Jornadas Médicas Internacionales celebrado en Verona del 1 al 4 de septiembre (Fuente del sello colección particular de JJB).

En Septiembre de 1955 se celebró en Verona (Italia) unas “Jornadas Médicas Internacionales”, y la Poste Italiana emitió un sello de

25 liras en que se representa a la derecha la Arena de Verona (antiguo anfiteatro romano), y a la izquierda una medalla conmemorativa de los 400 años del fallecimiento de Girolamo Fracastoro. Fracastoro constituye un pionero de la Microbiología por haber publicado dos libros: “*Syphilis sive morbus Gallicus*” (1530), en que se denominó sífilis a la enfermedad de transmisión sexual producida por *Treponema pallidum*, y “*De contagione et contagiosis morbis et curatione*” (1546), un tratado de epidemiología de las enfermedades transmisibles y en el que hace referencia a los posibles elementos causales de esas “contagione” a los que denomina “gérmenes de contagio”.

Poco o casi nada podemos decir de ese Congreso, ya que no se han encontrado actas ni extensas referencias. No obstante, el Congreso fue organizado por el Dr. Adalberto Pazzini que ostentaba la dirección del Instituto de la Historia de la Medicina de Italia. El Dr. Pazzini tenía mucho interés en incluir en el Congreso temas muy diversos, desde las enfermedades infecciosas, los virus, e incluso historia de la Medicina Occidental. Sabemos que hizo una gran labor epistolar en invitar a prestigiosos médicos, científicos e historiadores, como por ejemplo a Henry E. Sigerist que impartió una ponencia titulada: “The contribution of Medicine to Civilization”. También participó el Dr. W. Wilbur Ackermann de la Universidad de Michigan en Ann Arbor, quien impartió una conferencia plenaria titulada: “Interrelationships of viral multiplication, latency, and cytopathology”.



Sobre Primer Día (FDC) donde se muestra la figura de Girolamo Fracastoro y matasello oficial de la Giornate Mediche Internazionali (día de circulación 1 septiembre de 1955) (Fuente del FDC todocoleccion.net).

Por último, en este Congreso se dio un homenaje y se leyó un obituario por el Dr. U.D Allison en honor de Sir Alexander Fleming, que meses atrás había fallecido (11 de marzo de 1955), y que también había sido invitado al Congreso de Verona.

1966. IX INTERNATIONAL CONGRESS OF MICROBIOLOGY



Sello de la URSS en 1966 (fecha de emisión 28/1/1966, tirada 4.000.000) dedicado al IX International Congress of Microbiology de la International Association of Microbiological Societies afiliada a la International Union of Biological Sciences (IUBS). En 1980 se independizó y desde entonces se denomina INTERNATIONAL UNION OF MICROBIOLOGICAL SOCIETIES (Fuente del sello colección particular de JJB).

El "IX Congreso Internacional de Microbiología" se celebró del 24 al 30 de Julio de 1966 en Moscú (U.R.S.S.) bajo los auspicios de la International Association of Microbiological Societies (IAMS), the All-Union Scientific Medical Association of Epidemiologists, Microbiologists and Experts in Infectious Diseases and the All-Union Microbiological Association. El Congreso se organizó en 7 Sesiones y un Panel de discusión sobre los virus oncogénicos. Los epígrafes de las sesiones fueron las siguientes:

- Sesión A, Fisiología y Genética de Microorganismos, con 4 ponencias sobre regulación genética del metabolismo microbiano.
- Sesión B, Actividades bioquímicas de los Microorganismos, con 4 ponencias sobre sustancias biológicas activas de origen microbiano.
- Sesión C, Microbiología Industrial y Agrícola, con 2 simposia, el primero (9 ponencias) sobre los aspectos biológicos de la fijación de nitrógeno, y el segundo (5 ponencias) sobre el control automatizado de procesos microbiológicos.

- Sesión D, Microbiología Médica y Veterinaria, con 2 simposia, uno (8 ponencias) sobre la especificidad de la patogénesis de enfermedades infecciosas, y el otro (14 ponencias) sobre Gnotobiología.
- Sesión E, Virología, con 2 simposia, el primero (6 ponencias) sobre la clasificación de los virus, y el segundo (6 ponencias) sobre el crecimiento intracelular de los virus.
- Sesión F, Inmunología, con 4 ponencias sobre los mecanismos de inmunogénesis.
- Sesión G, Epidemiología, con 6 ponencias sobre los problemas de erradicación de enfermedades de obligada comunicación.

El Panel de discusión consistió en 5 ponencias sobre Virus Oncogénicos.

Todas las ponencias se recogieron en un libro de Actas publicado en 1967 por el Iwanowski Institute of Virology, siendo su editor W. Schwartz.

No hemos podido conocer el número de participantes al Congreso, aunque nos consta que hubo inscritos de Europa, América, Australia y Asia. Un aspecto muy curioso de este Congreso es que fue objeto de polémica y un arma de la "Guerra Fría" entre USA y la URSS. De hecho, el Presidente de la ASM William B. Sarles escribió una carta de disculpas al Secretario General de la IAMS Norman E. Gibbons, por las acusaciones del Congreso norteamericano sobre la política soviética.

Otros hechos notables de este Congreso fueron la participación de varios Premios Nobel, como por ejemplo E.B. Chain (premio Nobel 1945), E.L. Tatum (premio Nobel 1958) y A. Lwoff (premio Nobel 1963). También participó D. Baltimore que sería galardonado con el Nobel en 1975. Además, en el Congreso se creó el International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV).

1967. 2ND INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE GLOBAL IMPACTS OF APPLIED MICROBIOLOGY

La "2ª Conferencia Internacional de los impactos globales de la Microbiología Aplicada" se celebró en Addis Abeba (Etiopía) en el



Sello Etiopía emitido en 1967 conmemorativos al Congreso (serie de tres sellos con la misma composición, pero diferente color y valor. Nº catálogo Yvert et Tellier 490: 5c, 491: 30c y 492: 1 dolar etiope)

African Hall de Addis Abeba desde el 6 al 11 de Noviembre de 1967. El Congreso fue inaugurado el 5 de Noviembre por el Emperador Haile Sellassie I, quien posteriormente invitó a los organizadores y chairmen a un banquete en su palacio. El Congreso fue organizado bajo los auspicios de la UNESCO/ICRO (panel Applied Microbiology of the International Cell Research Organization), la International Association of Microbiological Societies (IAMS), y la Universidad Haile Sellassie I de Addis Ababa.

Los objetivos planteados en él fueron la contribución de la Microbiología Aplicada para la solución de importantes problemas de salud, alimentación y medioambiente, especialmente en países en fase de desarrollo. Las contribuciones técnicas y científicas que los científicos de países desarrollados en estos Congresos, se traducían en crear becas y proyectos en los países del tercer mundo, así como de implementar investigaciones de la Microbiología Aplicada en los campos de la alimentación, y en la producción de biofertilizantes y bioinsecticidas para ayudar al avance tecnológico de una zona deprimida determinada.

La 2ª Conferencia referida en el sello se llevó a cabo del 6 al 11 de noviembre de 1967, y aparte de las comunicaciones libres (orales y pósters), se estructuró en los siguientes tópicos:

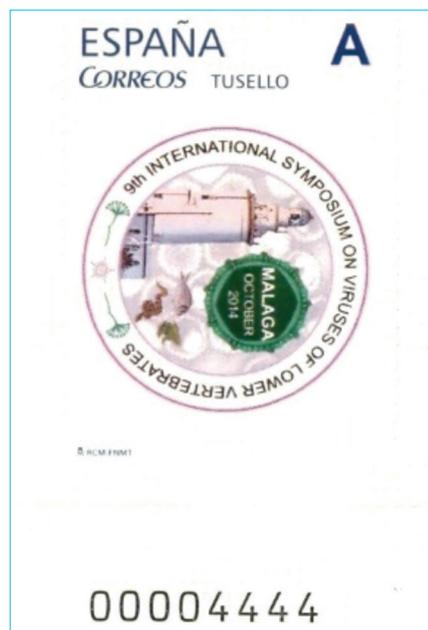
- Problemas microbiológicos relacionados con las zonas áridas.
- Problemas de nutrición y la contribución de los microorganismos a sus soluciones.
- Aspectos económicos del control de las enfermedades infecciosas del hombre y animales.

- Docencia de la Microbiología.
- Causas de los éxitos y fracasos de los programas internacionales para el desarrollo de la Microbiología.
- Symposium sobre las técnicas de inoculación del suelo y semillas, relacionado con la fijación de nitrógeno, organizado en colaboración con el International Biological Programme (IBP).

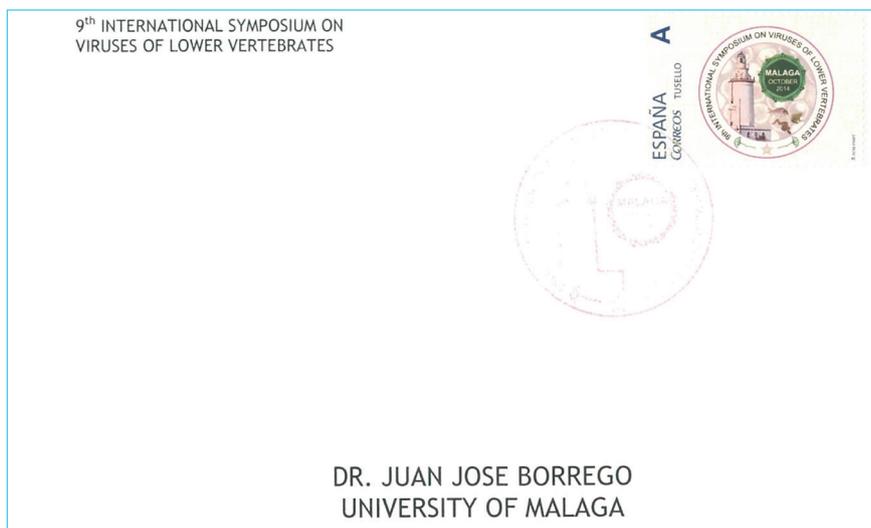
Las ponencias y conclusiones más importantes del Symposium sobre fijación del nitrógeno se publicaron en la revista *Plant and Soil* en 1970 [Vol. 32(3): 543-780], y las del resto de fueron publicadas en un monográfico especial por Interscience Publ. J. Wiley & Sons (editor E. L. Gaden, Jr.) en 1969.

A este Congreso asistieron 200 participantes, pero el Comité Organizador, presidido por el Dr. Akilu Lemma, realizó una serie de invitaciones a microbiólogos especialistas, representantes de organizaciones científicas nacionales, y observadores de agencias gubernamentales y organizaciones internacionales de investigación, entre ellos los Dres. F.J. Bergersen, R.A. Date, R.J. Roughley, R.C. Dawson, J.H. Becking y E.N. Mishustin.

2014. 9TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON VIRUSES OF LOWER VERTEBRATES



Sello de España dedicado al 9th International Symposium on Viruses of Lower Vertebrates (emitido en Septiembre de 2014 por la FNMT) (Fuente del sello colección particular de JJB).



DR. JUAN JOSE BORREGO
UNIVERSITY OF MALAGA

Sobre Primer Día (FDC) donde se muestra el logotipo del Congreso (la farola de Málaga, el contorno de un iridovirus y la biznaga) (día de circulación 1 octubre de 2014) (Fuente del FDC colección particular de JJB).

El “9th International Symposium on Viruses of Lower Vertebrates” se celebró en Málaga, del 1 al 3 de Octubre de 2014. El Congreso se organizó bajo los auspicios de varias Sociedades científicas, y fue inaugurado por los Presidentes de la International Network on Viruses of Lower Vertebrates (Dr. N. Olessen), la European Association of Fish Pathologists (EAFP) (Dr. J. Cabrera), la International Society of Fish and Shellfish Immunology (ISFSI) (Dr. G. Scapigliati), y las Sociedades Españolas de Microbiología (SEM) (Dr. A. Ventosa) y de Virología (SEV) (Dr. A. Bosch).

El programa estaba compuesto por una Conferencia Plenaria a cargo del Dr. J. Winton (USGS Western Fisheries Research Center, Seattle, USA) y 5 Sesiones Plenarias, incluyendo las siguientes:

- Sesión 1. Emerging Viruses of Lower Vertebrates, moderada por Dr. Gael Kurath (USGS Western Fisheries Research Center, USA), con una ponencia de apertura sobre “Ranaviruses of reptiles” impartida por Dr Rachel E. Marschang (Laboklin GmbH & Co. KG, Germany).
- Sesión 2. Viral Phylogeny and Evolution, moderada por Dr. Carlos P. Dopazo (Universidad de Santiago de Compostela, Spain), con una ponencia de apertura titulada “Some recent studies on virulence evolution in fish viruses” a cargo del Dr. Niels J. Olesen (National Veterinary Institute, DTU, Denmark).

- Sesión 3. Immunology and Vaccination, moderadas por los Dres. Niels Lorenzen (Aarhus University, Denmark) and Bertrand Collet (Marine Laboratory, Aberdeen, UK). La ponencia de apertura corrió a cargo del Dr. Giuseppe Scapigliati (Università degli Studi della Toscana, Italy), titulada “Juvenile European sea bass immunization against viral nervous necrosis virus (VNNV)”.
- Sesión 4. Virus-Host Interactions, moderada por los Dres. Espen Rimstad (Norwegian School of Veterinary Science, Norway) y Alexandra Adams (University of Stirling, UK). La ponencia de apertura se tituló “Molecular biology of salmonid alphavirus” y fue presentada por el Dr. Michel Brémont (Unité de Virologie et Immunologie Moléculaires, INRA, France).
- Sesión 5. Viral Diagnostic Tools, moderada por el Dr. Sven M. Bergmann (Friedrich-Loeffler Institute, Germany), con una ponencia de apertura a cargo del Dr. David M. Stone (Virology and Molecular Genetics, CEFAS, UK) titulada “Application of molecular diagnostic techniques for fish disease diagnosis”.

Todas las ponencias y comunicaciones (orales y pósters) fueron editadas en 2014 en un libro de Actas (D. Castro & J.J. Borrego, eds). Así mismo, las revistas *Veterinary Research* y el *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, seleccionaron diversos artículos para su publicación ulterior por el sistema *peer-view*.

España regula el acceso *in situ* y *ex situ* a sus recursos genéticos

Aurora Zuzuarregui Miró¹ y Rosa Aznar Novella²

¹Gestora mBRC CECT

²Directora CECT

Transcurridos 25 años desde que se firmó el Convenio sobre Diversidad Biológica (CDB), el pasado 14 de marzo de 2017 se publicó en el BOE el Real Decreto 124/2017, relativo al acceso a los recursos genéticos procedentes de taxones silvestres y al control de su utilización en España. El CDB tiene como objetivos principales:

- la conservación de la diversidad biológica;
- su utilización sostenible; y
- la participación justa y equitativa en los beneficios que se deriven de su utilización.

El Protocolo de Nagoya (PN) desarrolla el tercer objetivo del CDB. Según el CDB y el PN los países pueden regular el acceso a sus recursos naturales y, de esta manera, ser partícipes de los beneficios generados por su utilización.

El Real Decreto 124/2017, desarrolla algunos puntos de la Ley 42/2007 del Patrimonio Natural y de la Biodiversidad y del Reglamento UE 511/2014 sobre el cumplimiento con el Protocolo de Nagoya en la Unión Europea. Básicamente, regula el acceso a los recursos genéticos y el control de su utilización.

Según el RD, antes del acceso a **recursos genéticos españoles** *in situ* (en el ambiente) o *ex situ* (colecciones, laboratorios, empresas...) para su uso **con fines de investigación**, el usuario debe pedir un permiso a la **autoridad competente**. Estos requisitos generan algunas dudas que desde la CECT trataremos de clarificar a continuación.

- a) ¿Qué es un recurso genético español?
El país de origen de los recursos genéticos ha sido motivo de amplio debate en

los foros de discusión relacionados con el CDB, el PN y la Reglamentación Europea. En un sentido general, un recurso genético español sería aquél al que se accede en una zona bajo jurisdicción española. Esto incluiría tanto a los microorganismos presentes en el ambiente de forma natural dentro de la geografía española, como a aquellos procedentes de fuentes no naturales como pueden ser, por ejemplo, un fermentador o un alimento importado de otros países.

- b) ¿Qué significa fines de investigación?
El término "utilización" también ha sido objeto de deliberación dado que el PN establece las directrices para asegurar un reparto justo de los beneficios derivados de la utilización de recursos genéticos. En el RD 124/2017 la utilización de recursos genéticos se define como *la realización de actividades de investigación y desarrollo sobre la composición genética y/o bioquímica de recursos genéticos, incluso mediante la aplicación de biotecnología*. Sin embargo, en el ámbito de aplicación, el RD excluye de la regulación el acceso a los recursos genéticos con fines exclusivamente taxonómicos, definidos como *la aplicación de principios y métodos de la identificación, delimitación y clasificación de los seres vivos, y que requiere del estudio de sus relaciones filogenéticas, así como de los procesos evolutivos y ecológicos que han generado la biodiversidad utilizando datos morfológicos, fisiológicos, genéticos, de comportamiento y ambientales*.

- c) ¿Quién es la autoridad competente a quien solicitar el permiso de acceso a un recurso genético español para

utilizarlo con fines de investigación no taxonómica?

Si se trata de recursos marinos, de recursos localizados en bienes de dominio público o en instituciones de conservación *ex situ* de titularidad estatal, o bien de recursos genéticos procedentes de taxones silvestres cuya área de distribución abarque más de una comunidad autónoma, la autoridad competente será la **Dirección General de Calidad y Evaluación Ambiental y Medio Natural del Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA)**. En el resto de casos la solicitud irá dirigida al órgano que designe la **Comunidad Autónoma** en cuyo territorio se encuentre el recurso genético. Dichos órganos serán publicados en breve en la página web del MAPAMA.

Para la verificación del cumplimiento con las obligaciones relativas a la utilización de los recursos genéticos el RD establece tres puntos de control:

1. solicitud de proyectos en los que se declare el acceso y/o la utilización de recursos genéticos españoles,
2. comercialización de productos elaborados mediante la utilización de recursos genéticos españoles, y
3. solicitudes de patente en las que se indique la utilización de recursos genéticos españoles.

Al igual que España, otros países tienen regulado el acceso a sus recursos genéticos y disponen de sus propios procedimientos para la solicitud de acceso y el control de la utilización. Se puede consultar la información relevante de cada país en la plata-

forma internacional para el intercambio de información en materia de Acceso y Reparto de Beneficios.

La información contenida en este artículo responde a la interpretación del equipo de responsables de la CECT sobre los correspondientes reglamentos, tras consultar con MAPAMA. No obstante, podría estar sujeta a otras interpretaciones que deberán contrastarse con el organismo correspondiente.

Enlaces de interés:

- Información en MAPAMA sobre el RD 124/2017 y la ley 42/2007. <http://www.mapama.gob.es/es/biodiversidad/temas/recursos-geneticos/protocolo-de-nagoya/RD-Acceso.aspx>
- El Convenio de la Diversidad Biológica. <https://www.cbd.int/convention/>
- El Protocolo de Nagoya. <https://www.cbd.int/abs/>

- Información de la Comisión Europea sobre Acceso y Reparto de Beneficios. http://ec.europa.eu/environment/nature/biodiversity/international/abs/legislation_en.htm
- Plataforma internacional para el intercambio de información en materia de Acceso y Reparto de Beneficios. <https://absch.cbd.int/>

XV WORKSHOP

“Métodos rápidos y automatización en microbiología alimentaria”

Josep Yuste Puigvert y Marta Capellas Puig



(<http://jornades.uab.cat/workshopmrama>)



Del 22 al 25 de noviembre de 2016, tuvo lugar el XV *workshop* sobre Métodos rápidos y automatización en microbiología alimentaria (MRAMA), en la Facultad de Veterinaria de la *Universitat Autònoma de Barcelona* (UAB; Bellaterra, Cerdanyola del Vallès), dirigido por la Dra. Marta Capellas Puig y el Dr. Josep Yuste Puigvert, profesores de Ciencia y Tecnología de los alimentos, y organizado por el

Centre d'Innovació, Recerca i Transferència en Tecnologia dels Aliments (CIRTTA) y el Departamento de Ciencia animal y de los alimentos de la UAB. Celebrado anualmente, el *workshop* MRAMA, de un contenido aplicado y de futuro, amplía y difunde los conocimientos teóricos y prácticos sobre métodos innovadores para detectar, contar, aislar y caracterizar rápidamente los microorganismos, y

sus metabolitos, habituales en los alimentos y el agua.

En el *workshop*, participaron conferenciantes de renombre. Se encargó de la ponencia inaugural el **Dr. José Juan Rodríguez Jerez**, investigador principal del grupo AMicS de la UAB y profesor de nuestro Departamento, que ofreció una visión general de los métodos

rápidos y miniaturizados y la automatización en microbiología. El **Dr. Armand Sánchez Bonastre**, director del Servicio Veterinario de Genética Molecular de la UAB y profesor de nuestro Departamento, informó exhaustivamente sobre la aplicación a la seguridad alimentaria de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), método genético en constante evolución para detectar e identificar microorganismos, y la secuenciación genómica masiva. El **Dr. David Rodríguez Lázaro**, de la Universidad de Burgos, explicó su experiencia en armonización y estandarización en microbiología molecular alimentaria, e hizo especial hincapié en los casos de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. El **Dr. José Martínez Peinado**, de la Universidad Complutense de Madrid, transmitió magistralmente a los asistentes sus amplios conocimientos sobre las levaduras en los alimentos (¿buenas amigas, peores enemigas?). La **Dra. María del Carmen Portillo Guisado**, de la *Universitat Rovira i Virgili*, en Tarragona, expuso su experiencia en vinos y cavas, quiénes producen sus alteraciones microbiológicas y cómo detectarlos. El **Dr. Olav Sliemers**, de Purac Biochem, en Gorinchem (Países Bajos), participó con una interesante ponencia acerca del deterioro de la carne y los productos cárnicos en la era genómica, y sus análisis mediante metagenómica y métodos convencionales para descubrir a los sospechosos. El **Dr. Martin G. Wilkinson**, de la *University of Limerick* (Irlanda), habló sobre los retos, las oportunidades y los progresos de la poco conocida técnica de la citometría de flujo. Y el **Sr. David Tomás Fornés**, investigador científico de Nestec, Centro de Investigación de Nestlé, en Lausana (Suiza), presentó un tema de gran importancia como son las técnicas de muestreo para el control microbiológico ambiental en la industria alimentaria. Los contenidos de las ponencias dieron lugar, al final de cada jornada, a **mesas redondas** en que se abordaron aspectos relevantes como los métodos de biología molecular aplicados a la seguridad alimentaria, y el deterioro de los alimentos.

Además, asistieron importantes **empresas de microbiología**, que explicaron y mostraron sus productos y sus servicios (funcionamiento, ventajas y limitaciones, y técnicas en que se basan). Estas empresas, que patrocinaron el XV *workshop* MRAMA, fueron: 3M España, BC Aplicaciones Analíticas, BD Diagnostic Systems, bioMérieux España, Bio-Rad Laboratories, Bioser, BioSystems, BIOTECON Diagnostics (Alemania), Bruker Española, Eppendorf Ibérica, IDEXX Laboratorios, iMiCROQ, ITRAM HIGIENE, Laboratorios MICROKIT, Merck – Sigma-Aldrich Química, MicroPlanet Laboratorios, Neogen Europe (Reino Unido), Nirco, PanReac AppliChem, Thermo Fisher Diagnostics, Tiselab, y Werfen – QIAGEN.

También colaboran con el *workshop* MRAMA: ainia.centro tecnológico, el Centro Nacional de Tecnología y Seguridad Alimentaria (CNTA), Productos Florida, la *Associació Catalana de Ciències de l'Alimentació* (ACCA), Publica – Revista *Técnicas de Laboratorio*, Estrategias Alimentarias – Revista *EURO-CARNE*, Sweet Press – Revista *Tecnifood*, la Sociedad Española de Microbiología (SEM), la Asociación de Consultores y Formadores de España en Seguridad Alimentaria (ACOFESAL), la Sociedad Española de Seguridad Alimentaria (SESAL), la Agencia de Salud Pública de Barcelona, la *Agència de Salut Pública de Catalunya*, y la Sociedad Española de Químicos Cosméticos (SEQC).

El *workshop* ha sido una actividad exitosa, tanto por los ponentes y sus ponencias, como por la asistencia de público y la participación de las empresas de microbiología. Reunió a 188 personas, de diversos colectivos nacionales e internacionales: (i) Laboratorios, asesorías y consultorías, e industrias de los ámbitos agroalimentario (entre otros, los sectores cárnico y avícola, productos de la pesca, lácteo, comidas preparadas, verduras y hortalizas, cacao, bebidas analcohólicas –aguas, zumos de frutas, bebidas

refrescantes– y alcohólicas –cervecero, vitivinícola, cava–, alimentación animal, ingredientes y aditivos), biotecnológico, etc.; (ii) Profesores y estudiantes de la UAB (grado de Ciencia y Tecnología de los alimentos, y tercer ciclo) y otras universidades; (iii) Otros centros de investigación; (iv) Administración.

Durante tres días, se realizaron unas **sesiones prácticas en el laboratorio**, en las que se trabajó con algunos equipos y los productos más innovadores del campo de los métodos rápidos y la automatización. Y se organizaron tres **talleres**: (i) *Uso de los recursos para microbiología predictiva disponibles en internet*, a cargo de la **Sra. Montse Vila Brugalla** (Servicio de Control alimentario de mercados centrales de la Agencia de Salud Pública de Barcelona); (ii) *¿Peligros microbiológicos en los sistemas APPCC? ¿Por fin, identifícalos correctamente en tu empresa!*, a cargo del **Sr. Jon Basagoiti Azpitarte** (Imaging Management Systems, Ermua); (iii) *Alérgenos alimentarios: métodos para detectarlos y cuantificarlos*, a cargo de Bioser – Romer Labs Diagnostic (Austria).

La **mesa redonda** previa a la clausura oficial del *workshop*, con varios ponentes y profesionales de empresas de microbiología, fue sobre la instrumentación en microbiología de los alimentos, las tendencias del mercado mundial y otros temas de actualidad del sector, y constató, junto con las ponencias del *workshop*, la importancia del correcto muestreo ambiental, relacionado directamente con la contaminación del producto; la relevancia de la automatización en el laboratorio; la diversidad de necesidades en cuanto a métodos microbiológicos, según el sector; así como los progresos en el desarrollo de soluciones que aportan rapidez, precisión, sensibilidad y especificidad.

El XVI *workshop* MRAMA se celebrará del 21 al 24 de noviembre de 2017.



El Grupo Especializado de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana

Francisco Javier Pastor

Presidente del Grupo

El Grupo Especializado de Microbiología Industrial se constituyó en el año 1977 y celebró 4 reuniones entre los años 1980 y 1988. Las reuniones se interrumpieron coincidiendo con la creación de la Sociedad Española de Biotecnología, SEBIOT. Sin embargo dada la fundamental contribución de los microorganismos a la biotecnología se hizo patente la necesidad de retomar las reuniones del Grupo de la SEM, para incidir en los aspectos más específicamente microbianos de la biotecnología. En el Congreso Nacional de la SEM celebrado en Cáceres en 2005 se renovó la junta directiva del Grupo, que presidida por Tomás González Villa decidió reanudar las reuniones periódicas del Grupo, así como renombrarlo como Grupo de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana. Aunque puede parecer un título redundante, es una forma de abarcar desde los aspectos con más tradición y solera en microbiología industrial a los más innovadores.

Las reuniones del Grupo se reanudaron con el Congreso celebrado en 2006 en A Coruña y desde entonces se han celebrado periódicamente, siendo la última el Congreso celebrado en León en 2016. En ella se hizo patente la diversidad de temas de investigación tratados por los miembros del Grupo y la transversalidad de los trabajos que realizan.

Una de las palabras de más reciente implantación en el vocabulario científico y socioeconómico y también de gran actualidad es "sostenibilidad". El término "**Desarrollo Sostenible**" se utilizó por primera vez en el *Informe Brundtland* elaborado por una Comisión de la ONU en 1987. Un objetivo fundamental es minimizar el impacto medioambiental de la actividad industrial en particular y de la actividad humana en general. Los que trabajamos en microbiología industrial somos conscientes del importante papel de los microorganismos

y sus productos para aproximarnos a la meta del desarrollo sostenible. Es la sección de la biotecnología que suele denominarse **Biotecnología Blanca**. Una de las herramientas clave son las **Enzimas Microbianas**. La aplicación de las mismas en procesos productivos permite minimizar la generación de productos tóxicos y el ahorro de energía. Las enzimas pueden también jugar un papel clave en la destoxificación de efluentes y contaminantes. Dentro de este contexto, el interés económico por la optimización de recursos incentiva el desarrollo de tecnología para la transformación de la **Biomasa**, especialmente de los restos agrícolas sin valor alimenticio (lignocelulosa), en productos de valor añadido. El papel de los microorganismos en este proceso es clave. Baste como ejemplo la producción de bioetanol como combustible.

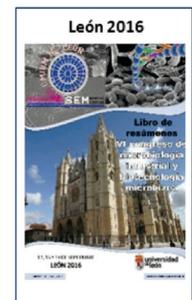
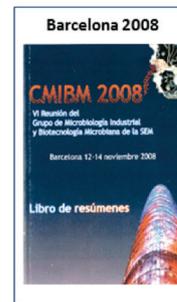
Aunque la aplicación más tradicional de los microorganismos es la producción de alimentos fermentados, la **Biotecnología Alimentaria** es uno de los campos científicos con mayor esfuerzo innovador. Aspectos como la producción de probióticos, **Prebióticos** y alimentos funcionales producen grandes beneficios a las empresas. El creciente interés económico por el vino de elevada calidad ha impulsado el desarrollo de estudios enológicos, que abarcan aspectos tan dispares desde selección de levaduras de vides silvestres a la mejora del aroma del vino por expresión de genes de plantas en levaduras de vinificación, campos que pueden dar un aspecto muy novedoso a las bebidas alcohólicas. No hay que olvidar el desarrollo de nuevos sis-

temas de detección rápida de patógenos en alimentos, donde el desarrollo de nuevos **Kits de Identificación** es un campo crucial.

Pero sin duda, la temática de mayor impacto de la microbiología industrial es la relacionada con la medicina, la producción de fármacos. La necesidad de producirlos a gran escala determinó en el pasado el diseño y desarrollo del biorreactor de cultivo sumergido. Hoy la frecuente aparición e incidencia de microorganismos patógenos multirresistentes hace necesaria la identificación y el desarrollo de **Nuevos Antibióticos**. Entre las diversas estrategias, la **Biosíntesis Combinatoria**, la minería genómica y las técnicas de cribado de alto rendimiento permiten la identificación de nuevos antibacterianos, antitumorales y **Productos Bioactivos**. La emergencia de nuevos patógenos, como el virus Ebola, hacen necesarios estudios moleculares para la identificación de nuevas dianas terapéuticas.

Los equipos de investigación del Grupo de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana trabajamos en aspectos avanzados de todas las temáticas mencionadas. Sin embargo, considero que, aunque de muy buen nivel científico, somos una muestra incompleta de los investigadores españoles en la disciplina. Desde estas páginas animamos a todos los profesores, científicos y profesionales en biotecnología microbiana a incorporarse y participar activamente en el Grupo. Sin duda la contribución de todos repercutirá muy favorablemente en el desarrollo científico y social de nuestro país.

Muchas gracias, recibid un saludo.



Carátulas de la primera página del libro de resúmenes de los Congresos del Grupo desde 2006

Evaluación del potencial biotecnológico y medioambiental de microorganismos ligninolíticos (actinobacterias y hongos) y sus sistemas enzimáticos

Manuel Hernández, Juana Rodríguez, Francisco Guillén, Javier Mérida, Ana Belén García, Alba Blánquez, Sergio Morales y María Enriqueta Arias



Departamento de Biomedicina y Biotecnología. Universidad de Alcalá. 28805 Alcalá de Henares (Madrid).



Grupo MICRODEG de la Universidad de Alcalá. De izquierda a derecha: Sergio Morales, María Enriqueta Arias, Francisco Guillén, Juana Rodríguez, Manuel Hernández y Alba Blánquez

El grupo de investigación del Departamento de Biomedicina y Biotecnología de la Universidad de Alcalá coordinado por la Dra M^a Enriqueta Arias Fernández (Grupo MICRODEG), ha centrado su investigación desde sus inicios hace más de 20 años en la selección de microorganismos lignocelulolíticos y sistemas enzimáticos para aumentar el valor biotecnológico de residuos agroforestales y para implementar métodos biológicos en procesos industriales, con vistas a disminuir su impacto ambiental. A lo largo de estos años se han conseguido establecer los mecanismos básicos implicados en la degradación de lignocelulosa por actinobacterias del género *Streptomyces*, habiéndose aislado y caracterizado los sistemas enzimáticos degradadores de dos de sus polímeros

mayoritarios (lignina y hemicelulosas). Entre estas enzimas se han caracterizado bioquímica y genéticamente xilanasas y lacasas, cuyo potencial biotecnológico y medioambiental se ha puesto de manifiesto en distintas áreas de importancia industrial. Así, se ha demostrado su utilidad en procesos de producción de pastas de celulosa y papel (biopasteo y bioblanqueo) y en los últimos años se está explorando la capacidad de cepas seleccionadas y/o de sus enzimas para resolver problemas de contaminación ambiental derivados de otras industrias (textil y petroquímica), así como de actividades antropogénicas (presencia de contaminantes emergentes en aguas). Recientemente, también estamos evaluando la eficacia en la descontaminación de suelos y aguas de

microorganismos ligninolíticos seleccionados (actinobacterias y hongos) mediante inducción de la producción de radicales hidroxilo, proceso que hemos denominado de Bio-Oxidación Avanzada (PBOA).

ENSAYOS REALIZADOS CON LACASAS BACTERIANAS Y SISTEMAS LACASA-MEDIADOR

Entre las enzimas purificadas y caracterizadas en nuestro grupo, tienen especial relevancia las lacasas producidas por *Streptomyces cyaneus* CECT 3335 (ScIA) (Arias *et al.*, 2003) y *Streptomyces ipomoeae* CECT 3341 (SiIA) (Molina *et al.*, 2009). Nuestro interés en ellas radica, por un lado, en profundizar

en el conocimiento básico de estas enzimas ya que, al tratarse de enzimas recientemente descubiertas en bacterias, su estructura y función son prácticamente desconocidas, y por otro, en la necesidad creciente de encontrar sistemas enzimáticos oxidativos de alta efectividad y bajo coste, que puedan ser aplicados en la resolución de problemas industriales y medioambientales (Moya *et al.*, 2010; Eugenio *et al.*, 2011; Martín-Sampedro *et al.*, 2015).

Los últimos estudios básicos que hemos llevado a cabo con SiIA han permitido elucidar su función biológica y han demostrado por primera vez la implicación de las lacasas en la degradación de lignina por actinobacterias, merced a la realización de un estudio comparativo entre la cepa salvaje de *S. ipomoeae* productora de SiIA y una cepa mutante no productora SiIA. El estudio se llevó a cabo cultivando ambas cepas sobre paja de trigo en condiciones de fermentación en estado sólido (SSF), poniéndose de manifiesto que la cepa salvaje presenta una capacidad solubilizadora de lignina, estimada como APPL (Acid-Precipitable Polymeric Lignin), 12 veces superior a la cepa mutante. Asimismo, los análisis mediante Pirólisis analítica asociada a Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas (Py-GC/MS) de los APPL correspondientes a ambas cepas, mostraron que la abundancia relativa de compuestos derivados de lignina en el APPL producido por la cepa silvestre fue mucho más elevada que en el producido por la cepa mutante SiIA (Arias *et al.*, 2016).

En nuestro interés por proporcionar valor agregado a las lacasas bacterianas caracterizadas, se evaluó la utilidad de la lacasa SiIA producida por *S. ipomoeae* para degradar contaminantes emergentes, eligiéndose en primer término antibacterianos de tipo fluoroquinolona como modelo representativo de PPCPs (Pharmaceuticals and Personal Care Products) detectados con frecuencia en aguas continentales. Los análisis cromatográficos realizados (UHPLC-DAD) y la evaluación de la toxicidad (sistemas Microtox y Algaltoxkit FTM) de los productos de degradación obtenidos mediante la aplicación del sistema lacasa mediador (LMS) constituido por SiIA y acetosiringona, pusieron de manifiesto la eficacia de esta enzima para ser utilizada como herramienta de descontami-

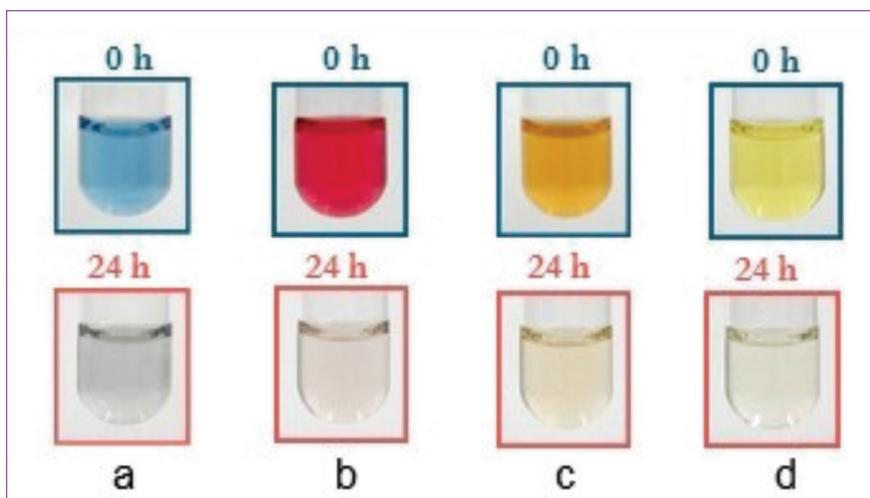


Figura 1.

Fotografías ilustrativas de la decoloración de los tintes Reactive Blue 19 (a), Chromotrope R (b), Methyl Orange (c) y Tartrazine (d) mediante procesos de biooxidación avanzada (PBOA).

nación de este tipo de fármacos (Blánquez *et al.*, 2016).

Recientemente también hemos abordado el estudio de la potencial utilidad de la lacasa SiIA en la mejora del rendimiento de sacarificación de sustratos lignocelulósicos para producir bioetanol, frente a la lacasa fúngica de *Trametes villosa*. Para ello, se ha ensayado la eficacia de ambas lacasas en la deslignificación y sacarificación de paja de trigo pretratada mediante "steam explosion". Los resultados obtenidos mostraron la mayor eficacia de SiIA en la etapa de pre-sacarificación del sustrato, produciendo una mayor liberación de glucosa y xilosa para la etapa de fermentación. Ensayos posteriores de sacarificación y fermentación simultáneas con el sustrato pretratado con ambas lacasas pusieron de manifiesto una mejora en el rendimiento de las dos etapas, siendo importante destacar la ventaja de utilizar la lacasa bacteriana SiIA sobre lacasas fúngicas, ya que su amplio rango de pH de actuación posibilita su aplicación a nivel industrial, facilitando la integración de ambas etapas.

BIO-OXIDACIÓN AVANZADA DE CONTAMINANTES

En estudios anteriores se puso de manifiesto la capacidad de inducir la producción de radicales hidroxilo en hongos ligninolíticos mediante ciclos redox de quinonas

(Gómez-Toribio *et al.*, 2009; Aranda *et al.*, 2011). Más recientemente, hemos comprobado la inducción de este mismo mecanismo en cepas de *Streptomyces*. En nuestro interés por conocer la eficacia degradativa del proceso PBOA, se realizaron ensayos con distintos grupos de contaminantes: compuestos orgánicos persistentes (BTEX, tintes textiles) y contaminantes emergentes (fármacos). Con estos sistemas oxidativos inespecíficos hemos logrado hasta el momento, la degradación de compuestos xenobióticos como benceno, tolueno, etilbenceno y xileno (BTEX) y un gran número de colorantes textiles de los tipos azo, diazo, triarilmetano, antraquinona, heterociclo, ftalocianina e índigo (figura 1), poniéndose de manifiesto en la mayor parte de los ensayos una completa destoxificación de los mismos. Asimismo, se ha comprobado su eficacia en la degradación y destoxificación de fármacos como fluoroquinolonas y carbamazepina.

FUNCIONALIZACIÓN DE LIGNINA CON FINES BIOTECNOLÓGICOS

En la actualidad nuestro grupo de investigación ha iniciado una nueva línea en la que se pretende dar valor añadido a ligninas de origen agroforestal y/o industrial, mediante funcionalización con lacasas, teniendo en cuenta la consideración actual de este polímero como una materia prima renovable con potencial biotecnológico (aditivos para pien-



Figura 2.

Fotografía del biorreactor de bandejas utilizado para la fermentación de paja de trigo mediante SSF por *Streptomyces ipomoeae* CECT 3341

osos, plásticos biodegradables, adhesivos, oleogeles, bioespesantes, etc.).

Previamente habíamos analizado la capacidad de SiIA y SiIA-acetosiringona para polimerizar ligninas de origen técnico (kraft y organosolv) y lignanos en condiciones alcalinas (Moya *et al.*, 2011). Las reacciones enzimáticas se llevaron a cabo a pH 7, 8, 9 y 10, y el efecto sobre los distintos sustratos se monitorizó mediante consumo de oxígeno, cromatografía de exclusión molecular (SEC) y MALDI-TOF-MS. Los resultados obtenidos demostraron la capacidad de la lacasa y, en mayor medida, del sistema LMS para incrementar la masa molecular media de las ligni-

nas tratadas y generar polímeros de lignano de hasta 4 unidades.

Con estos antecedentes estamos llevando a cabo un Proyecto MINECO coordinado con el grupo de la Dra. Valencia de la Universidad de Huelva, cuyo objetivo principal es desarrollar nuevos agentes espesantes amigables con el medio ambiente, obtenidos a partir de fracciones lignocelulósicas derivadas de residuos agrícolas fermentados mediante SSF con *Streptomyces* (figura 2) y lignina kraft funcionalizada con SiIA. El objetivo es conseguir formulaciones biodegradables tipo gel en fase orgánica (oleosa) con diversas aplicaciones industriales (lubricantes, adhesivos, recubri-

mientos, films, ...), en concordancia con las nuevas directivas de sostenibilidad ambiental.

BIBLIOGRAFÍA

- Aranda E, Marco-Urrea E, Caminal G, Arias ME, García Romera I y Guillén F** (2010). Advanced oxidation of benzene, toluene, ethylbenzene and xylene isomers (BTEX) by *Trametes versicolor*. *J Hazard Materials* 181: 181-186.
- Arias ME, Arenas M, Rodríguez J, Soliveri J, Ball A y Hernández M** (2003). Kraft pulp biobleaching and mediated oxidation of a non-phenolic substrate by laccase from *Streptomyces cyaneus* CECT 3335. *Appl Environ Microbiol* 69 (4): 1953-1958.
- Arias ME, Blánquez A, Hernández M, Rodríguez J, Ball AS, González-Pérez J.A, Jiménez-Morillo NT y González-Vila FJ** (2016). Role of a thermostable laccase produced by *Streptomyces ipomoeae* in the degradation of wheat straw lignin in solid state fermentation. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 122: 202-208.
- Blánquez A, Guillén F, Rodríguez J, Arias ME y Hernández M** (2016). The degradation of two fluoroquinolone based antimicrobials by SiIA, an alkaline laccase from *Streptomyces ipomoeae*. *World J Microbiol Biotechnol* 32: 52-59.
- Eugenio ME, Hernández M, Moya R, Martín-Sampedro R, Villar JC y Arias ME** (2011). Evaluation of a new laccase produced by *Streptomyces ipomoeae* on biobleaching and ageing of kraft pulps. *BioResources* 6(3): 3231-3241.
- Gómez-Toribio V, García-Martín AB, Martínez MJ, Martínez AT y Guillén F** (2009). Induction of extracellular hydroxyl radical production by white-rot fungi through quinone redox cycling. *Appl Environ Microbiol* 75: 3944-3953.
- Martín-Sampedro R, Miranda J, García-Fuentevilla LL, Hernández M, Arias ME, Díaz MJ y Eugenio ME** (2015). Influence of process variables on the properties of laccase biobleached pulps. *Bioprocess Biosyst Eng* 38: 113-123.
- Molina-Guijarro JM, Pérez J, Muñoz-Dorado J, Guillén F, Moya R, Hernández M, y Arias ME** (2009). Molecular and physico-chemical characterization of a novel pH-versatile and haloresistant laccase from *Streptomyces ipomoeae* CECT 3341. A tool for the detoxification of azo dyes. *Int Microbiol* 2:13-21.
- Moya R, Hernández M, García-Martín AB, Ball AS y Arias ME** (2010). Contributions to a better comprehension of redox-mediated decolouration and detoxification of azo dyes by a laccase produced by *Streptomyces cyaneus* CECT. *Bioresour Technol* 101: 2224-2229.
- Moya R, Saastamoinen P, Hernández M, Suurnäkki A, Arias ME y Mattinen M-L** (2011). Reactivity of bacterial and fungal laccases on lignin in alkaline conditions. *Bioresour Technol*. 102: 10006-10012.

Enzimas Microbianas de Aplicación Industrial

Francisco Javier Pastor y Pilar Díaz



Departamento de Genética, Microbiología y Estadística. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona. Av. Diagonal 643. 08028 Barcelona. Tel 934034626



De arriba a abajo y de izquierda a derecha: Pau Soteras, Guillem Mas, Rubén Reina, Susana Valenzuela, Gerard Margalef, Alejandro Costa, Maddalen Rodríguez, Mónica Estupiñán, Javier Pastor, Belén Infanzón, Josefina Martínez, Cristina Valls y Pilar Díaz

El grupo de investigación “Enzimas Microbianas de Aplicación Industrial” pertenece a la Sección de Microbiología, Virología y Biotecnología del recién estrenado Departamento de Genética, Microbiología y Estadística de la Universidad de Barcelona, ubicado en la Facultad de Biología de dicha Universidad. Está coordinado por los profesores Francisco Javier Pastor y Pilar Díaz, y forman parte del mismo la profesora titular Josefina Martínez, las profesoras asociadas doctoras Susana Valenzuela y Mónica Estupiñán, así como varios estudiantes de Doctorado, Máster y Grado.

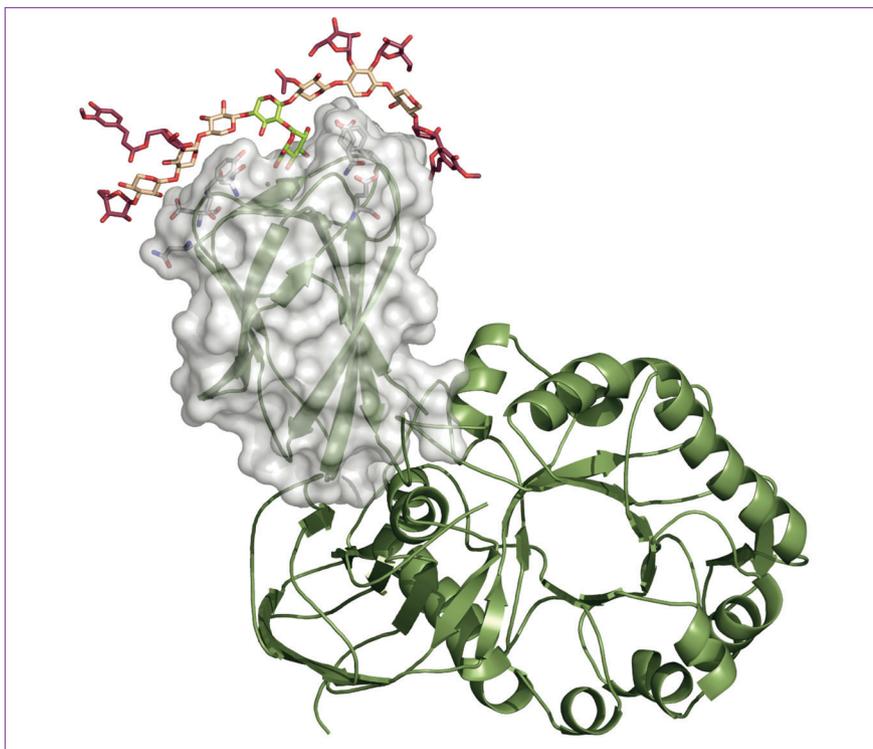
El objetivo y temática principal de investigación es la identificación y estudio de enzimas con actividad despolimerizante o modificadora de la biomasa, tanto de materiales lignocelulósicos como de naturaleza lipídica. Aparte del estudio de la biología molecular de estas enzimas, se evalúa la aplicación

de las mismas en procesos industriales de transformación de la biomasa en productos de consumo. Uno de los principales retos es el desarrollo y diseño de enzimas que minimicen el impacto ambiental de la actividad industrial, cuya introducción en los procesos productivos permita reducir la generación de contaminantes, aumente el rendimiento de las materias primas y/o posibilite la obtención de nuevos productos con propiedades y características novedosas. En definitiva, se persigue la puesta punto de Tecnologías Sostenibles mediante el uso de enzimas.

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE HIDROLASAS

La caracterización bioquímica y genética de nuevas hidrolasas con actividad sobre carbohidratos y lípidos es un aspecto fun-

damental del trabajo investigador. El grupo ha identificado y clonado numerosas carbohidratasas y lipasas a partir de cepas de la colección propia de organismos degradadores de materia orgánica. Entre las enzimas estudiadas con mayor profundidad destacan las xilanasas, de las que se dispone de una gran variedad de tipos de diferentes familias enzimáticas, estructura molecular y actividad. Recientemente se han identificado y caracterizado varias xilanasas de la familia 30 de glicosil hidrolasas (GH30), familia reciente de xilanasas, con muy pocos ejemplos descritos. La característica más notoria de las mismas es su especificidad por el glucuronoxilano, xilano de maderas duras con ramificaciones de ácido glucurónico. Los análisis cristalográficos de las xilanasas GH30 muestran el requerimiento de residuos laterales de ácido glucurónico en el xilano para su unión al centro activo de las enzimas. Los productos de hidrólisis generados por las mismas son



Estructura de la xilanasa Xyn30D de *Paenibacillus barcinonensis*. Constituida por un módulo catalítico de la familia GH30 y un módulo de unión a carbohidratos CBM35. Se muestra la unión de un xilooligosacárido ramificado.

xilooligosacáridos ácidos, de gran potencial biotecnológico como productos bioactivos. Las celulasas son un segundo grupo de carbohidrasas objeto de estudio. Se han clonado y caracterizado varias endoglucanasas y celobiohidrolasas, muchas de las cuales han mostrado un elevado sinergismo en la despolimerización de la celulosa cristalina. También, con el fin de disponer de un mayor rango de posibilidades para la obtención de productos de valor añadido a partir de materiales lignocelulósicos, recientemente se ha abordado el estudio de enzimas con actividad sobre celulosa distinta a la hidrolítica. En este campo se han identificado varias monooxigenasas líticas de polisacáridos (LPMOs), enzimas que rompen los enlaces glucosídicos por oxidación, y varias enzimas no despolimerizadores que modifican la superficie e interacción entre las fibras de celulosa, las denominadas expansinas.

Una clase distinta de enzimas estudiadas por el grupo de la Universidad de Barcelona son las enzimas modificadoras de lípidos, lipasas y esterases. En esta gran clase de enzimas se dispone de un gran número de ejemplos, muchos de ellos provenientes

de microorganismos aislados de hábitats tropicales o volcánicos. Como ejemplo, se han identificado dos lipasas como miembros de nuevas familias no descritas anteriormente. Además, se han realizado estudios de mejora con objeto de utilizarlas tanto en la producción de fármacos a través de la resolución enantiomérica de alcoholes terciarios como en la síntesis enzimática de biodiesel. En este sentido, un aspecto a destacar es la modificación de la especificidad de sustrato de las lipasas mediante mutagénesis por saturación, la obtención de variantes termoresistentes de lipasas por evolución dirigida, o la modificación del bolsillo catalítico (*oxyanion hole*) de dos esterases por mutagénesis dirigida. Asimismo, mediante mutagénesis por diseño racional, se ha estudiado el significado de los residuos implicados en el inusual *oxyanion hole* de tipo Y. Por último, la introducción de estudios *in silico* sobre aspectos estructurales o evolutivos de las lipasas aisladas ha permitido la identificación de dominios estructurales, regiones funcionales y motivos conservados que permiten obtener una visión acerca de los procesos evolutivos de las diferentes enzimas, considerando sus hábitats de aislamiento.

En relación a otro tipo de enzimas que actúan sobre sustratos lipídicos, se ha estudiado en profundidad el sistema diol-sintasa de *P. aeruginosa*, exclusivo de esta especie y nunca antes descrito en bacterias. Se trata de dos enzimas codificadas en un mismo operón que actúan de manera secuencial sobre el ácido oleico, generando hidroperóxido, que a su vez es convertido en el correspondiente diol. Estudios evolutivos realizados *in silico* sugieren que las dos enzimas derivan de un evento de duplicación génica con posterior neofuncionalización de una de las dos enzimas, y permiten su asignación a una nueva subfamilia de di-hemo citocromo c peroxidasas. Ello se ha confirmado mediante mutagénesis dirigida, pudiéndose identificar los residuos implicados en la actividad catalítica.

APLICACIONES EN BIOTECNOLOGÍA DE LA LIGNOCELULOSA

La evaluación del potencial biotecnológico de las enzimas caracterizadas en la modificación de la lignocelulosa permite identificar aquellas con mayor aplicabilidad industrial para la mejora de tecnologías de producción y en la obtención de productos de valor añadido a partir de la biomasa.

En este contexto se han caracterizado varias enzimas con aplicación en tecnología de fabricación de papel. Dos de las xilanasas evaluadas han mostrado elevada eficiencia en el proceso de blanqueo de pasta de papel, tanto de eucalipto como de fibras agrícolas. Es de destacar que, conjuntamente con la disminución en el consumo de blanqueantes químicos contaminantes y el aumento de blancura de las pastas, la aplicación de xilanasas puede disminuir el contenido en ácidos hexenurónicos de las pastas y por tanto contribuir a ralentizar el envejecimiento del papel. Adicionalmente a la disminución en la generación de desechos tóxicos, la aplicación de enzimas puede disminuir el consumo energético del proceso de fabricación. En concreto, se han caracterizado una endoglucanasa y una celobiohidrolasa que modifican superficialmente las fibras papeleras facilitando el refinado mecánico y permitiendo elaborar papeles menos densos pero de mayor resistencia mecánica.

La aplicación de enzimas puede facilitar la funcionalización de las fibras promoviendo

la unión de compuestos de distinto carácter y dando lugar a papeles con propiedades completamente nuevas. La modificación enzimática de las pastas papeleras posibilita la introducción de grupos funcionales para el acoplamiento de sustancias hidrofóbicas o antioxidantes que darían lugar a una nueva generación de productos basados en celulosa. En este campo se ha ensayado con éxito la obtención de papeles antimicrobianos de gran potencial en el embalaje de productos alimenticios.

BIOTRANSFORMACIÓN DE LÍPIDOS

La modificación del *oxyanion hole* de dos esterasas identificadas por el grupo ha permitido su aplicación para la resolución de mezclas racémicas de alcoholes terciarios, elementos clave para la producción de fármacos. En este sentido, se obtuvieron diversas variantes para cada una de las esterasas, que se ensayaron sobre un gran número de alcoholes terciarios. Entre las variantes enzimáticas ensayadas se encontraron dos mutantes con valores de enantioselectividad de $E > 100$, capaces de resolver complejos acetatos de alcoholes terciarios propargílicos con aplicación farmacológica.

Otra aplicación de las lipasas desarrollada recientemente hace referencia a la producción enzimática de biodiesel. Para ello se han ensayado diversas lipasas, tanto solubles como inmovilizadas, sobre sustratos de distinto origen y con calidades y composiciones variables. Se obtuvieron ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES) con resultados variables en función de la enzima y las materias primas utilizadas. Cabe destacar también los resultados obtenidos en cuanto a producción de FAMES cuando se ensayaron materias primas alternativas como aceites de res-

tauración o aceites derivados de hongos. En estos casos, aunque con una productividad inferior, se pudo obtener un buen porcentaje de FAMES. Este sistema fue mejorado con la introducción de fosfolipasas, que permiten llevar a cabo el desgomado de las materias primas en la misma reacción de transesterificación, permitiendo así la implementación de un sistema de producción enzimática de biodiesel en un solo paso. Este proceso, más económico y sostenible que los existentes, ha sido adoptado actualmente por dos compañías norteamericanas (Viesel y Blue Sun) para la producción de biodiesel a escala comercial.

PUBLICACIONES SELECCIONADAS DE LOS ÚLTIMOS 5 AÑOS

- Cerda-Mejía L, Valenzuela S, Frías C, Díaz P y Pastor FIJ.** (2017). A bacterial GH6 cellobiohydrolase with a novel modular structure. *Appl Microbiol Biotechnol* 101: 2943-2952.
- Cesarini S, Haller RF, Díaz P, Nielsen PM.** (2014). Combining phospholipases and a liquid lipase for one-step biodiesel production using crude oils. *Biotechnol Biofuels* 7.
- Cesarini S, Pastor FIJ, Nielsen PM y Díaz P.** (2015). Moving towards a Competitive Fully Enzymatic Biodiesel Process. *Sustainability* 7: 7884-7903.
- Chiriac AI, Pastor FIJ, Popa VI, Aflori M y Ciolacu D.** (2014). Changes of supramolecular cellulose structure and accessibility induced by the processive endoglucanase Cel9B from *Paenibacillus barcinonensis*. *Cellulose* 21: 203-219.
- Ciolacu D, Chiriac AI, Pastor FIJ y Kokol V.** (2014). The influence of supramolecular structure of cellulose allomorphs on the interactions with cellulose-binding domain, CBD3b from *Paenibacillus barcinonensis*. *Bioresour Technol* 157: 14-21.
- Estupiñán M, Alvarez-García D, Barril X, Díaz P y Manresa A.** (2015). In Silico/In Vivo Insights into the Functional and Evolutionary Pathway of *Pseudomonas aeruginosa* Oleate-Diol Synthase. Discovery of a New Bacterial Di-Heme Cytochrome C Peroxidase Subfamily. *Plos One* 10.
- Estupiñán M, Díaz P y Manresa A.** (2014). Unveiling the genes responsible for the unique *Pseudomonas aeruginosa* oleate-diol synthase activity. *BBA-Mol Cell Biol L* 1841: 1360-1371.
- Fillat A, Romea P, Pastor FIJ, Urpi F y Díaz P.** (2015). Kinetic resolution of esters from secondary and tertiary benzylic propargylic alcohols by an improved esterase-variant from *Bacillus* sp. BP-7. *Catal Today* 255: 16-20.
- Fillat A, Gallardo O, Vidal T, Pastor FIJ, Díaz P y Roncero MB.** (2012). Enzymatic grafting of natural phenols to flax fibres: Development of antimicrobial properties. *Carbohydr Polym* 87: 146-152.
- García-Ubasart J, Torres AL, Vila C, Pastor FIJ y Vidal T.** (2013). Biomodification of cellulose flax fibers by a new cellulase. *Ind Crop Prod* 44: 71-76.
- Infanzón B, Valenzuela SV, Fillat A, Pastor FIJ y Díaz P.** (2014). Unusual carboxylesterase bearing a GGG(A) X-type oxyanion hole discovered in *Paenibacillus barcinonensis* BP-23. *Biochimie* 104: 108-116.
- Martínez E, Estupiñán M, Pastor FIJ, Busquets M, Díaz P y Manresa A.** (2013). Functional characterization of ExFadL0, an outer membrane protein required for exporting oxygenated long-chain fatty acids in *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochimie* 95: 290-298.
- Panizza P, Cesarini S, Díaz P y Rodríguez-Giordano S.** (2015). Saturation mutagenesis in selected amino acids to shift *Pseudomonas* sp acidic lipase Lip I.3 substrate specificity and activity. *Chem Commun* 51:1330-1333.
- Sainz-Polo MA, González B, Menéndez M, Pastor FIJ y Sanz-Aparicio J.** (2015). Exploring multimodularity in plant cell deconstruction. Structural analysis of Xyn10C containing the CBM22-1-CBM22-2 tandem. *J Biol Chem* 290: 17116-17130.
- Sainz-Polo M A, Valenzuela SV, Pastor FIJ, González B y Sanz-Aparicio J.** (2014). Structural analysis of glucuronoxylan-specific Xyn30D and its attached CBM35 domain gives insights into the role of modularity in specificity. *J Biol Chem* 289: 31088-31101.
- Valenzuela SV, Ferreres G, Margalef G, y Pastor FIJ.** (2017). Fast purification method of functional LPMOs from *Streptomyces ambifaciens* by affinity adsorption. *Carbohydr Res* in press.
- Valenzuela SV, López S, Biely P, Sanz-Aparicio J y Pastor FIJ.** (2016). The glycoside hydrolase family 8 reducing-end xylose-releasing exo-oligoxylanase Rex8A from *Paenibacillus barcinonensis* BP-23 is active on branched xylooligosaccharides. *Appl Environ Microbiol* 82: 5116-5124.
- Valenzuela SV, Valls C, Roncero MB, Vidal T, Díaz P y Pastor FIJ.** (2014). Effectiveness of novel xylanases belonging to different GH families on lignin and hexenuronic acids removal from specialty sisal fibres. *J Chem Technol Biot* 89: 401-406.

Microbiología Aplicada y Biotecnología de Hongos

Jesús Manuel Cantoral, Francisco Javier Fernández-Acero, María Carbú, Carlos Garrido, Victoria E. González-Rodríguez, Gustavo A. Cordero y Ana Fernández



Laboratorio de Microbiología. Departamento de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública. Facultades de Ciencias. Instituto Universitario de Investigaciones Vitivinícolas y Agroalimentarias (IVAGRO). Universidad de Cádiz. Puerto Real (Cádiz)



Foto de grupo. De izquierda a derecha: María Carbú, Ana Fernández-Morales, Victoria E. González-Rodríguez, Jesús M. Cantoral, Gustavo Cordero y Carlos Garrido

El grupo de investigación «**Microbiología Aplicada y Biotecnología de Hongos**» se crea en la Universidad de Cádiz hace más de dos décadas, siendo desde su inicio un equipo multidisciplinar. Desde su origen el grupo ha abarcado diferentes aspectos tanto teóricos como aplicados al sector de la Viticultura y la Agroalimentación. Pertenece al Grupo BIO 219 (Biología y Biotecnología) del Plan Andaluz de Investigación y Desarrollo y se enmarca dentro del **Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (CeIA3 «International Campus of excellence in Agrifood»)**. Una de las líneas de investigación, ha centrado sus estudios en el hongo fitopatógeno de la vid *Botrytis cinerea*. Otra línea de investigación se ha centrado en las levaduras enológicas responsables de la elaboración de vinos sometidos a crianza biológica (finos y manzanillas), vinos blancos de la provincia de Cádiz y vinos de

crianza en barrica de la DO Ribera del Duero. Desde su creación el grupo ha colaborado estrechamente con diferentes Bodegas (Sandeman, Domecq, Barbadillo, Dominio de Pingus, Lustau, etc.) solucionando problemas microbiológicos, caracterizando las levaduras en distintos sistemas enológicos o dirigiendo y controlando la fermentación con levaduras seleccionadas de la propia Bodega.

La primera línea de investigación se lleva a cabo en colaboración con el Dr. Isidro G. Collado de Química Orgánica de la Universidad de Cádiz. Se centra en el estudio de distintos hongos fitopatógenos como *Colletotrichum acutatum*, que afecta a frutos de gran importancia comercial como la fresa y *Botrytis cinerea* responsable de la “podredumbre gris” (Botrytis) que afecta no solo a la cantidad de la uva, sino a la calidad del vino resultante.

Con el desarrollo de varios proyectos hemos realizado grandes avances en la profundización del conocimiento del hongo fitopatógeno *B. cinerea*, desde el estudio de la bioquímica y biología molecular, el metabolismo secundario y el conocimiento de los mecanismos de patogenidad implicados en los procesos infecciosos. La coordinación de ambos grupos ha sido clave para poder abordar estos aspectos multidisciplinarios, además ha sido de gran ayuda la estrecha colaboración con prestigiosos grupos tanto nacionales como internacionales. El grupo ha sido pionero en la aplicación de técnicas proteómicas al estudio de este patógeno. Así, se ha estudiado el complejo conjunto de proteínas expresadas por el hongo, responsables de su fenotipo y de sus características patológicas, desde la publicación del primer mapa proteómico de *B. cinerea*, hasta la caracterización de sus distintos subproteomas (secretoma, mem-

branoma, fosfoproteoma, etc.). Por otro lado, la secuenciación del genoma de *B. cinerea* ha supuesto un importante avance. Se sabe que al menos 43 enzimas específicas son clave en el metabolismo secundario de este hongo y que tienen relación con la patogenicidad. Igualmente, hemos realizado estudios de expresión y caracterización funcional de cada una de estas enzimas. Sin embargo, salvo 4 genes que están bien caracterizados, los demás son desconocidos o se encuentran en estudios muy preliminares. Estudios recientes ponen de manifiesto que *B. cinerea* posee un mecanismo de adaptabilidad al huésped, por el que podrían disponer de diferentes armas químicas dependiendo de la situación y peculiaridades ambientales en el que se encuentre.

El objetivo final de esta línea de investigación es la profundización en el estudio funcional de los genes del metabolismo secundario del hongo *B. cinerea* y en la caracterización de las enzimas o complejos enzimáticos implicados en sus rutas biosintéticas, utilizando distintas técnicas "ómicas" (genómica, transcriptómica, proteómica y metabolómica). Todos estos estudios nos permitirán la determinación de nuevas dianas moleculares que proporcionen un control eficiente del patógeno, el descubrimiento de nuevos factores de virulencia y/o toxinas implicadas en el metabolismo secundario y la profundización en el conocimiento del potencial mecanismo de adaptabilidad al huésped. Todo ello nos permitirá abordar nuevas estrategias de control del patógeno y diseñar fungicidas selec-



Figura 1.

Ordenación de las barricas sobre el albero en una Bodega típica del marco jerezano para la crianza biológica y detalle de las levaduras de «velo de flor» creciendo en la superficie.

tivos y eficientes compatibles con el Medio Ambiente.

La otra línea de investigación se centra en diferentes aspectos de levaduras enológicas. Hemos aislado y caracterizado un elevado número de levaduras de velo de flor (figura 1), utilizando diferentes técnicas microbiológicas y moleculares, (campo pulsante, RFLPs del ADN mitocondrial, etc.). El desarrollo de estas técnicas nos ha permitido caracterizar genéticamente estas levaduras; concluyendo que estos grupos son muy heterogéneos, apareciendo una gran variabilidad genética entre ellas que podrían reflejar la selección artificial debido al sometimiento de estas levaduras a condiciones industriales tan específicas. Hemos sido pioneros en la aplicación de modernas técnicas como la hibridación competitiva mediante el uso de «microarrays». Este estudio compa-

rativo a nivel del genoma explicaría que la gran variabilidad encontrada respondería a un mecanismo de adaptación evolutiva de estas levaduras, que se encuentran sometidas a unas condiciones tan adversas (alto contenido en etanol y acetaldehído). Los estudios llevados a cabo han permitido en algunos casos la correlación entre la composición particular de un determinado grupo de levaduras y el estado de envejecimiento del vino o las peculiaridades organolépticas del vino fino.

Vitis vinifera L. subespecie *sylvestris* Gmelin (Hegi) es la única especie ancestral en Europa. Son parentales dioicos de las variedades de cultivo actuales y en la actualidad figuran como especie amenazada (figura 2). Esta especie constituye hoy en día un importante recurso fitogenético que alberga una importante diversidad genética, con la que



Figura 2.

Vides y uvas silvestres (Garganta del Capitán y Río Majaceite, Parque Natural de los Alcornocales, Cádiz).

hay que contar para futuros programas de mejora de viníferas y portainjertos, así como para la reforestación de ecosistemas naturales. Sin embargo, hasta ahora, no existían estudios que determinasen la ecología de microorganismos asociados a la uva de la vid silvestre, siendo de especial relevancia aquéllos implicados en la fermentación vínica como las levaduras. En este sentido se ha obtenido una importante colección de levaduras aisladas de vides silvestres en Azerbayán, Georgia, Rumanía, Italia y España. Este estudio pionero, nos permitirá conocer nuevas especies de levaduras o ya conocidas con propiedades de interés enológico y capaces de hacer frente a ataques de hongos fitopatógenos. A su vez estimula la economía de forma sostenible y nos permitirá proveer a las Bodegas de nuevas cepas de levaduras con la finalidad de crear nuevos estilos de vinos. Participamos en el proyecto europeo YeSViTE 7FP (IRSES) en el que están implicados 9 Universidades de 8 países de 4 continentes, coordinado por la Universidad de Milán. El trabajo desarrollado en esta línea de investigación está cada vez más orientado a generar un conocimiento tecnológico que surja como respuesta a un problema o necesidad tanto a nivel regional, nacional o internacional.

Para su financiación el grupo ha contado ininterrumpidamente durante estos años con varios Proyectos del Ministerio, Proyectos de Infraestructura, FEDER, INNFACTO, Talent Hub, CDTI y OTRI con distintas Bodegas, así como diferentes ayudas de la Junta de Andalucía. Esta financiación ha permitido la creación y desarrollo del grupo, en el que se han formado 14 Doctores de los cuales varios han seguido su carrera en la Universidad y el resto ocupan puestos relevantes en Empresas Biotecnológicas. La actividad científica desarrollada ha quedado plasmada en un alto rendimiento de publicaciones de las que se destacan algunas en la Bibliografía, así como la participación en Congresos de ámbito Internacional y Nacional.

Además de la actividad investigadora el grupo es el responsable de la docencia de varias asignaturas de Microbiología en distintos Grados de CC del Mar, Ambientales, Enología, Ingeniería Química y Biotecnología,

así como en varios Master, como el de Biotecnología que se pondrá en marcha el próximo curso. Por otra parte, dentro de las actividades de difusión de la SEM ha organizado el "X y XVI Curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología" (2006 y 2012). Igualmente ha organizado los siguientes Congresos: "SEM: Microbiología Molecular" (2008), "XVth International Botrytis Symposium" (2010), «XI Congreso Nacional de Micología» (2012) y tiene previsto el «VII Congreso Nacional de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana» (previsto para 6-10 de Junio de 2018).

Desde estas líneas, nuestro más sincero agradecimiento a todos los compañeros que con su trabajo han forjado la breve, pero intensa, historia del grupo de **Microbiología Aplicada y Biotecnología de Hongos**.

BIBLIOGRAFÍA

- Cordero-Bueso G, Rodríguez ME, C Garrido, Cantoral JM.** (2017). Rapid and not culture-dependent assay based on multiplex PCR-SSR analysis for monitoring inoculated yeast strains in industrial wine fermentations. *Archives of Microbiology* 199: 135–143. doi: 10.1007/s00203-016-1287-4.
- Cordero-Bueso G, Foschino R, Maghradze D, Mangieri N, Cantoral JM, Vigentini I.** (2017) Wild grape-associated yeasts as a promising strategy of biocontrol against *Vitis vinifera* fungal pathogens. *Frontiers in Microbiology* (under review).
- Fernández-Acero FJ, Jorge I, Calvo E, Vallejo I, Carbú M, Camafeita E, Lopez JA, Cantoral JM, Jorrián J.** (2006). Two-dimensional electrophoresis protein profile of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*. *Proteomics* 6: S88-96. doi: 10.1002/pmic.200500436.
- Fernández-Acero FJ, Colby T, Harzen A, Cantoral JM, Schmidt J.** (2009). Proteomic analysis of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea* during cellulose degradation. *Proteomics* 9 (10): 2892-2902. doi: 10.1002/pmic.200800540.
- Fernández-Acero FJ, Colby T, A Harzen, Carbú M, U Wieneke, Cantoral JM, Schmidt J.** (2010). 2-DE proteomic approach to the *Botrytis cinerea* secretome induced with different carbon sources and plant-based elicitors. *Proteomics* 10 (12): 2270-2280. doi: 10.1002/pmic.200900408.
- Garrido C, Carbú M, Fernández-Acero FJ, Boonham N, Colyer A, Cantoral JM, Budge G.** (2009). Development of protocols for detection of *Colletotrichum acutatum* and monitoring of strawberry anthracnose using real-time PCR. *Plant Pathology* 58 (1): 43-51. doi: 10.1111/j.1365-3059.2008.01933.x
- Garrido C, Carbú M, Fernández-Acero FJ, Vallejo I, Cantoral JM.** (2009). Phylogenetic relationships and genome organization of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose in strawberry. *European Journal of Plant Pathology*. 125 (3): 397-411. doi: 10.1007/s10658-009-9489-0.
- González-Rodríguez VE, Garrido C, Cantoral JM, Schumacher J.** (2016). The F-actin capping protein is required for hyphal growth and full virulence but is dispensable for septum formation in *Botrytis cinerea*. *Fungal Biology* 120: 1225-1235.
- González-Rodríguez VE, Liñeiro E, Colby T, Harzen A, Garrido C, JM Cantoral, Schmidt J, Fernández-Acero FJ.** (2015) Proteomic profiling of *Botrytis cinerea* conidial germination. *Archives of Microbiology* 197 (2): 117–133.
- Infante JJ, Dombek KM, Rebordinos L, Cantoral JM, Young ET.** (2003). Genome-wide amplifications caused by chromosomal rearrangements play a major role in the adaptive evolution of natural yeast. *Genetics* 165: 1745-1759.
- Liñeiro E, Chiva C, Cantoral JM, Sabidó E, Fernández-Acero FJ** (2016) Modifications of fungal membrane proteins profile under pathogenicity induction: A proteomic analysis of *Botrytis cinerea* membrane. *Proteomics* 16: 2363-2376. doi:10.1002/pmic.201500496.
- Liñeiro E, Chiva E, Cantoral JM, Sabidó E, Fernández-Acero FJ.** (2016) Dataset of the *Botrytis cinerea* phosphoproteome induced by different plant-based elicitors. *Data Brief*. 2016 Jun; 7: 1447–1450. doi: 10.1016/j.dib.2016.04.039.
- Liñeiro E, Chiva E, Cantoral JM, Sabidó E, Fernández-Acero FJ** (2016) Phosphoproteome analysis of *B. cinerea* in response to different plant-based elicitors. *Journal of Proteomics* (SSN: 1874-3919) 139: 84-94 doi:10.1016/j.jprot.2016.03.019.
- Mesa JJ, Infante JJ, Rebordinos L, Sánchez JA, Cantoral JM.** (2000). Influence of the yeast genotypes on enological characteristics of Sherry wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 5: 15-21.
- Muñoz-Bernal E, Deery J, Rodríguez ME, Cantoral JM, Howard J, Feret R, Natera R, Dodero MC, Lilley KS, Fernández-Acero FJ.** (2016). Analysis of temperature-mediated changes in the wine yeast *Saccharomyces bayanus var uvarum*. An oenological study of how the protein content influences wine quality. *Proteomic* 16: 576–592. doi: 10.1002/pmic.201500137.
- Rodríguez ME, Infante JJ, Molina M, Domínguez M, Rebordinos L, Cantoral JM.** (2010). Genomic characterization and selection of wine yeast to conduct industrial fermentations of a white wine produced in a SW Spain winery. *J. Appl. Microbiol.* 108: 1292-1302.
- Rodríguez ME, Infante JJ, Molina M, Rebordinos L, Cantoral JM.** (2011). Using RFLP-mtDNA for the rapid monitoring of the dominant inoculated yeast strain in industrial wine fermentations. *International Journal of Food Microbiology* 145: 331-335.
- Rodríguez ME, Infante JJ, Mesa JJ, Rebordinos L, Cantoral JM.** (2013). Enological behaviour of biofilms formed by genetically-characterized strains of sherry *flor* yeast. *The Open Biotechnology Journal* 7: 23-29. doi: 10.2174/1874070701307010023.

MEDINA: Diversidad microbiana y productos naturales

Olga Genilloud



Fundación MEDINA, Avda Conocimiento 34, Parque Tecnológico Ciencias de la Salud, 18016 Granada



Miembros del Grupo de Investigación de Fundación MEDINA

La Fundación MEDINA es un Centro de Investigación sin ánimo de lucro creado a partir de la alianza entre MSD de España, la Universidad de Granada y la Junta de Andalucía, y continuidad de las líneas de investigación en productos naturales del antiguo centro de investigación básica de MSD en España. Los productos naturales han sido y siguen siendo una de las fuentes con mayor diversidad e interés para el descubrimiento de nuevos compuestos bioactivos. La actividad investigadora de MEDINA está principalmente enfocada en la explotación de la diversidad microbiana y la identificación de nuevos metabolitos secundarios para su posible desarrollo como fármacos así como productos de alto valor biotecnológico (Genilloud, 2014). El centro dispone de la mayor colección de microorganismos y librerías de productos naturales dedicadas al descubrimiento de nuevas moléculas, así como una de las plataformas tecnológicas más completas y automatizadas para el cribado de alta capa-

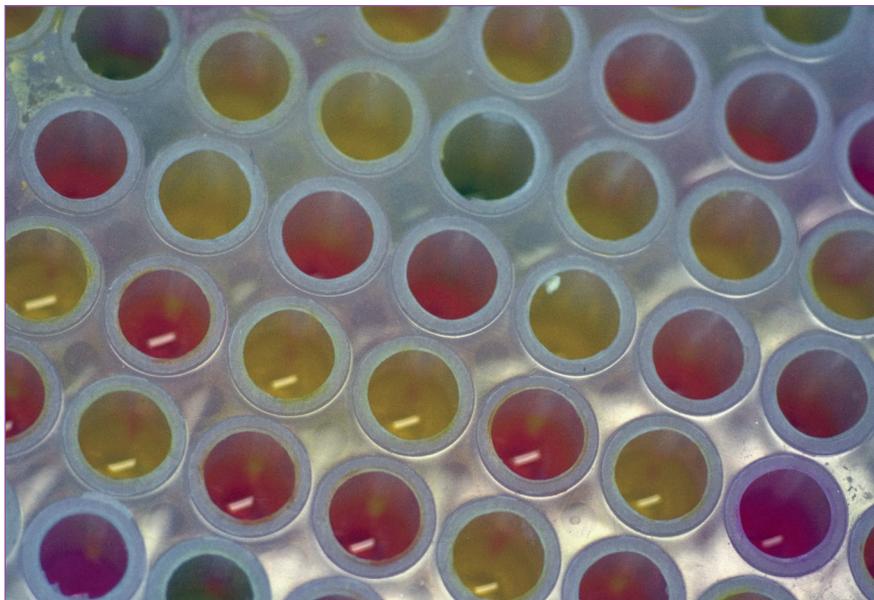
cidad en un abanico de áreas terapéuticas y para el aislamiento y elucidación estructural de las nuevas moléculas.

COLECCIONES MICROBIANAS Y ACCESO A LA DIVERSIDAD MICROBIANA

El estudio de la diversidad microbiana y el análisis de las capacidades biosintéticas de las 190.000 cepas de hongos y bacterias de la colección de cultivos de MEDINA son el objeto de una gran parte de sus actividades. La colección de microorganismos es la piedra angular de MEDINA ya que representa el punto de partida para la producción de nuevas moléculas y la búsqueda de compuestos con actividad biológica en los programas de descubrimiento de nuevos fármacos. La colección de cultivos es el resultado de la fusión de dos colecciones de cepas industriales con diferentes historias y estrategias. La primera está compuesta por las cepas de

la colección del antiguo centro de MSD en Madrid, colección recopilada a lo largo de más de 20 años a partir de la selección de cepas procedentes de la más amplia variedad de geografías, entornos marinos y terrestres, y nichos ecológicos con el fin de garantizar la mayor diversidad de microorganismos y por extensión poder incrementar la diversidad biosintética. A esta colección se ha sumado recientemente la colección de Cubist Pharmaceuticals (Boston) tras su adquisición por Merck and Co., colección que complementa en composición, orígenes y diversidad la ya existente en MEDINA.

La colección de cultivos sigue además expandiéndose como resultado del trabajo realizado sobre nuevas fuentes de aislamiento seleccionadas en entornos singulares en Andalucía. Estos estudios han permitido acceder a comunidades microbianas, especialmente endófitos y microbiomas de rizosferas de plantas endémicas así como aquellas procedentes

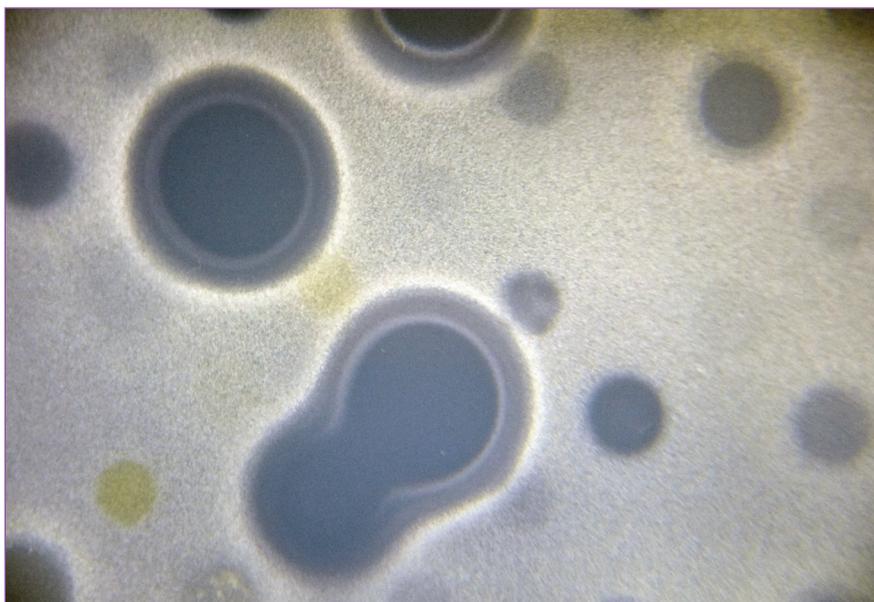


Microplaca de la colección de extractos de productos naturales de origen microbiano.

de entornos expuestos a factores bióticos y abióticos con fuerte presión selectiva, y con el objetivo de complementar la diversidad microbiana de las colecciones existentes.

Otros abordajes desarrollados en el centro plantean el aislamiento de comunidades no cultivadas previamente que siendo metabólicamente activas en su entorno natural suponen una fuente no explorada de nuevos compuestos. La utilización de microcámaras

de difusión ha permitido aislar y domesticar en condiciones de laboratorio una gran variedad de especies bacterianas. Entre estas se incluyen nuevas especies así como nuevos taxones solo descritos en estudios metagenómicos y asociados a taxones no cultivables. Este es el caso del aislamiento de la cepa del nuevo género *Longimicrobium terrae* primer representante aislado en cultivo en su clado perteneciente a los *Gemmatimonadetes* (Pascual et al., 2015; 2016).



Cribado de extractos naturales frente a patógenos Gram negativos: ensayo de inhibición del crecimiento de *E. coli* en agar.

EXPRESIÓN DEL METABOLISMO SECUNDARIO

Está generalmente aceptado que las colecciones de cultivo constituyen un reservorio de diversidad metabólica todavía poco explorada. Una gran mayoría de microorganismos en cultivo solo expresan una pequeña fracción de las rutas biosintéticas identificadas en sus genomas, siendo esta mayoría críptica una excelente oportunidad para la identificación de nuevos productos naturales. Uno de los mayores retos supone implementar métodos de cultivo en condiciones que permitan la expresión de dichos genes crípticos. La diversidad de las nuevas librerías no solo depende de la utilización de múltiples condiciones nutricionales (OSMAC), sino también de la adición de efectores metabólicos y moduladores epigenéticos y en conseguir la producción de nuevos metabolitos a partir de fermentaciones de cepas en co-cultivo favoreciendo la señalización e interacción entre especies y posiblemente la expresión de rutas crípticas (González-Menéndez et al., 2016; Serrano et al., 2017).

Estas aproximaciones empíricas se han complementado con los nuevos programas de minería de rutas biosintéticas y el análisis de los genomas de cepas productoras de nuevos compuestos de interés. Todas estas iniciativas nos están permitiendo identificar las agrupaciones de genes asociadas a la síntesis de nuevos compuestos, así como analizar en profundidad la diversidad metabólica de estos microorganismos y plantear la expresión heteróloga de aquellas rutas que no son funcionales en la cepa salvaje.

APLICACIÓN EN PROGRAMAS DE DESCUBRIMIENTO DE FÁRMACOS

Todos los abordajes anteriores se han aplicado en la generación de nuevos módulos de extractos a partir de fermentaciones de las cepas en una amplia variedad de condiciones. Actualmente MEDINA dispone de una librería de productos naturales con más de 135.000 muestras para su utilización en los programas de descubrimiento de fármacos asociados a las áreas estratégicas desarrolladas en el centro y enfocados en enfermedades infecciosas y tropicales, cáncer y neurodegeneración. Todos estos programas

requieren la participación de un equipo multidisciplinar para asegurar el seguimiento tras la selección de los candidatos más prometedores, de la producción y escalado, el aislamiento químico guiado por bioactividad y la elucidación estructural de las nuevas moléculas.

Como resultado de la búsqueda de nuevos antibióticos en programas de cribado frente a paneles de patógenos de hongos y bacterias Gram negativas y Gram positivas, y especialmente en el marco de los Proyectos FP7 PharmaSea y ERA-net Pathogenomics ANTIFUN, y otros proyectos nacionales, hemos identificado 16 nuevas familias de compuestos entre las que se destacan varios sinérgicos de equinocandinas como la humidimicina, el thiazolipeptido kocurin (MDN-0055), y la nueva clase de antibióticos de amplio espectro frente a Gram negativos (MDN-0057/-0060) seleccionados para desarrollo preclínico en el programa IMI- ND4BB ENABLE (Valiante et al., 2015; Palomo et al., 2013; Genilloud, 2014).

Los programas de búsqueda de nuevos antitumorales han combinado aproximaciones fenotípicas con ensayos enfocados en dianas específicas, utilizando paneles de líneas tumorales de hígado, mama, páncreas, colón y melanoma, y técnicas de High Content Imaging. Dos nuevas familias de compuestos están actualmente en desarrollo preclínico e incluyen una nueva clase de inhibidores de PDK1 para tumores que sobreexpresen PI3K y una nueva familia de compuestos específicos en cáncer de páncreas con eficacia en

modelos animales (de Pedro et al., 2014; 2015).

Finalmente en el campo de la neurodegeneración, y especialmente de la esclerosis lateral amiotrófica y la neuroprotección, hemos identificado a partir de nuestras librerías dos productos naturales con actividad inhibidora de GSK3 β y con efecto neuroprotector en modelo murino de neuronas motoras (de Pedro et al., 2016)

En resumen, el descubrimiento de nuevos candidatos a fármacos en Fundación MEDINA ha requerido la integración de un equipo multidisciplinar de investigadores trabajando sobre la base de la diversidad de las fuentes de productos naturales y la expresión del potencial metabólico de los microorganismos, y apoyados por una plataforma de cribado y de aislamiento de productos naturales igualmente de referencia en el área.

REFERENCIAS

1. Genilloud O (2014) The re-emerging role of microbial natural products in antibiotic discovery. *Antonie Van Leeuwenhoek* 106: 1. 173-88.
2. Pascual J, García-López M, Bills GF, Genilloud O (2015) *Pseudomonas granadensis* sp. nov., a new bacterial species isolated from the Tejada, Almirajara and Alhama Natural Park, Granada, Spain. *Int J Syst Evol Microbiol* 65: 625-632.
3. Pascual J, García-López M, Bills GF and Genilloud O (2016) *Longimicrobium terrae* gen. nov., sp. nov., a novel oligotrophic bacterium of the underrepresented phylum *Gemmatimonadetes* isolated through a system of miniaturized diffusion chambers. *Int J Syst Evol Microbiol*. 66:1976-85.

4. González-Menéndez V, Pérez-Bonilla M, Pérez-Victoria I, Martín J, Muñoz F, Reyes F, Tormo JR, Genilloud O. (2016) Multicomponent Analysis of the Differential Induction of Secondary Metabolite Profiles in Fungal Endophytes. *Molecules*. 21: doi: 10.3390/molecules21020234.
5. Serrano R, González-Menéndez V, Rodríguez L, Martín J, Tormo JR, Genilloud O. (2017) Co-culturing of fungal strains against *Botrytis cinerea* as a model for the induction of chemical diversity and therapeutic agents. *Front. Microbiol* 19 doi: 10.3389/fmicb.2017.00649.
6. Valiante V., Monteiro MC, Martín J, Altwasser R, El Aouad N., González I, Kniemeyer O., Mellado E, palomo S, de Pedro N, Pérez-Victoria I., Tormo JR, Vicente F., Reyes F., Genilloud O and Brakhage A (2015) Hitting the caspofungin salvage pathway of human-pathogenic fungi with the novel lasso peptide humidimycin (MDN-0010). *Antimicrob. Agents Chemotherapy* 59:5145-53.
7. Palomo S, González I, Martín J, de la Cruz M, Vicente F, Reyes F, Tormo JR, Anderson M, Hill RT, Genilloud O. (2013) Sponge-derived *Kocuria* and *Micrococcus* spp. as new sources of thiazolylpeptide antibiotics. *Marine Drugs* 11:1071-7086.
8. Genilloud O, Tormo JR, Reyes F, El Aouad N, Vicente F, De la Cruz M, Bills G, Gonzalez V., Monteiro MC. 2014. Compounds with antibacterial activity. EP13382258.
9. De Pedro N, Gonzalez V., Crespo G., Cautain B., Acero T, Jimenez V., Molina M, Vicente F, Reyes F, Serrano J, Perez-Victoria I, Genilloud O. 2014. PI3K inhibitor compounds to treat cancer. EP15382048.5.
10. De Pedro N, González V, Crespo G, Pérez-Victoria I, Cautain B, Vicente F, Reyes F, Genilloud O, Griñán C, Marchal JA. 2015. Phenol derivatives to treat cancer EP3088396 A1.
11. de Pedro N, Cantizani J, Ortiz-López FJ, González-Menéndez V, Cautain B, Rodríguez L, Bills GF, Reyes F, Genilloud O, Vicente F. (2016) Protective effects of isolecanoric acid on neurodegenerative in vitro models. *Neuropharmacology* 101:538-48.

Coloquio, by Victor.

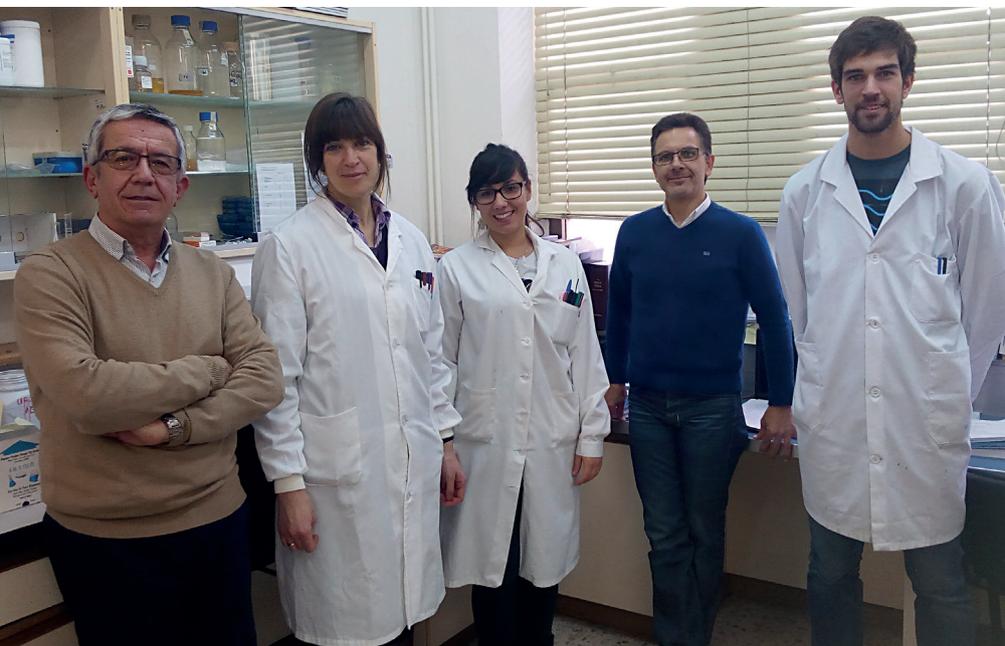


Biología Molecular de Corinebacterias

Luis M. Mateos y José A. Gil

luis.mateos@unileon.es
jagils@unileon.es

Departamento de Biología Molecular (Área de Microbiología). Universidad de León. Campus de Vegazana s/n. 24071. León.



De izquierda a derecha: José A. Gil, Marta F. Caso, Laura M. Pascual, Luis M. Mateos y Álvaro Mourenza.

Las corinebacterias son microorganismos pertenecientes al grupo de las actinobacterias (bacterias Gram positivas con elevado contenido en G+C). Algunos de sus representantes han sido tradicionalmente bien conocidos por su patogenicidad, como es el caso de *Corynebacterium diphtheriae* agente causante de la difteria; actualmente se están describiendo decenas de especies de corinebacterias como agentes causantes de enfermedades emergentes en individuos inmunosuprimidos. Aparte de este interés médico-sanitario por parte de algunos de sus representantes, ciertas especies de corinebacterias han sido tradicionalmente utilizadas en procesos industriales, como es el caso de *Corynebacterium glutamicum* que recibe el epíteto “glutamicum” por producir de forma natural el aminoácido ácido glutámico; otro aspecto muy relevante de *C. glutamicum* radica en su carencia de patogenicidad, siendo reconocido oficialmente como bacteria GRAS (“Genera-

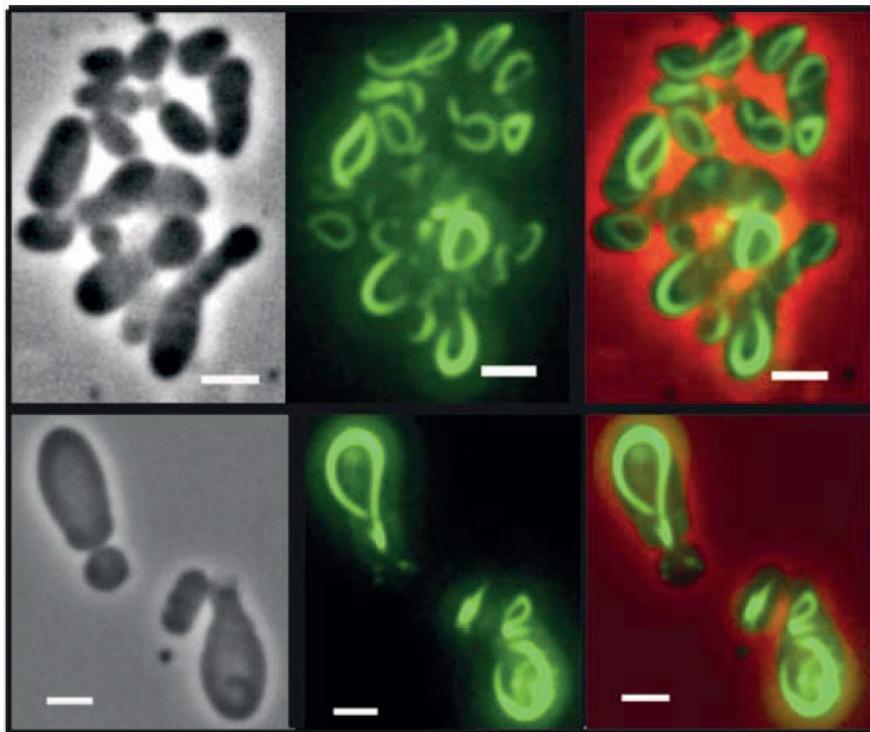
lly Recognized As Safe”). Igualmente, este microorganismo se ha utilizado en procesos de producción de otros metabolitos primarios o en transformaciones metabólicas de interés en el campo de la biología sintética.

Nuestras investigaciones con *Corynebacterium glutamicum* comenzaron en los años 80 en la Universidad de León (Área de Microbiología) dirigido por el Prof. Juan F. Martín. La idea inicial era desarrollar un sistema de manipulación genética en cepas de *C. glutamicum* para incrementar la producción del aminoácido lisina, promovido fundamentalmente por algunas empresas nacionales con interés en producir aminoácidos esenciales para nutrición animal. En esos inicios no había vectores de clonación ni métodos para transformar *Corynebacterium*. No obstante, la experiencia de nuestro laboratorio con otros representantes de actinobacterias (*Streptomyces coelicolor* y

Streptomyces lividans), así como el manejo rutinario de técnicas de biología molecular con la bacteria por excelencia, *Escherichia coli*, nos fueron permitiendo alcanzar los hitos que describimos a continuación; estos hitos van acompañados con referencias de alguna de las publicaciones más representativas de los doctorandos que en su momento las realizaron y que hoy son Profesores en Universidades españolas y extranjeras, investigadores del CSIC, directores de empresas biotecnológicas o Profesores en Institutos de Bachillerato y de Formación Profesional.

1. DESARROLLO DEL SISTEMA DE CLONACIÓN EN *CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM*

El conseguir el desarrollo de un sistema de clonación en una especie bacteriana, necesita vectores de clonación específicos para dicha



Imágenes de contraste de fases, fluorescencia y superposición de ambas en una cepa de *Corynebacterium glutamicum* que sobreexpresa la proteína RsmP (filamento intermedio) fusionada a GFP.

especie y un sistema de introducción de ADN. Esto fue conseguido por Ramón Santamaría (Santamaría *et al.*, 1985) partiendo del plásmido críptico endógeno pBL1 (Santamaría *et al.*, 1984). El plásmido pBL1 (el acrónimo indica la cepa *Brevibacterium lactofermentum*, que luego fue reclasificada dentro de *C. glutamicum*) fue la base para desarrollar una gran cantidad de vectores para la manipulación genética de *C. glutamicum* (Cadenas *et al.*, 1991).

2. CLONACIÓN DE GENES IMPLICADOS EN LA BIOSÍNTESIS DE AMINOÁCIDOS

Dado el interés industrial de *C. glutamicum* como productor de aminoácidos, una de las propuestas fue la clonación de genes de implicados en la biosíntesis de aminoácidos, labor realizada por un elevado número de estudiantes de doctorado; para ello se trabajó en campos diversos que permitieron la caracterización de los genes implicados en la producción de aminoácidos con interés industrial y esenciales para la dieta animal, tales como triptófano (Guerrero *et al.*, 1994; del Real *et al.*, 1985), treonina (Mateos *et al.*, 1987) y

lisina (Fernández-González *et al.*, 1996), entre otros.

3. LAS CORINEBACTERIAS COMO MODELOS PARA PRODUCIR ENZIMAS EXTRACELULARES

Era conocido el hecho de que *C. glutamicum* no producía enzimas extracelulares y por tanto los medios de cultivo para la producción de aminoácidos deberían contener hidrolizadores de proteínas o de azúcares complejos. Los estudios realizados por Sirin Adham mostraron que *C. glutamicum* es capaz de producir de forma heteróloga y secretar al medio de cultivos, grandes cantidades de enzimas xilanasas, amilasas o celulasas de diferentes orígenes (*Streptomyces*, hongos filamentosos), facilitando los procesos de transformación metabólica (Adham *et al.*, 2001).

4. CARACTERIZACIÓN DEL MECANISMO DE DIVISIÓN/ELONGACIÓN CELULAR EN *C. GLUTAMICUM*

El proceso de crecimiento/elongación y división celular de *C. glutamicum* ha sido

un tema científicamente atractivo ya que las corinebacterias en general presentan un modelo de división llamado crepitante (por “chasquido”); igualmente el patrón de elongación celular, con crecimiento apical independiente de MreB (equivalente de actina en muchos procariontes bacilares) y la existencia de una maquinaria de división “minimalista” cuando se compara con la maquinaria de *E. coli*, nos ha permitido realizar propuestas distintas para patrones de crecimiento/división bacteriana. La proteína que organiza el proceso de división celular es FtsZ (equivalente bacteriano de tubulinas) y el gen *ftsZ* fue clonado por Pilar Honrubia (Honrubia *et al.*, 2001). La clonación, caracterización y regulación del resto de los genes del agrupamiento genético implicado en división y síntesis de pared celular (cluster *dcw*) fueron realizados por Angelina Ramos (Ramos *et al.*, 2003), Noelia Valbuena (Valbuena *et al.*, 2007), Michal Letek (Letek *et al.*, 2008) y María Fiuza (Fiuza *et al.*, 2008), con el hecho relevante de describir la presencia de factores proteicos como DivIVA (implicado en crecimiento apical) y proteínas intermedias como RsmP (Fiuza *et al.*, 2010).

5. RESISTENCIA AL METALOIDE ARSÉNICO Y SU BIOCONTENCIÓN

Una de las líneas de trabajo establecida hace una década en nuestro laboratorio fue el estudio de los sistemas de resistencia a metales pesados en corinebacterias. *C. glutamicum* se ha mostrado tradicionalmente como una bacteria “resistente” a factores ambientales, ocupando en ocasiones nichos donde abundan agentes tóxicos/contaminantes. El agente tóxico más relevante desde hace décadas, cuando se analiza su relación abundancia/peligrosidad es el arsénico (<https://www.atsdr.cdc.gov/spl/>). Dado que este tóxico ha estado presente en la Tierra desde su formación, muchos microorganismos han adquirido resistencia a las dos formas frecuentes de arsénico inorgánico (arseniato y arsenito), aspecto ausente en seres vivos más “evolucionados”. *C. glutamicum* es una de las bacterias más resistentes a las formas inorgánicas de arsénico por presencia de varios operones de resistencia que codifican para un regulador/represor (ArsR), una enzima arseniato reductasa (ArsC o Acr2) y la proteína arse-

nito permeasa (ArsB o Acr3). Dichos operones fueron caracterizados por Efrén Ordóñez (Ordóñez *et al.*, 2005) y Almudena F. Villadangos (Villadangos *et al.*, 2011); igualmente se realizaron sistemas de biocontención de arsénico basados en mutantes de *C. glutamicum* carentes de algunas de las actividades enzimáticas anteriormente reseñadas (Feo *et al.*, 2007).

6. MECANISMOS DE RESISTENCIA A ESTRÉS OXIDATIVO: MICORREDOXINAS

Una de las actividades enzimáticas anteriormente indicadas que estaba implicada en desintoxicar la especie arseniato (As^v) resultó tener un mecanismo de acción Redox diferente a todos los sistemas descritos hasta esos momentos para desintoxicarse de agentes que desencadenen estrés oxidativo; este sistema iba ligado a la molécula micotiol (el equivalente a glutatión en actinobacterias) y a las enzimas micorreoxinas, Mrx's (Ordóñez *et al.*, 2009). Fruto de esta descripción, nuestro grupo se propuso la búsqueda de diferentes micorreoxinas en *C. glutamicum* y organismos relacionados (*Mycobacterium/Rhodococcus*) con objeto de conocer los procesos metabólicos en los que están implicados estas Mrx's, y principalmente su implicación en recuperar a las células frente a los agentes oxidantes peróxido de hidrógeno e hipocloritos (Pedre *et al.*, 2015; Mateos *et al.*, 2017).

En los últimos años hemos colaborado con grupos de investigación extranjeros, y a modo de ejemplo, con los Drs. Joris Messens (Bélgica), Virginie Molle (Francia) y Barry P. Rosen (USA).

BIBLIOGRAFÍA

- Adham SA, Campelo AB, Ramos A y Gil JA.** (2001). Construction of a xylanase-producing strain of *Brevibacterium lactofermentum* by stable integration of an engineered *xysA* gene from *Streptomyces halstedii* JM8. *Appl Environ Microbiol* 67: 5425-5430.
- Cadenas RF, Martín JF y Gil JA.** (1991). Construction and characterization of promoter-probe vectors for corynebacteria using the kanamycin-resistance reporter gene. *Gene* 98: 117-121.
- Feo JC, Ordóñez E, Letek M, Castro MA, Muñoz MI, Gil JA, Mateos LM y Aller AJ.** (2007). Retention of inorganic arsenic by coryneform mutant strains. *Water Res* 41: 531-542.
- Fernández-González C, Gil JA, Mateos LM, Schwarzer A, Schäfer A, Kalinowski J, Pühler A y Martin JF.** (1996). Construction of L-lysine-overproducing strains of *Brevibacterium lactofermentum* by targeted disruption of the *hom* and *thrB* genes. *Appl Microbiol Biotechnol* 46: 554-558.
- Fiuzza M, Canova MJ, Patin D et al.** (2008). The MurC ligase essential for peptidoglycan biosynthesis is regulated by the serine/threonine protein kinase PknA in *Corynebacterium glutamicum*. *J Biol Chem* 283: 36553-36563.
- Fiuzza M, Letek M, Leiba J, Villadangos AF, Vaquera J, Zanella-Cleón I, Mateos LM, Molle V y Gil JA.** (2010). Phosphorylation of a novel cytoskeletal protein (RsmP) regulates rod-shaped morphology in *Corynebacterium glutamicum*. *J Biol Chem* 285: 29387-29397.
- Guerrero C, Mateos LM, Malumbres M y Martin JF.** (1994). Directed mutagenesis of a regulatory palindromic sequence upstream from the *Brevibacterium lactofermentum* tryptophan operon. *Gene* 138: 35-41.
- Honrubia MP, Ramos A y Gil JA.** (2001). The cell division genes *ftsQ* and *ftsZ*, but not the three downstream open reading frames YFIH, ORF5 and ORF6, are essential for growth and viability in *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 13869. *Mol Genet Genomics* 265: 1022-1030.
- Letek M, Ordóñez E, Vaquera J, Margolin W, Flårdh K, Mateos LM y Gil JA.** (2008). DivIVA is required for polar growth in the mreB-lacking rod-shaped actinomycete *Corynebacterium glutamicum*. *J Bacteriol* 190: 3283-92.
- Mateos LM, del Real G, Aguilar A y Martin JF.** (1987). Nucleotide sequence of the homoserine dehydrogenase (*thrA*) gene of *Brevibacterium lactofermentum*. *Nucleic Acids Res* 15: 10598.
- Mateos LM, Villadangos AF, de la Rubia AG, Mourrenza A, Pascual L, Letek M, Pedre B, Messens J y Gil JA.** (2017). The arsenic detoxification system in corynebacteria: basis and applications for bioremediation and redox control. *Adv Appl Microbiol* 99: 103-137.
- Ordóñez E, Van Belle K, Roos G, de Galan S, Letek M, Gil JA, Wyns L, Mateos LM y Messens J.** (2009). Arsenate reductase, mycothiol, and mycoredoxin concert thiol/disulfide exchange. *J Biol Chem* 284: 15107-15116.
- Ordóñez E, Letek M, Valbuena N, Gil JA y Mateos LM.** (2005). Analysis of genes involved in arsenic resistance in *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032. *Appl Environ Microbiol* 71: 6206-6215.
- Pedre B, Van Molle I, Villadangos AF, Wahni K, Vertommen D, Turell L, Erdogan H, Mateos LM y Messens J.** (2015). The *Corynebacterium glutamicum* mycothiol peroxidase is a reactive oxygen species-scavenging enzyme that shows promiscuity in thiol redox control. *Mol Microbiol* 96: 1176-1191.
- Ramos A, Honrubia MP, Valbuena N, Vaquera J, Mateos LM y Gil JA.** (2003). Involvement of DivIVA in the morphology of the rod-shaped actinomycete *Brevibacterium lactofermentum*. *Microbiology* 149: 3531-3542.
- Real G del, Aguilar A y Martin JF.** (1985). Cloning and expression of tryptophan genes from *Brevibacterium lactofermentum* in *Escherichia coli*. *Biochem Biophys Res Commun* 133: 1013-1019.
- Santamaria R, Gil JA, Mesas JM y Martin JF.** (1984). Characterization of an endogenous plasmid and development of cloning vectors and a transformation system in *Brevibacterium lactofermentum*. *J Gen Microbiol* 130.
- Santamaria RI, Gil JA y Martin JF.** (1985). High-frequency transformation of *Brevibacterium lactofermentum* protoplasts by plasmid DNA. *J Bacteriol* 162: 463-467.
- Valbuena N, Letek M, Ordóñez E, Ayala J, Daniel RA, Gil JA y Mateos LM.** (2007). Characterization of HMW-PBPs from the rod-shaped actinomycete *Corynebacterium glutamicum*: peptidoglycan synthesis in cells lacking actin-like cytoskeletal structures. *Mol Microbiol* 66: 643-657.
- Villadangos AF, Van Belle K, Wahni K et al.** (2011). *Corynebacterium glutamicum* survives arsenic stress with arsenate reductases coupled to two distinct redox mechanisms. *Mol Microbiol* 82: 998-1014.

INBIOTEC. Biotecnología microbiana aplicada a la industria farmacéutica, agroalimentaria y medioambiental

Barreiro C, García-Calvo L, García-Estrada C, Kosalková K, Pérez-Redondo R, Rodríguez-García A, Sánchez-Orejas C, Sola-Landa A.

 carlos.barreiro@inbiotec.com
c.barreiro@unileon.es

Parque Científico de León. Avda. Real, 1. 24006 León.



Integrantes del equipo investigador y técnico del Instituto de Biotecnología de León (INBIOTEC)

El Instituto de Biotecnología de León (INBIOTEC) es un Centro Tecnológico que surgió en León en 1991 para promover las actividades de investigación, control de calidad y desarrollo tecnológico de interés para las entidades vinculadas a la biotecnología con las que colabora. INBIOTEC inició su andadura bajo la dirección del Prof. Juan Francisco Martín, catedrático de Microbiología de la Universidad de León (ULE), quien, tras su jubilación, cedió el testigo en 2011 al Prof. Elías F. Rodríguez Ferri (Catedrático de Sanidad Animal de la ULE) en la dirección gerente y al Prof. Rafael Balaña Fouce (Catedrático de Toxicología de la ULE) en la dirección científica. Posteriormente, en 2016, la dirección del Instituto recayó en el Dr. Carlos Barreiro (Investigador de INBIOTEC).

El Instituto de Toxicología de Castilla y León (INTOXCAL) nació en 1995, estrechamente ligado a la actividad industrial de León y al mundo de la ciencia. En el año 2010, se unió a INBIOTEC para crear juntos un centro de referencia tecnológica en León, donde, actualmente, constituye el área de Analítica de INBIOTEC.

Tradicionalmente, INBIOTEC se ha dedicado al estudio de todos los aspectos relacionados con la obtención de metabolitos microbianos de interés industrial en el área farmacéutica, agroalimentaria o medioambiental. Esto incluye la selección de cepas productoras, la mejora de condiciones de cultivo, el estudio de la regulación metabólica, análisis ómicos, el escalado a nivel semi-industrial y la purificación de los compuestos de interés. Así,

su participación en contratos directos con empresas, los servicios analíticos a terceros y el desarrollo de proyectos competitivos a nivel europeo, nacional y regional utilizando hongos, levaduras y bacterias, principalmente actinobacterias, le han permitido solicitar más de 15 patentes y realizar más de 400 publicaciones científicas en sus 25 años de existencia.

Algunas de las principales líneas de investigación se detallan a continuación:

PRODUCCIÓN DE ESTEROIDES MEDIANTE MICOBACTERIAS

Los compuestos esteroideos de uso clínico presentan 300 formulaciones y generan



Análisis de microorganismos degradadores de madera

unos beneficios anuales superiores a los 6000 millones de dólares. Sin embargo, tras más de 40 años de bioconversiones microbianas siguen existiendo problemas en la producción de esteroides de origen microbiano: i) baja solubilidad de los precursores; ii) inhibición por producto final; iii) producción de esteroides no deseados. INBIOTEC, en colaboración con Gadea Biopharma (AMRI), está abordando varios de estos problemas ayudado por técnicas ómicas, lo que ha facilitado el descubrimiento de dianas génicas que incrementan la producción de los esteroides deseados, la eliminación de productos colaterales y el aumento de la resistencia frente a los productos finales.

CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM: MÁS QUE AMINOÁCIDOS

El estudio de diferentes aspectos de las corinebacterias es una de las líneas más tradicionales y consolidadas del Instituto, además de una de las más internacionales. Así, varios proyectos europeos centrados en la regulación del metabolismo, la obtención de nuevos aminoácidos (valina, aspártico), vitaminas (ácido pantoténico), aminas biogénicas (cadaverina), ácidos dicarboxílicos (málico, succínico), selección de biotipos o la solución de las inhomogeneidades producidas en grandes fermentadores han sido desarrollados por el personal de INBIOTEC.

METABOLITOS SECUNDARIOS DE ORIGEN FÚNGICO

Una de las líneas de investigación que se ha mantenido activa desde los comienzos de INBIOTEC está relacionada con el estudio, en hongos filamentosos (*Penicillium chrysogenum*, *Acremonium chrysogenum*), de los genes que participan en la biosíntesis, regulación y transporte tanto de antibióticos beta-lactámicos (penicilina y cefalosporina), como de sus intermediarios. Recientemente, este grupo se ha centrado en la caracterización mediante técnicas ómicas del incremento de los títulos de penicilina en cepas de alta producción. Los resultados obtenidos por "ingeniería reversa" permiten crear microorganismos a la carta, mediante ingeniería genética, modificados únicamente en aspectos relacionados con la productividad. Asimismo, desde hace unos años, en INBIOTEC se está llevando a cabo la caracterización molecular de la ruta de biosíntesis de diversas micotoxinas, tales como la roquefortina, la meleagrina o la toxina PR.

BIOSÍNTESIS Y REGULACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE STREPTOMYCES

La biosíntesis y regulación de metabolitos secundarios producidos por cepas de *Streptomyces* (cefamicina C; ácido clavulánico; pimaricina; avermectina; tacrolimus) es una de las líneas clásicas del Instituto. Así, gracias

a las técnicas de transcriptómica y proteómica combinadas con ensayos de unión proteína-ADN y análisis bioinformático, se ha completado el modelo de la regulación por fosfato dependiente de PhoP en *S. coelicolor*, el cual se ha ido extendiendo a otras especies de interés industrial. Las últimas investigaciones se centran en la detección de ARN pequeños implicados en la regulación por fosfato y del metabolismo secundario. Por otra parte, la activación de agrupaciones génicas crípticas y el incremento de la producción de metabolitos de interés industrial en *Streptomyces tsukubaensis* es una fuerte apuesta del centro, que comenzó por la secuenciación de su genoma. Actualmente, el objetivo es mejorar la producción del inmunosupresor tacrolimus, mediante la modificación de su ruta de biosíntesis, y conseguir cepas productoras de análogos con distintas actividades farmacológicas.

PRODUCCIÓN DE CAROTENOIDES

INBIOTEC se ha ocupado de mejorar la producción del carotenoide astaxantina con el hongo levaduriforme *Xanthophyllomyces dendrorhous*. Este es el principal carotenoide usado a nivel mundial en acuicultura, farmacia y nutracéutica. Así, INBIOTEC ha llevado a cabo estudios sobre la biosíntesis de astaxantina con el fin de obtener cepas sobreproductoras de este compuesto, mejorando los medios de cultivo y los parámetros físicos-químicos de la fermentación.

TÉCNICAS ÓMICAS

Para analizar la expresión génica en diferentes rutas biosintéticas de interés industrial, INBIOTEC ha venido desarrollando estudios en genómica, transcriptómica y proteómica, tanto como servicio a terceros como para su propia investigación o en colaboración con otros grupos. Así, mediante el ensamblaje de lecturas de secuenciación, la anotación funcional de genes y la comparación con otros genomas relacionados, se han publicado los genomas de *P. chrysogenum*, *Mycobacterium neoaurum* y *S. tsukubaensis*. Bajo la modalidad RNA-seq se realizan análisis transcriptómicos (organización de transcritos, inicios de transcripción) que han revelado un elevado número de ARN de pequeño tamaño, de entre 50-300 nt, en genomas de actinobacterias.

Alternativamente, los *microarrays* se utilizan para estudios de expresión diferencial en series temporales o de comparación entre condiciones para eucariotas superiores (ratón) y procariotas (*Streptomyces*, *C. glutamicum*).

El análisis proteómico diferencial mediante electroforesis bidimensional (2D-DIGE) acoplado a técnicas de espectrometría de masas ha sido utilizado en INBIOTEC para el estudio de diferentes sub-proteomas en hongos (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Diplodia*), eucariotas superiores (ovejas) y bacterias (*Streptomyces*, *C. glutamicum*), permitiendo en algunos casos hacer ingeniería inversa de cepas de alta producción o mostrar procesamiento post-transcripcionales no detectables mediante otras ómicas.

ANÁLISIS TOXICOLÓGICOS Y SEGURIDAD BIOLÓGICA DE COMPUESTOS

En el área de Analítica se realizan actividades con una doble vertiente: por un lado, soporte en proyectos de investigación propios, y por otro, de servicio a empresas. Dicho soporte incluye el desarrollo y validación de métodos analíticos, ensayos de seguridad, inmunogenicidad y potencia en vacunas, ensayos de estimulación de la inmunidad inespecífica, estudios de residuos de medicamentos en tejidos, estudios de ecotoxicidad, etc. Asimismo, se han desarrollado modelos *in vivo* (modelos animales) e *in vitro* (cultivos celulares) como complemento a la investigación en microbiología y biología molecular, para evaluar la eficacia y seguridad de tratamientos farmacológicos, nuevos alimentos o nuevos compuestos para la protección medioambiental.

NUEVAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

INBIOTEC se ha adaptado a las nuevas tendencias en Biotecnología: biorrefinería, biocontrol, seguridad alimentaria. Dentro del concepto de biorrefinería se trabaja en el descubrimiento y caracterización de enzimas fúngicas con actividad feruloil esterasa o el desarrollo de procesos para el aprovechamiento de la paja de maíz con actinobacterias. En biocontrol, INBIOTEC ha participado en la búsqueda de nuevos recubrimientos

para combatir la corrosión metálica; en la obtención de pesticidas de origen biológico; en la protección de la madera para evitar su degradación, tanto “viva” (biocontrol de enfermedades), como “muerta” (protegiendo la madera presente en estructuras). Finalmente, INBIOTEC, dentro de las nuevas áreas de expansión, también participa activamente en proyectos con empresas relacionados con la caracterización, a nivel de seguridad y eficacia, de ingredientes destinados a formar parte de alimentos, así como con la evaluación de la funcionalidad de bacterias ácido-lácticas en su papel como probióticos.

REFERENCIAS

- Álvarez-Álvarez R, Rodríguez-García A, Martínez-Burgo Y, Robles-Reglero V, Santamarta I, Pérez-Redondo R, Martín J F y Liras P. (2014). A 18-Mb-reduced *Streptomyces clavuligerus* genome: relevance for secondary metabolism and differentiation. *Appl Microbiol Biotechnol* 98: 2183-95.
- Barreiro C. (editor) (2015). *New trends in Corynebacterium glutamicum: beyond the amino acids*. Nova Science Publishers, Inc, New York.
- Barreiro C, Martínez-Castro M. (2014). Trends in the biosynthesis and production of the immunosuppressant tacrolimus (FK506). *Applied Microbiology and Biotechnology*. 98(2):497-507.
- Barreiro C, Morales A, Vázquez-Iglesias I, Sola-Landa A. (2017). Intra- and extra-cellular proteome analyses of steroid-producer *Mycobacteria*. En: *Microbial Steroids: Methods and Protocols*. Editores: José Luis Barredo e Ignacio Herráiz. Editorial: Springer Science + Bussines Media (New York).
- Barreiro C, Prieto C, Sola-Landa A, Solera E, Martínez-Castro M, Pérez-Redondo R, García-Estrada C, Aparicio JF, Fernández-Martínez LT, Santos-Aberturas J, Salehi-Najafabadi Z, Rodríguez-García A, Tauch A y Martín JF. (2012). Draft genome of *Streptomyces tsukubaensis* NRRL 18488 the producer of the clinically important immunosuppressant tacrolimus (FK506). *J Bacteriol* 194: 3756-57.
- Dominguez-Santos R, Kosalková K, García-Estrada C, Barreiro C, Ibáñez A, Morales A, Martín JF. (2017). Casein phosphopeptides and CaCl₂ increase penicillin production and cause an increment in microbody/peroxisome proteins in *Penicillium chrysogenum*. *J Proteomics*.156: 52-62.
- García-Estrada C, Barreiro C, Jami MS, Martín-González J, Martín JF. (2013). The inducers 1,3-diaminopropane and spermidine cause the reprogramming of metabolism in *Penicillium chrysogenum*, leading to multiple vesicles and penicillin overproduction. *J Proteomics*. 85:129-59.
- García-Estrada C, Kosalková K, Sánchez-Orejas IC. (2018). Extraction and analysis of carotenes and xanthophylls produced by *Xanthophyllomyces dendrorhous*. In: *Microbial Carotenoids: Methods and Protocols* (Barreiro C. and Barredo J.L. eds). En prensa.
- García-Estrada C, Martín JF. (2016). Biosynthetic gene clusters for relevant secondary metabolites produced by *Penicillium roqueforti* in blue cheeses. *Appl Microbiol Biotechnol*. 19: 8303-13.
- Jami MS, Barreiro C, García-Estrada C, Martín JF. (2010). Proteome analysis of the penicillin producer *Penicillium chrysogenum*: characterization of protein changes during the industrial strain improvement. *Mol Cell Proteomics*. 2010 9:1182-9.
- Jami MS, García-Estrada C, Barreiro C, Cuadrado AA, Salehi-Najafabadi Z y Martín JF. (2010). The *Penicillium chrysogenum* extracellular proteome. Conversion from a food-rotting strain to a versatile cell factory for white biotechnology. *Mol Cell Proteomics* 9: 2729-44.
- Martínez-Burgo Y, Álvarez-Álvarez R, Rodríguez-García A y Liras P. (2015). The pathway-specific regulator ClaR of *Streptomyces clavuligerus* has a global effect on the expression of genes for secondary metabolism and differentiation. *Appl Environ Microbiol* 81: 6637-48.
- Martín JF, Rodríguez-García A y Liras P. (2017). The master regulator PhoP coordinates phosphate and nitrogen metabolism respiration cell differentiation and antibiotic biosynthesis: comparison in *Streptomyces coelicolor* and *Streptomyces avermitilis*. *J Antibiot*. 70(5): 534-541.
- Pérez-García F, Vasco-Cárdenas MF, Barreiro C. (2016) Biotypes analysis of *Corynebacterium glutamicum* growing in dicarboxylic acids demonstrates the existence of industrially-relevant intra-species variations. *J Proteomics* 146: 172-183.
- Pérez-Redondo R, Rodríguez-García A, Botas A, Santamarta I, Martín JF y Liras P. (2012). ArgR of *Streptomyces coelicolor* is a versatile regulator. *PLoS One* 7: e32697.
- Rodríguez-García A, Fernández-Alegre E, Morales A, Sola-Landa A, Lorraine J, Macdonald S, Dobnyá D, Smith MCM, Donova M y Barreiro C. (2016). Complete genome sequence of '*Mycobacterium neoaurum*' NRRL B-3805 an androstenedione (AD) producer for industrial biotransformation of steroids. *J Biotechnol* 224: 64-5.
- Salehi-Najafabadi Z, Barreiro C, Martínez-Castro M, Solera E, Martín JF. (2011). Characterization of a gamma-Butyrolactone Receptor of *Streptomyces tacrolimus*: Effect on sporulation and tacrolimus biosynthesis. *Appl Microbiol Biotechnol*. 92(5): 971-984.
- Sola-Landa A, Rodríguez-García A, Amin R, Wohlleben W y Martín JF. (2013). Competition between the GlnR and PhoP regulators for the *glnA* and *amtB* promoters in *Streptomyces coelicolor*. *Nucleic Acids Res* 41: 1767-82.
- Thomas L, Hodgson DA, Wentzel A, Nieselt K, Ellingsen TE, Moore J, Morrissey ER, Legaie R, STREAM Consortium, Wohlleben W, Rodríguez-García A, Martín JF, Burroughs NJ, Wellington EMH y Smith MCM. (2012). Metabolic switches and adaptations deduced from the proteomes of *Streptomyces coelicolor* wild type and *phoP* mutant grown in batch culture. *Mol Cell Proteomics* 11: M111013797.
- Vasco-Cárdenas MF, Baños S, Ramos, Martín JF, Barreiro C. (2013). Proteome response of *Corynebacterium glutamicum* to high concentration of industrially relevant C4 and C5 dicarboxylic acids. *J Proteomics* 85: 65-88.

Grupo de la unidad de biocarburantes del CIEMAT

Mercedes Ballesteros



Jefe de la Unidad de Biocarburantes. División de Energías Renovables-Departamento de Energía CIEMAT



MIEMBROS DEL GRUPO DE LA UNIDAD DE BIOCARBURANTES DEL CIEMAT

1ª Fila (izqda. a dcha.): José Manuel Illana, Mercedes Ballesteros.

2ª Fila (izqda. a dcha.): Isabel Higuera, Cristina Álvarez, Aranzazu Amoraga, Ana Isabel Susmozas, Aleta Duque, Paloma Manzanares, Felicia Sáez, Alberto González, M^a José Negro.

3ª fila (izqda. a dcha.): David Moreno, José Miguel Oliva, Miguel Moya, Ignacio Ballesteros, José Luis Fernández, Miguel Criado, José María Martínez.

El Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas es un Organismo Público de Investigación adscrito al Ministerio de Economía, Industria y Competitividad a través de la Secretaría de Estado de Investigación, Desarrollo e Investigación, focalizado principalmente en los ámbitos de la energía y el medio ambiente. La Unidad de Biocarburantes, que desarrolla su actividad dentro de la División de Energías Renovables, tiene como objetivo científico la generación de conocimiento, procesos y tecnologías para la conversión de la biomasa lignocelulósica en bioetanol y otros productos de alto valor añadido, de manera eficiente y en condiciones transferibles a la industria.

Desde hace unas décadas la biomasa vegetal ha sido objeto de especial atención como materia prima para la producción de combustibles alternativos para el transporte ante la situación de dependencia casi exclusiva del petróleo en este sector. Los biocombustibles líquidos o biocarburantes se perfilan en el corto-medio plazo como la única alternativa renovable para la sustitu-

ción directa del petróleo como combustible de automoción, pero la falta de cultivos específicos seleccionados para fines energéticos, ha hecho que la industria actual de los biocarburantes se base en la utilización de cultivos tradicionales producidos principalmente para el sector alimentario. Debido a la competencia entre el sector alimentario y el energético para el abastecimiento de las materias primas, cada vez existe un mayor consenso en reconocer que los actuales biocarburantes son una energía de transición que únicamente podrá sustituir una pequeña parte de los derivados del petróleo.

Con el objetivo de aportar soluciones ante esta situación, la Unidad de Biocarburantes desde comienzos de los 90, viene investigando en el desarrollo de nuevos procesos avanzados para la obtención de etanol a partir materias primas que no estén en competencia directa con los mercados alimentarios. En este contexto, la utilización de biomasa lignocelulósica es la opción más prometedora ya que una gran parte de los materiales con alto contenido en celulosa se generan como

residuos en los procesos productivos de los sectores agrícola, forestal e industrial.

El proceso de obtención de azúcares fermentables a partir de biomasa lignocelulósica es, debido a la estructura de sus polímeros, más difícil que a partir de sacarosa o almidón. Así, aunque el coste de la biomasa lignocelulósica es menor, la dificultad del proceso de extracción de los azúcares y su posterior transformación a etanol, ha hecho que históricamente no haya sido atractivo para la industria. Por ello estamos trabajando en el estudio de las distintas etapas del bioproceso de obtención de etanol de lignocelulosa (pretratamiento, hidrólisis enzimática y fermentación) utilizando catalizadores biológicos.

La fase de pretratamiento tiene como objetivo aumentar la accesibilidad de la celulosa al ataque enzimático, permitiendo obtener altos rendimientos de hidrólisis que son vitales para la competitividad económica del proceso. Los pretratamientos hidrotérmicos son actualmente los métodos más efectivos para mejorar la sacarificación enzimática de la biomasa ligno-

celulósica ya que hidrolizan la mayor parte de la hemicelulosa, incrementan notablemente la hidrólisis de la celulosa. Durante los últimos 15 años hemos trabajado en el desarrollo de procesos hidrotérmicos autocatalizados, específicamente en el pretratamiento denominado explosión por vapor, que combina los efectos sobre el material lignocelulósico de vapor de agua a altas presiones (40 kg/cm² o superiores) y temperaturas (200-220 °C) junto con una brusca descompresión posterior. Durante estos años nos hemos centrado en el estudio de los factores que afectan al proceso, con el objetivo de establecer las condiciones óptimas de operación que conduzcan a altos rendimientos de hidrólisis enzimática, baja degradación de azúcares hemicelulósicos y baja producción de sustancias tóxicas. El proceso de producción de etanol utilizando explosión por vapor desarrollado está patentado.

En los últimos años, estamos desarrollando procesos de pretratamiento avanzados realizados en condiciones más moderadas de temperatura. Nuestro objetivo es separar eficientemente los componentes de la biomasa lignocelulósica, no degradar la fracción de carbohidratos y reducir la generación de inhibidores. En este contexto, en el año 2010 iniciamos una nueva línea de investigación en colaboración, en la que estamos desarrollando un nuevo pretratamiento, denominado bioextrusión (patentado) que reduce la generación de compuestos inhibidores y permite la integración del pretratamiento y la hidrólisis en una única etapa.

La siguiente etapa del proceso de obtención de etanol de lignocelulosa es la hidrólisis de los carbohidratos contenidos en la biomasa pretratada. Es una de las etapas limitantes del proceso, principalmente por causa del precio de las enzimas y lo lentas que transcurren las reacciones. Durante los últimos años hemos estudiado el proceso de hidrólisis enzimática de la lignocelulosa en las condiciones de proceso que requiere la industria. Nuestro grupo fue uno de los primeros que demostró que la presencia de actividades accesorias en los cócteles celulolíticos es esencial para mejorar la eficiencia del proceso.

El estudio de la etapa fermentación a etanol de los azúcares hemicelulósicos y celulósicos obtenidos, es otro de los objetivos científicos de la Unidad de Biocarburante, ya que su mejo-

ra puede reducir significativamente los costes del proceso global. Es necesario aumentar la robustez de los microorganismos fermentativos para que puedan desarrollarse en las difíciles condiciones que suponen los hidrolizados de la biomasa lignocelulósica. Estamos trabajando para aumentar, mediante ingeniería evolutiva, la resistencia a los microorganismos a los inhibidores y al estrés que supone trabajar a altas cargas de sustrato. Una de nuestras actividades futuras se enmarca en el estudio de las variaciones genéticas que confieren resistencia a los microorganismos fermentativos. Esta es una nueva línea de investigación que he iniciado en el año 2011 en el marco de la Unidad Mixta CIEMAT-IMDEA Energía. En este mismo marco estamos investigando la producción de biocombustibles a partir de microorganismos fotosintéticos como las microalgas. La Unidad Mixta se creó con el objetivo de fortalecer la actividad que llevan a cabo las dos instituciones, aprovechando la complementariedad de su personal e instalaciones y creando sinergias que permitan enfrentar los desafíos científicos y tecnológicos en las aplicaciones futuras de la biomasa.

El trabajo desarrollado en estos años ha posicionado a la Unidad de Biocarburantes del CIEMAT como el laboratorio español de referencia en la producción de biocombustibles a partir de la biomasa lignocelulósica y uno de los grupos más reputados en este campo a nivel europeo, como queda acreditado por la larga lista de publicaciones en revistas científicas indexadas en el área de la energía y la biotecnología y la amplia participación en proyectos competitivos nacionales y europeos. Hemos evaluado las etapas del proceso individualmente y determinado para cada una de ellas las condiciones óptimas de operación, pero al mismo tiempo hemos enfocado nuestra investigación hacia la integración de las diferentes etapas del proceso, con el objetivo de evaluar la viabilidad técnico-económica de la tecnología abarcando desde el manejo de la materia prima hasta la obtención del producto final. Este reconocimiento se tradujo en la firma de un convenio con la empresa IMECAL, S.A. para desarrollar conjuntamente un proceso para la obtención de etanol a partir de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos. Fruto de esta colaboración se ha patentado el proceso y construido una planta de demostración de 25 t/día en la que se ha verificado la factibilidad

técnica y económica de la tecnología. Este es un buen ejemplo de la actividad del CIEMAT en la transferencia de tecnología al industrial.

Las tecnologías actuales de utilización de la biomasa para generar biocarburantes irán evolucionando hacia tecnologías más avanzadas que permitan obtener, a partir de la biomasa, una variedad de combustibles, productos químicos y energía estableciéndose el concepto de biorrefinería; es decir, el desarrollo de una química sustitutiva de la química "convencional" aprovechando recursos renovables y procesos poco contaminantes. En los últimos años, la Unidad de Biocarburantes del CIEMAT, se ha posicionado como un referente en el área de las biorrefinerías

Para finalizar quisiera resaltar que la I+D+i son las herramientas básicas y necesarias para lograr una transición desde una sociedad basada en los combustibles fósiles a otra de tipo biológico, en lo que ha venido a denominarse "bioeconomía"; es decir, una economía más innovadora y con bajas emisiones, que concilie las demandas de gestión sostenible de la producción de alimentos y la utilización sostenible de los recursos biológicos renovables para fines industriales, garantizando al mismo tiempo la biodiversidad y la protección del medio ambiente.

BIBLIOGRAFÍA MÁS RECIENTE

- Álvarez C, González A, Negro MJ, Ballesteros I, Oliva JM y Sáez S.** (2017). Optimized use of hemicellulose within a biorefinery for processing high value-added xylooligosaccharides. *Ind Crops Prod* 99: 41-48.
- Duque A, Manzanares P, Ballesteros I y Ballesteros M.** (2016). Steam explosion as lignocellulosic biomass pretreatment. In: *Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefinery*. Ed: Mussato SI Published by Elsevier.
- Moreno AD, Ibarra D, Alvira P, Tomás-Pejó E y Ballesteros M.** (2016). Exploring laccase and mediators behavior during saccharification and fermentation of steam-exploded wheat straw for bioethanol production. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 91: 1816-1825.
- Duque A, Manzanares P, Ballesteros I, Negro MJ, Oliva JM, González A y Ballesteros M.** (2014). Sugar production from barley straw biomass pretreated by combined alkali and enzymatic extrusion. *Bioresour Technol* 158: 262-268.
- Romero-García JM, Niño L, Martínez-Patiño C, Álvarez C, Castro E y Negro MJ.** (2014). Biorefinery based on olive biomass. State of the art and future trends. *Bioresour Technol* 159: 421-432.

Biotecnología para la utilización de la biomasa lignocelulósica

Alicia Prieto, Susana Camarero, F. Javier Ruiz-Dueñas, Ángel Martínez y M^a Jesús Martínez

 aliprieto@cib.csic.es
susanacam@cib.csic.es

Grupo de Biotecnología para la Biomasa Lignocelulósica. Centro de Investigaciones Biológicas, Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid



Integrantes del Grupo de Biotecnología para la Biomasa Lignocelulósica

Nuestro grupo de investigación, coordinado por los Dres. Ángel T. Martínez y M^a Jesús Martínez, está integrado en el Departamento de Biología Medioambiental y en la Unidad IPSBB (*Integrated Protein Science for Biomedicine and Biotechnology*) del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) de Madrid, uno de los centros pluridisciplinares de mayor tradición en el área de Biología en España. El principal objetivo de nuestro trabajo es aplicar microorganismos, principalmente hongos filamentosos, y sus enzimas extracelulares, en procesos industriales destinados a la obtención de combustibles, materiales y productos químicos a partir de recursos vegetales renovables, tratando de contribuir al desarrollo sostenible de nuestra sociedad.

Estas actividades se concretan en varios proyectos de investigación, estructurados en torno a dos grandes líneas que abordan la bioconversión de distintos componentes de la biomasa vegetal. Los componentes de la pared celular sobre los que trabajamos, por

ser muy abundantes en la naturaleza, son los polisacáridos (celulosa y hemicelulosa) y la lignina. Los primeros son transformados gracias a la acción concertada de varias glicosil hidrolasas (principalmente endoglucanasas, endoxilanasas y β -gluco y xilosidasas, junto con LPMOs –*lytic polysaccharide monoxygenases*-), mientras que la degradación del polímero de lignina se lleva a cabo gracias a la intervención de un complejo sistema enzimático extracelular en el que las oxidoreductasas ligninolíticas (principalmente peroxidasas y lacasas) y otras enzimas auxiliares (GMC oxidasas/deshidrogenasas) juegan un papel fundamental. Los lípidos son otros de los componentes importantes en muchos residuos urbanos e industriales procedentes de biomasa vegetal y también pueden ser modificados y valorizados mediante el empleo de lipasas y esteroles.

Por todo ello, el estudio de nuevas enzimas, su caracterización estructural-funcional, y la mejora de las propiedades de las ya cono-

cidas mediante diseño racional o evolución dirigida, con el fin de obtener compuestos químicos de base y compuestos de valor añadido que contribuyan a la valorización de la lignocelulosa y de otros residuos vegetales, es un tema de plena actualidad. Los Dres. A.T. Martínez y F.J. Ruiz-Dueñas son expertos en el campo de las peroxidasas y GMC oxidasas fúngicas (1, 2), la Dra. S. Camarero en oxidasas multicobre y mediadores redox (3, 4) y las Dras. M.J. Martínez y A. Prieto en glicosil hidrolasas y lipasas (5, 6).

Nuestro trabajo comienza con la búsqueda de enzimas en fuentes naturales o en genomas fúngicos (7-9). Cabe destacar la implicación del grupo en proyectos del *Joint Genome Institute* para la anotación de estas enzimas en genomas fúngicos recientemente secuenciados. La producción de las enzimas de interés se lleva a cabo tanto utilizando el organismo que las produce de forma natural como sistemas de expresión heteróloga, procariontes (*Escherichia coli*) y/o eucariotas



Figura 1.

Estrategias de trabajo realizadas en los laboratorios del grupo de Biotecnología para la Biomasa Lignocelulósica, CIB-CSIC, para el desarrollo de nuevos biocatalizadores de reacciones de interés industrial y medioambiental.

(*Saccharomyces cerevisiae* y *Pichia pastoris*). Esta última aproximación facilita la caracterización bioquímica, físico-química y molecular de enzimas existentes o incluso de enzimas ancestrales reconstruidas (10, 11), y permite su mejora por diseño racional y/o evolución dirigida (12-16) (Figura 1). El fin último es entender los mecanismos de la biodegradación de la lignocelulosa para un mejor aprovechamiento de la biomasa vegetal (17-20) y obtener biocatalizadores aplicables en procesos biotecnológicos de interés industrial y medioambiental (21-24). Estas investigaciones se realizan en el ámbito de proyectos nacionales (MINECO), internacionales (H2020 como EnzOx2, www.enzox2.eu) y proyectos con empresas (Retos colaboración, MINECO). Además participamos en diferentes Redes Nacionales, como la Red Lignocel, coordinada por el grupo, cuya temática es la búsqueda y aplicación de soluciones menos contaminantes y más sostenibles para el aprovechamiento de recursos agroforestales como materia prima renovable.

Nuestro equipo colabora con investigadores de diferentes centros, universidades y empresas, tanto nacionales como internacionales y la información detallada de los proyectos en curso puede encontrarse en su página web (<https://www.cib.csic.es/es/departamentos/biologia-medioambiental/biotecnologia-para-la-biomasa-lignocelulosica>).

BIBLIOGRAFÍA

- Ruiz-Dueñas FJ, Morales M, García E, Miki Y, Martínez MJ y Martínez AT (2009). Substrate oxidation sites in versatile peroxidase and other basidiomycete peroxidases. *J Exp Bot* 60:441-52.
- Carro J, Serrano A, Ferreira P y Martínez AT (2016). Fungal aryl-alcohol oxidase in lignocellulose degradation and bioconversion. In *Microbial enzymes in bioconversions of biomass*. *Biofuel and Biorefinery Technologies* 3: 301-22.
- Cañas AI y Camarero S (2010). Laccases and their natural mediators: Biotechnological tools for sustainable eco-friendly processes. *Biotechnology Advances* 28: 694-705.
- Pardo I y Camarero S (2015). Laccase engineering by rational and evolutionary design. *Cell Mol Life Sci* 72:897-910.
- Vaquero ME, Barriuso J, Prieto A y Martínez MJ (2016). Properties, structure, and applications of microbial sterol esterases. *Appl Microbiol Biotechnol* 100: 2047-61.
- Barriuso J, Vaquero ME, Prieto A y Martínez MJ (2016). Structural traits and catalytic versatility of the lipases from the *Candida rugosa*-like family: A review. *Biotechnol Adv* 34: 874-85.
- Barriuso J, Prieto A y Martínez MJ (2013). Fungal genomes mining to discover novel sterol esterases and lipases as catalysts. *BMC Genomics* 14:712-20.
- Ruiz-Dueñas FJ, Lundell T, Floudas D, Nagy LG, Barrasa JM, Hibbett DS y Martínez AT (2013). Lignin-degrading peroxidases in Polyporales: an evolutionary survey based on 10 sequenced genomes. *Mycologia*, 105: 1428-44.
- Ferreira P, Carro J, Serrano A y Martínez AT (2015). A survey of genes encoding H₂O₂-producing GMC oxidoreductases in 10 Polyporales genomes. *Mycologia* 107:1105-19.
- Ayuso-Fernández I, Martínez AT y Ruiz-Dueñas FJ (2017). Experimental recreation of the evolution of lignin-degrading enzymes from the Jurassic to date. *Biotechnol Biofuels* 10: 67.
- Barriuso J y Martínez MJ (2017). Evolutionary history of versatile-lipases from *Agaricales* through reconstruction of ancestral structures. *BMC Genomics* 18:12.
- Acebes S, Fernandez-Fueyo E, Monza E, Lucas F, Almendral D, Ruiz-Dueñas FJ, Lund H, Martínez AT y Guallar V (2016). Rational enzyme engineering through biophysical and biochemical modeling. *ACS-Catalysis* 6: 1624-9.
- Linde D, Cañellas M, Coscolín C, Davó-Siguero I, Romero A, Lucas F, Ruiz-Dueñas FJ, Guallar V y Martínez AT (2016). Asymmetric sulfoxidation by engineering the heme pocket of a dye-decolorizing peroxidase: An experimental and computational study. *Catal Sci Technol* 6: 6277-85.
- Pardo I, Santiago G, Gentili P, Lucas F, Monza E, Medrano FJ, Galli C, Martínez AT, Guallar V y Camarero S (2016). Re-designing the substrate binding pocket of laccase for enhanced oxidation of sinapic acid. *Catal Sci Technol* 6:3900-10.
- Santiago G, de Salas F, Lucas F, Monza E, Acebes S, Martínez AT, Camarero S y Guallar V (2016). Computer-aided laccase engineering: Toward biological oxidation of arylamines. *ACS-Catalysis* 6: 5415-23.
- Saez-Jimenez V, Rencoret J, Rodríguez-Carvajal MA, Gutiérrez A, Ruiz-Dueñas FJ y Martínez AT (2016). Role of surface tryptophan for peroxidase oxidation of nonphenolic lignin. *Biotechnol Biofuels* 9: 198-211.
- Camarero S, Martínez MJ y Martínez AT (2014). Understanding lignin biodegradation for the improved utilization of plant biomass in modern biorefineries. *Biofuels Bioprod. Bioref.* 8:615-25.
- Fernandez-Fueyo E, Ruiz-Dueñas FJ, López-Lucendo MF, Pérez-Boada M, Rencoret J, Gutiérrez A, Pisabarro AG, Ramírez L, Martínez AT (2016). A secretomic view of woody and nonwoody lignocellulose degradation by *Pleurotus ostreatus*. *Biotechnol Biofuels* 9: 49.
- Martínez AT (2016). How to break down crystalline cellulose. *Science* 352: 1050-1.
- Salvachúa D, Katahira R, Cleveland NS, Khanna P, Resch MG, Black BA, Purvine SO, Zink EM, Prieto A, Martínez MJ, Martínez AT, Simmons BA, Gladden JM y Beckham GT (2016). Lignin depolymerization by fungal secretomes and a microbial sink. *Green Chem* 18: 6046-62.
- Carro J, Ferreira P, Rodríguez L, Prieto A, Serrano A, Balcells B, Ardá A, Jiménez-Barbero J, Gutiérrez A, Ullrich R, Hofrichter M y Martínez AT (2015). 5-Hydroxymethylfurfural conversion by fungal aryl-alcohol oxidase and unspecific peroxidase. *FEBS J.* 282: 3218-29.
- de Salas F, Pardo I, Salavagione HJ, Aza P, Amourgi E, Vind J, Martínez AT y Camarero S (2016). Advanced synthesis of conductive polyaniline using laccase as biocatalyst. *PlosOne* 11:e0164958.
- Nieto-Domínguez M, Prieto A, Fernández de Toro B, Cañada FJ, Barriuso J, Armstrong Z, Withers SG, de Eugenio LI y Martínez MJ (2016). Enzymatic fine-tuning for 2-(6-hydroxyphenyl) β -D-xylopyranoside synthesis catalyzed by the recombinant β -xylosidase BxTW1 from *Talaromyces amestolkiae*. *Microb Cell Fact* 15: 171.
- Molina-Gutiérrez M, Hakalin NLS, Rodríguez-Sánchez L, Prieto A y Martínez MJ (2017). Green synthesis of β -sitosterol esters catalyzed by the versatile lipase/sterol esterase from *Ophiostoma piceae*. *Food Chem* 221:1458-65.

La bacteria marina *Marinomonas mediterranea* como modelo de estudio: de la síntesis de melaninas al análisis de un nuevo sistema CRISPR-Cas

Antonio Sánchez-Amat y Patricia Lucas-Elío



Departamento de Genética y Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de Murcia. Campus de Espinardo. Murcia 30100



Miembros del grupo Biotecnología Microbiana de la UMU: Andrés Andreo Vidal (Estudiante de Máster), Patricia Lucas-Elío (Profesora Titular de Universidad), Antonio Sánchez Amat (IP, Catedrático de Universidad), Alejandra Aroca Crevillén (Estudiante de Grado) e Isabel María García Guillén (Estudiante de Máster).

El grupo de investigación “Biotecnología Microbiana” se creó en la UMU en el año 2004. El objetivo inicial del grupo era profundizar en el estudio de enzimas oxidativas que actúan sobre compuestos fenólicos, aunque, como se comentará más adelante, esta línea inicial se ha ido diversificando y ampliando a lo largo de los años. El grupo ha trabajado con diversos microorganismos modelo, siendo el más relevante de todos ellos *Marinomonas mediterranea*. Esta bacteria marina fue aislada y clasificada por nuestro grupo en un proyecto, en colaboración con el Dr. Francisco Solano del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular B de la UMU, orientado al estudio de la melanogénesis en bacterias.

Las melaninas son pigmentos oscuros sintetizados por polimerización de compuestos fenólicos. Dentro de estos pigmentos, las eumelaninas son sintetizadas mediante la actuación de la enzima tirosinasa, que oxida

la tirosina primero al difenol L-dopa y posteriormente a dopaquinona a partir del cual se genera el pigmento melánico. Son pocos los microorganismos estudiados que expresan tirosinasas, siendo *M. mediterranea* uno de ellos. El estudio de la tirosinasa de *M. mediterranea* permitió determinar que el gen que la codifica forma parte de un operón junto con un segundo gen que codifica una proteína implicada en la transferencia de Cu a la tirosinasa (López-Serrano *et al.*, 2007). Esta proteína constituye un mecanismo novedoso de transferencia de Cu y por tanto es de interés en el estudio de los procesos de homeostasis de este metal. El estudio de tirosinasas sintetizadas por *Ralstonia solanacearum* reveló que esta bacteria sintetiza una enzima que, al contrario de la mayoría de las tirosinasas, muestra una mayor actividad sobre la tirosina que sobre el difenol L-dopa (Hernandez-Romero *et al.*, 2006). Este tipo de enzimas pueden tener aplicación en la síntesis de

compuestos difenólicos. De hecho, el mismo L-dopa es utilizado para el tratamiento del Parkinson.

M. mediterranea sintetiza, además de la polifenol oxidasa tirosinasa, una lacasa que es capaz de oxidar un amplio rango de compuestos fenólicos (Solano *et al.*, 2000). Las lacasas son enzimas que han recibido una gran atención por su interés en procesos biotecnológicos. Las lacasas más estudiadas son las de hongos. Sin embargo, las enzimas bacterianas muestran propiedades diferentes en aspectos como tolerancia salina y a pH alcalino, lo que puede hacerlas interesantes en ciertas aplicaciones (Tonin *et al.*, 2016).

La creciente resistencia microbiana a los antibióticos ha renovado el interés por la investigación de nuevos compuestos con actividad antimicrobiana. Desde los años 70 se conocía que algunas bacterias marinas

se sintetizaban antimicrobianos de alto peso molecular cuya actividad era inhibida por catalasa, pero el mecanismo de actuación era desconocido. El trabajo de nuestro grupo ha contribuido a demostrar que esta actividad antimicrobiana se debe a la síntesis de aminoácido oxidasa que generan, entre otros productos, peróxido de hidrógeno. Un resultado destacado en esta línea de trabajo ha sido la caracterización de LodA, la primera enzima con actividad Lisina ϵ -oxidasa, por lo que recibió un nuevo número EC (EC 1.4.3.20) (Gómez *et al.*, 2006). LodA tiene también el interés de ser la primera aminoácido oxidasa descrita que no posee FAD como cofactor, sino una quinona (CTQ, cisteína triptofilquinona). La síntesis de CTQ tiene lugar mediante un proceso de modificación post-traduccional en el que interviene una segunda enzima (LodB) codificada en el mismo operón que LodA (Gómez *et al.*, 2010, Chacón-Verdú *et al.*, 2015). Esta línea de trabajo encaminada a caracterizar el mecanismo de modificación post-traduccional se mantiene en colaboración con el laboratorio del Dr. Victor Davidson (University of Central Florida, USA).

Estudios recientes de nuestro grupo han revelado que aproximadamente el 1% de los genomas microbianos contienen genes que codifican proteínas similares a LodA que pueden agruparse en varios grupos filogenéticos (Campillo-Brocal *et al.*, 2015). No todas las enzimas de este grupo son lisina oxidasas. De hecho, en la propia *M. mediterranea* un segundo gen de este grupo codifica una glicina oxidasa (Campillo-Brocal *et al.*, 2013). En nuestra opinión, el grupo de proteínas similares a LodA constituye un enorme reservorio de enzimas de potencial interés biotecnológico en las numerosas aplicaciones que tienen las aminoácido oxidasas. Entre estas aplicaciones se incluyen el diseño de biosensores o su uso en biotransformaciones. Desde el punto de vista fisiológico, se ha observado que algunas de estas proteínas juegan un papel importante en el desarrollo de biopelículas microbianas (Mai-Prochnow *et al.*, 2008).

En el desarrollo de las líneas de investigación anteriormente mencionadas, nuestro grupo ha puesto a punto en *M. mediterranea* una gran variedad de técnicas de Biología Molecular que han sido esenciales en el estudio de los sistemas CRISPR-Cas en esta bacteria. Los sistemas CRISPR (Cluste-

red Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)- Cas (CRISPR associated genes) proveen a los procariontes de mecanismos de resistencia adaptativa a la infección por elementos genéticos invasivos. Básicamente, el sistema funciona mediante la adquisición de fragmentos del genoma del elemento invasivo y su integración como "espaciadores" en los *loci* CRISPR. Posteriormente, los espaciadores serán transcritos y procesados en fragmentos de RNA (crRNA) que guiarán a unas nucleasas Cas para la degradación del agente infeccioso original ante una nueva invasión. Los sistemas CRISPR-Cas muestran una enorme diversidad, observándose que algunos de estos sistemas de tipo III-B poseen dominios de retrotranscriptasa asociados a la proteína Cas1 que participa en la adquisición de espaciadores (RT-Cas1). Usando como modelo *M. mediterranea*, el único microorganismo con RT-Cas1 para el que existían técnicas de manipulación genética, la colaboración entre nuestro grupo y el grupo del Dr. Andrew Z. Fire (Stanford University, Premio Nobel de Fisiología o Medicina 2006 por sus estudios de interferencia de RNA) ha puesto de manifiesto por primera vez que la adquisición de espaciadores tiene lugar también a partir de RNA (y no sólo DNA, como se había descrito anteriormente). La proteína RT-Cas1 de *M. mediterranea* lleva a cabo la retrotranscripción de RNA y su integración como nuevo espaciador (Silas *et al.*, 2016). *M. mediterranea* forma parte de la microbiota asociada a la planta marina *Posidonia oceanica*. Mediante el muestreo de estos ambientes en las costas de Cabo de Palos, y otras zonas del mar Mediterráneo, se han aislado nuevas cepas de este microorganismo, así como fagos capaces de infectarlas. Estos datos están permitiendo profundizar en el estudio de los sistemas CRISPR-Cas de *M. mediterranea* ofreciendo resultados muy interesantes en cuanto a su modularidad y a la cooperación entre distintos tipos de sistemas presentes en las cepas aisladas.

REFERENCIAS

- Campillo-Brocal JC, Chacón-Verdú MD, Lucas-Elío P y Sánchez-Amat A** (2015) Distribution in microbial genomes of genes similar to *lodA* and *goxA* which encode a novel family of quinoproteins with amino acid oxidase activity. BMC Genomics 16: 231.
- Campillo-Brocal JC, Lucas-Elío P y Sanchez-Amat A** (2013) Identification in *Marinomonas mediterranea*



Fondos marinos del Mediterráneo con *Posidonia oceanica*, hábitat natural de *Marinomonas mediterranea*.

of a novel quinoprotein with glycine oxidase activity. MicrobiologyOpen 2: 684-694.

Chacón-Verdú MD, Campillo-Brocal JC, Lucas-Elío P, Davidson VL y Sánchez-Amat A (2015) Characterization of recombinant biosynthetic precursors of the cysteine tryptophylquinone cofactors of l-lysine-epsilon-oxidase and glycine oxidase from *Marinomonas mediterranea*. Biochim Biophys Acta 1854: 1123-1131.

Gómez D, Lucas-Elío P, Sanchez-Amat A y Solano F (2006) A novel type of lysine oxidase: L-lysine-epsilon-oxidase. Biochim Biophys Acta 1764: 1577-1585.

Gómez D, Lucas-Elío P, Solano F y Sanchez-Amat A (2010) Both genes in the *Marinomonas mediterranea* *lodAB* operon are required for the expression of the antimicrobial protein lysine oxidase. Mol Microbiol 75: 462-473.

Hernandez-Romero D, Sanchez-Amat A y Solano F (2006) A tyrosinase with an abnormally high tyrosine hydroxylase/dopa oxidase ratio - Role of the seventh histidine and accessibility to the active site. FEBS Journal 273: 257-270.

López-Serrano D, Solano F y Sanchez-Amat A (2007) Involvement of a novel copper chaperone in tyrosinase activity and melanin synthesis in *Marinomonas mediterranea*. Microbiology 153: 2241-2249.

Mai-Prochnow A, Lucas-Elío P, Egan S, Thomas T, Webb JS Sanchez-Amat A y Kjelleberg S (2008) Hydrogen peroxide linked to lysine oxidase activity facilitates biofilm differentiation and dispersal in several gram-negative bacteria. J Bacteriol 190: 5493-5501.

Silas S, Mohr G, Sidote DJ, Markham LM, Sanchez-Amat A, Bhaya D, Lambowitz AM y Fire AZ (2016) Direct CRISPR spacer acquisition from RNA by a natural reverse transcriptase-Cas1 fusion protein. Science 351: aad4234.

Solano F, Lucas-Elío P, Fernández E y Sanchez-Amat A (2000) *Marinomonas mediterranea* MMB-1 transposon mutagenesis: isolation of a multipotent polyphenol oxidase mutant. J Bacteriol 182: 3754-3760.

Tonin F, Melis R, Cordes A, Sanchez-Amat A, Pollegioni L, and Rosini E (2016) Comparison of different microbial laccases as tools for industrial uses. N. Biotechnol 33: 387-398.

Grupo de biosíntesis de compuestos bioactivos por microorganismos (BIOMIC)

José Antonio Salas Fernández y Carmen Méndez Fernández



Universidad de Oviedo



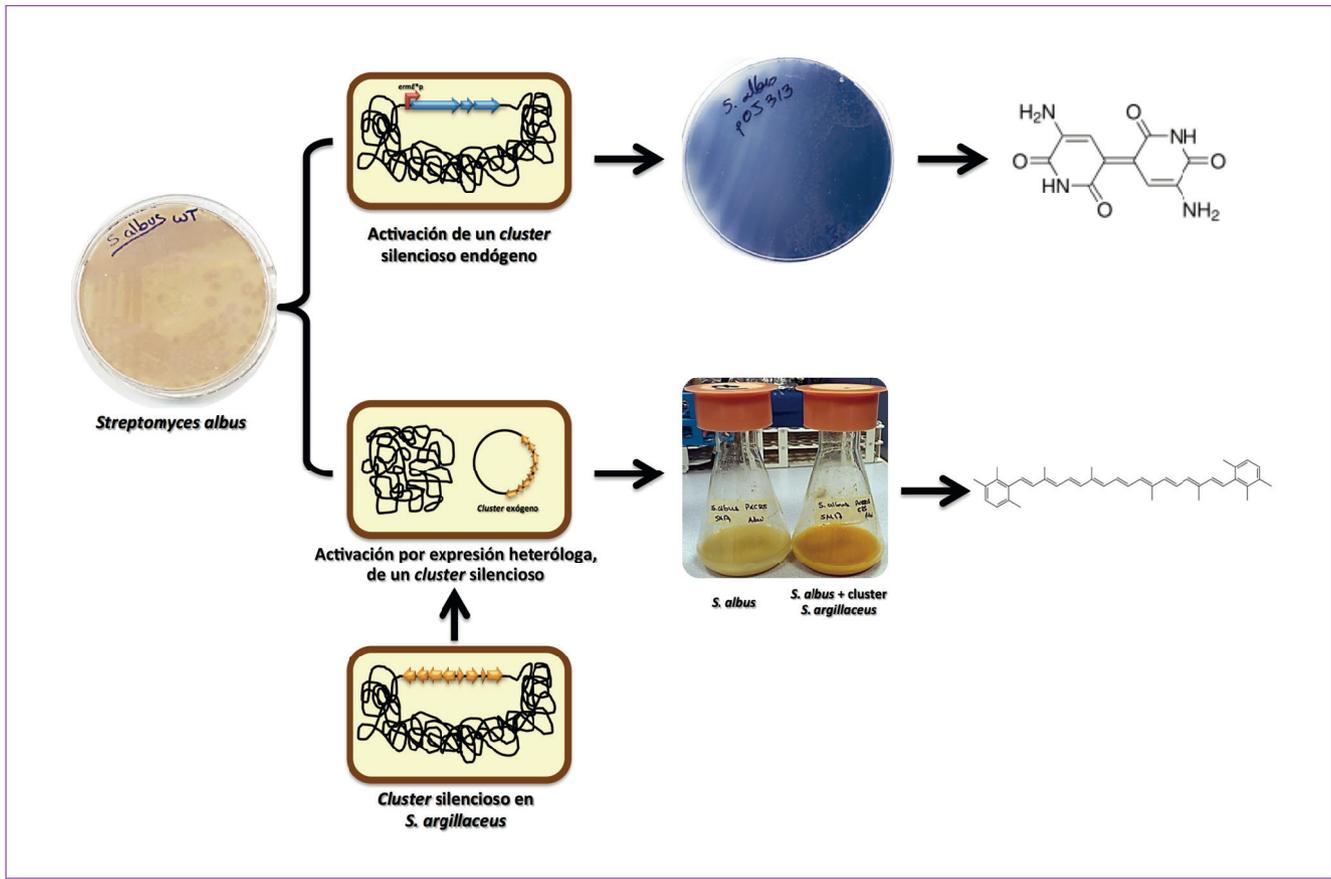
Primera Fila desde la izquierda: Adriana Becerril García, Leire Peña Noval, Suhui Ye Huang, Carmen Méndez Fernández, Mónica Gómez Malmierca, Rubén Álvarez Álvarez, Ana Cenicerros Medrano
Segunda fila desde la izquierda: Ignacio Montero Ordóñez, José Antonio Salas Fernández, Carlos Olano Álvarez, Armando Álvarez Losada, Alma M^a Botas Muñoz, Raúl García Salcedo, Jorge Fernández de la Hoz

El grupo de "Biosíntesis de compuestos bioactivos por microorganismos (BIOMIC)" pertenece al Área de Microbiología del Departamento de Biología Funcional y al Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias (I.U.O.P.A.) de la Universidad de Oviedo. Está ubicado en la Facultad de Medicina y está coordinado por los Catedráticos de Universidad José Antonio Salas Fernández y Carmen Méndez Fernández. Además el Dr. Carlos Olano (Investigador del I.U.O.P.A.), miembro del mismo desde su creación oficial, codirige distintos proyectos de investigación. Otros miembros del grupo en la actualidad son seis investigadores postdoctorales (Raúl

García Salcedo, Mónica Gómez Malmierca, Rubén Álvarez Álvarez, Alma M^a Botas Muñoz, Suhui Ye Huang y Ana Cenicerros Medrano), tres doctorandos (Armando Álvarez Losada, Adriana Becerril García y Jorge Fernández de la Hoz) y una técnico de laboratorio (Leire Peña Noval).

Desde su creación, el grupo está interesado en el estudio de distintos aspectos relacionados con la biosíntesis de compuestos bioactivos en los microorganismos productores. Los compuestos bioactivos son productos naturales que juegan un papel importante en clínica debido a sus múltiples actividades

biológicas tales como antitumorales, antibióticas, antiparásitas, antivirales, inmunosupresores, neuroprotectores, etc. En los últimos veinte años, estos productos naturales y sus derivados (o compuestos inspirados en ellos) han representado cerca del 50% de todos los compuestos bioactivos aprobados para su uso (tanto clínico como en agricultura o veterinaria). Considerando su origen, la mitad de los productos naturales bioactivos han sido obtenidos a partir de microorganismos (bacterias y hongos) y en particular de las actinobacterias filamentosas, especialmente del género *Streptomyces*, que producen el 40% de los compuestos bioactivos de origen microbiano.



Las principales líneas de investigación del grupo son:

- **Aislamiento y caracterización de agrupaciones de genes de biosíntesis de compuestos bioactivos (antibióticos y compuestos antitumorales) producidos por Actinomicetos.**

El grupo posee una amplia experiencia en el aislamiento y caracterización de rutas de biosíntesis de antibióticos y compuestos antitumorales producidos por actinomicetos. Se han aislado y caracterizado totalmente diversas rutas de biosíntesis de compuestos bioactivos pertenecientes a distintas familias de compuestos policetónicos ("polyketides"), como el antibiótico macrólido oleandomicina, el macrólido antiangiogénico borrelidina, los macrólidos antitumorales PM100117 y PM100118, la anguciclina antitumoral oviedomicina, las antraciclinas antitumorales eloramina y estefimicina y los antitumorales del grupo del ácido aureólico mitramici-

na y cromomicina A3. Así mismo se han caracterizado las rutas de biosíntesis de los péptidos-policetónicos estreptolidigina (antibiótico) y colismicina A (neuroprotector), la ruta del antitumoral péptido tiocoralina, la del antibiótico carbapenema tienamicina, la ruta de biosíntesis del antibiótico paulomicina, la de los antitumorales rebecamicina y estaurosporina pertenecientes ambos al grupo de los indolocarbazoles y las de los benzoxazoles con actividad antitumoral nataxazol y caboxamicina. Estos estudios implicaron la identificación de los genes de biosíntesis utilizando distintas estrategias; la inactivación y expresión de los genes, experimentos de bioconversión y ensayos de actividad *in vitro* para determinar la función de cada gen; purificación de los compuestos producidos por los diferentes mutantes y su caracterización química utilizando Espectrometría de Masas (MS) y Resonancia Magnética Nuclear (NMR); y ensayos de actividad biológi-

ca (antibiótica, antifúngica, antitumoral, neuroprotectora e inmunosupresora).

- **Utilización de la "Biosíntesis Combinatoria" para generar nuevos compuestos bioactivos.** La "Biosíntesis Combinatoria" es una estrategia que permite generar nuevos compuestos bioactivos mediante la utilización de técnicas de Ingeniería genética. Así, se pueden crear microorganismos recombinantes con combinaciones de genes de rutas de biosíntesis de compuestos bioactivos no existentes en la naturaleza, que potencialmente pueden dar lugar a la producción de nuevos compuestos. La purificación posterior de estos compuestos, su caracterización química y el ensayo de sus actividades biológicas, así como su toxicidad en ratones, permite determinar la potencialidad de los compuestos para ser patentados y desarrollados posteriormente. Utilizando esta estrategia, el grupo ha generado más de 150 nuevos compuestos derivados de compuestos bioactivos (mitramicina,

cromomicina, eloramycin, estefimicina, rebecamicina, estaurosporina, colismicina, oviedomicina, nataxazol, caboximicina, estreptolidigina, borrelidina), algunos de los cuales poseen mayor bioactividad y/o menor toxicidad que los compuestos originales.

- **Mejora de la producción de compuestos bioactivos por Ingeniería metabólica.** Uno de los posibles problemas en el desarrollo de un nuevo compuesto bioactivo, es que éste se produzca en cantidades suficientes para llevar a cabo distintos tipos de ensayos, como ensayos preclínicos. Uno de los potenciales cuellos de botella que pueden existir es la disponibilidad de los precursores metabólicos a partir de los cuales se sintetiza el compuesto. Aplicando estrategias de Ingeniería metabólica (sobreexpresión y/o inactivación de genes del metabolismo primario) se puede favorecer y/o canalizar los precursores metabólicos de compuestos bioactivos hacia las rutas de biosíntesis de interés. Por otro lado, las rutas de biosíntesis de compuestos bioactivos están sometidas a sistemas de regulación que actúan a distintos niveles, cuyo conocimiento y manipulación permite mejorar los niveles de producción codificados por las mismas. Utilizando estas estrategias hemos podido incrementar la producción de mitramicina, estreptolidigina, colismicina, nataxazol y caboximicina.
- **Aplicación del análisis genómico para activar rutas de biosíntesis “silenciosas” e identificar nuevos compuestos bioactivos.** La secuenciación de genomas de actinomicetos ha puesto de manifiesto que estos contienen agrupaciones de genes para la formación de 10-30 compuestos bioactivos que, por razones desconocidas, o no se expresan o se expresan poco en condiciones de cultivo de laboratorio, lo que implica que gran parte del potencial de estos microorganismos como productores de compuestos bioactivos está por descubrir. En nuestro laboratorio, se está analizando el genoma de diferentes actinomicetos con el fin de identificar agrupaciones de genes de biosíntesis de

compuestos bioactivos desconocidas e inducir su activación (utilizando estrategias de Ingeniería genética) para de esta manera descubrir nuevos compuestos. Con esta tecnología se ha podido descubrir que *S. albus* posee la capacidad de sintetizar varios compuestos bioactivos (indigoidina, antimicinas, alteramidas, candicina) y que *S. argillaceus* puede producir una familia de nuevos compuestos a los que se han denominado argimicinas P.

BIBLIOGRAFÍA

- García I, Vior NM, Braña AF, González-Sabín J, Rohr J, Moris F, Méndez C y Salas JA.** (2012). Elucidating the biosynthetic pathway for the polyketide-nonribosomal peptide collismycin A: mechanism for formation of the 2,2'-bipyridyl ring. *Chem Biol* 19: 399-413.
- Gómez C, Olano C, Palomino-Schätzlein M, Pineda-Lucena A, Carbajo R, Braña AF, Méndez C y Salas JA.** (2012). Novel compounds produced by *Streptomyces lydicus* NRRL 2433 engineered mutants altered in the biosynthesis of streptolydigin. *J Antibiot* 65: 341-348.
- Núñez LE, Nybo SE, Gonzalez-Sabín J, Pérez M, Menéndez N, Braña AF, He M, Moris F, Salas JA, Rohr J y Méndez C.** (2012). A novel mithramycin analogue with high antitumor activity and less toxicity generated by combinatorial biosynthesis. *J Med Chem* 55: 5813-5825.
- Gómez C, Horna DH, Olano C, Méndez C y Salas JA.** (2012). Participation of putative glycoside hydrolases SlgC1 and SlgC2 in the biosynthesis of streptolydigin in *Streptomyces lydicus*. *Microb Biotechnol* 5: 663-667.
- Gómez C, Olano C, Méndez C y Salas JA.** (2012). Three pathway-specific regulators control streptolydigin biosynthesis in *Streptomyces lydicus*. *Microbiology-UK*. 158: 2504-2514.
- García I, Vior NM, González-Sabín J, Braña AF, Rohr J, Moris F, Méndez C y Salas JA.** (2013). Engineering the biosynthesis of the polyketide-nonribosomal peptide collismycin A for generation of analogs with neuroprotective activity. *Chem Biol* 20: 1022-1032.
- Sialer C, García I, González-Sabín J, Braña AF, Méndez C, Moris F y Salas JA.** (2013). Generation by mutasynthesis of potential neuroprotectant derivatives of the bipyridyl collismycin A. *Bioorg Med Chem Lett* 23: 5707-5709.
- Zabala D, Braña AF, Flórez AB, Salas JA y Méndez C.** (2013). Engineering precursor metabolite pools for increasing production of antitumor mithramycins in *Streptomyces argillaceus*. *Metab Eng* 20:187-197.
- Vior NM, Olano C, García I, Méndez C y Salas JA.** (2014). Collismycin A biosynthesis in *Streptomyces* sp. CS40 is regulated by iron levels through two pathway-specific regulators. *Microbiology-UK* 160:467-478.
- Olano C, García I, González A, Rodríguez M, Rozas D, Rubio J, Sánchez-Hidalgo M, Braña AF, Méndez C y Salas JA.** (2014). Activation and identification of five clusters for secondary metabolites in *Streptomyces albus* J1074. *Microb Biotechnol* 7: 242-56.
- Olano C, Cano-Prieto C, Losada AA, Bull AT, Goodfellow M, Fiedler HP, Méndez C y Salas JA.** (2014). Draft genome sequence of marine actinomycete *Streptomyces* sp. strain NTK 937, producer of the benzoxazole antibiotic caboxamycin. *Genome Announc.* 2(4). pii: e00534-14. doi: 10.1128/genomeA.00534-14.
- Flórez AB, Álvarez S, Zabala D, Braña AF, Salas JA y Méndez C.** (2015). Transcriptional regulation of mithramycin biosynthesis in *Streptomyces argillaceus*: dual role as activator and repressor of the PadR-like regulator MtrY. *Microbiology-UK* 161: 271-284.
- Cano-Prieto C, García-Salcedo R, Sánchez-Hidalgo M, Braña AF, Fiedler HP, Méndez C, Salas JA y Olano C.** (2015). Genome mining of *Streptomyces* sp. Tü 6176: characterization of the nataxazole biosynthesis pathway. *Chembiochem* d16: 1461-1473.
- Cano-Prieto C, Losada AA, Braña AF, Méndez C, Salas JA y Olano C.** (2015). Crosstalk of nataxazole pathway with chorismate-derived ionophore biosynthesis pathways in *Streptomyces* sp. Tü 6176. *Chembiochem*. doi: 10.1002/cbic.201500261.
- Méndez C, González-Sabín J, Moris F y Salas JA.** (2015). Expanding the chemical diversity of the antitumor mithramycin by combinatorial biosynthesis and biocatalysis: the quest for mithralogs with improved therapeutic window. *Planta Med* 81(15):1326-38.
- Zabala D, Braña AF, Salas JA y Méndez C.** (2016). Increasing antibiotic production yields by favoring the biosynthesis of precursor metabolites glucose-1-phosphate and/or malonyl-CoA in *Streptomyces* producer strains. *J Antibiot* 69 (3): 179-82. doi:10.1038/ja.2015.104.
- Salcedo RG, Olano C, Gómez C, Fernández R, Braña AF, Méndez C, de la Calle F y Salas JA.** (2016). Characterization and engineering of the biosynthesis gene cluster for antitumor macrolides PM100117 and PM100118 from a marine actinobacteria: generation of a novel improved derivative. *Microb Cell Fact* 15(1): 44. doi: 10.1186/s12934-016-0443-5.
- González A, Rodríguez M, Braña AF, Méndez C, Salas JA y Olano C.** (2016). New insights into paullomycin biosynthesis pathway in *Streptomyces albus* J1074 and generation of novel derivatives by combinatorial biosynthesis. *Microb Cell Fact* 15(1): 56. doi: 10.1186/s12934-016-0452-4.
- Salcedo RG, Olano C, Fernández R, Braña AF, Méndez C, de la Calle F y Salas JA.** (2016). Elucidation of the glycosylation steps during biosynthesis of antitumor macrolides PM100117 and PM100118 and engineering for novel derivatives. *Microb Cell Fact* 15: 187.
- Ye S, Molloy B, Braña AF, Zabala D, Olano C, Cortés J, Moris F, Salas JA y Méndez C.** (2017). Identification by genome mining of a type I polyketide gene cluster from *Streptomyces argillaceus* involved in the biosynthesis of pyridine and piperidine alkaloids argimycins P. *Front Microbiol* 8:194. doi: 10.3389/fmicb.2017.00194.

Regulación génica en *Streptomyces*

Ramón Santamaría, Margarita Díaz, Laura Sevillano, Sergio Antoraz, Ricardo Sánchez de la Nieta, Marta González, Ana M. Martínez



Instituto de Biología Funcional y Genómica. Consejo superior de Investigaciones Científicas/ Universidad de Salamanca. Salamanca



Grupo RS: De izquierda a derecha: Margarita Díaz, Ramón Santamaría, Sergio Antoraz, Ricardo Sánchez de la Nieta, Marta González, Ana M. Martínez y Laura Sevillano.

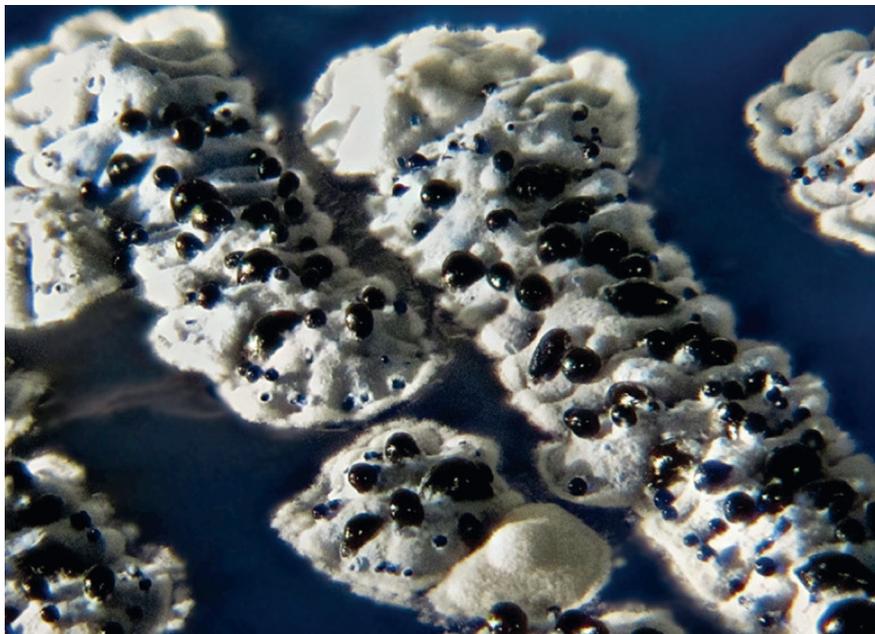
El grupo de investigación dirigido por los doctores Ramón Santamaría y Margarita Díaz profundiza en el estudio de diferentes aspectos de la biología de las bacterias del género *Streptomyces*. Actualmente estamos desarrollando dos proyectos uno centrado en la regulación de la producción de antibióticos mediada por sistemas de dos componentes y el otro en el desarrollo de vectores y cepas para la expresión de proteínas en *Streptomyces*; en particular, para la expresión de enzimas hidrolíticas con potencial industrial.

Streptomyces, con más de 900 especies descritas y cerca de 200 secuenciadas es un género de bacterias que destaca por su capacidad para producir antibióticos y antitumorales (producen más del 50 % de todos los antibióticos naturales disponibles). Ese

potencial se ha visto incrementado con la secuenciación de su DNA al observar que todas las especies secuenciadas poseen múltiples *clusters* biosintéticos que, inactivos en las condiciones de laboratorio, están implicados en la síntesis de metabolitos secundarios desconocidos. El conseguir la producción e identificación de estos metabolitos crípticos y conseguir niveles de producción adecuados, incluso de los metabolitos ya conocidos, es una tarea en la que están implicados multitud de grupos y empresas a nivel mundial utilizando aproximaciones muy variadas (Antoraz *et al.* 2015)

Nosotros, utilizando *S. coelicolor* como modelo, nos hemos enfrentado a este reto centrando nuestra investigación en el estudio de regulación que ejercen diferentes

sistemas de dos componentes sobre la producción de antibióticos con objeto de poder manipular esta regulación y potenciar rutas de producción de antibióticos conocidos y/o activar rutas silenciadas de producción. Hasta la fecha, hemos estudiado el efecto que ejercen seis sistemas de dos componentes sobre la producción de antibióticos mediante la mutación de los genes que los integran (Yepes *et al.* 2011). En la actualidad estamos profundizando en el estudio de los tres que ejercen mayor efecto, y hemos descrito que los sistemas que denominamos AbrA1/A2 y AbrB1/B2 ejercen un efecto negativo sobre la producción de antibióticos (Rico *et al.* 2014a,b) mientras que el sistema AbrC1/C2/C3 (sistema atípico, compuesto por dos quinasas y un regulador) ejerce un efecto positivo sobre la producción de estos meta-



Colonias de *Streptomyces coelicolor* produciendo el antibiótico actinorrodina.

bolitos (Rodríguez *et al.* 2015). El empleo de las cepas delecionadas en los sistemas negativos como cepas hospedadoras para la expresión heteróloga de distintas rutas de antitumorales nos ha permitido demostrar su utilidad al duplicar su producción respecto a la cepa parental (Rico *et al.* 2014a). Además, la sobreexpresión del regulador positivo AbrC3 en otras especies de *Streptomyces* induce la producción de metabolitos endógenos en las mismas y puede ayudarnos a descubrir nuevas moléculas bioactivas de interés para la medicina producidas por diferentes especies (Rico *et al.* 2014b y resultados no publicados).

Nuestra segunda línea de trabajo se apoya en la capacidad de secreción que estos organismos poseen. En particular, producen gran cantidad de enzimas hidrolíticas secretadas que les permiten degradar la materia orgánica de su nicho biológico principal, el suelo, y utilizar los nutrientes generados para su desarrollo. Esta capacidad secretora hace de *Streptomyces* una posible alternativa muy interesante como hospedador para la expresión de proteínas heterólogas con interés industrial.

Nuestro grupo tiene amplia experiencia en el estudio la producción de enzimas hidrolíticas implicadas en la degradación de materiales lignocelulósicos por estas bacterias.

Uno de los frutos de ese trabajo ha sido la identificación de varios promotores fuertes regulados por la fuente de carbono presente en los medios de cultivo que han sido empleados en diferentes vectores para la sobreexpresión de varias proteínas de interés industrial en *Streptomyces* (Díaz *et al.* 2008, 2011; Sevillano *et al.* 2016). Este estudio se ha complementado con el desarrollo de vectores de expresión con selección positiva que no requieren la adición de antibióticos para su mantenimiento durante la etapa de producción en el fermentador. Para este fin hemos utilizado un sistema toxina-antitoxina YoeB/YefM de *S. lividans* que hemos descrito y que ha sido el primer sistema toxina-antitoxina demostrado funcionalmente en *Streptomyces* (Sevillano *et al.* 2012). Durante el desarrollo de este sistema de expresión hemos generado una cepa en la que hemos delecionado todo el sistema YoeB/YefM del genoma y en la que hemos reinsertado el gen de la toxina en el genoma de una cepa que a su vez expresa la antitoxina y el gen que codifica la proteína de interés desde un plásmido. La pérdida de este plásmido provoca la desaparición de la antitoxina y como consecuencia la toxina se activa y la célula muere. El sistema que hemos ensayado con varias proteínas es muy efectivo y prometedor para el escalado a nivel industrial de los productos con el consiguiente ahorro en el proceso y la necesidad de la eliminación

de la contaminación por antibióticos en el producto final (Sevillano *et al.* 2013).

REFERENCIAS

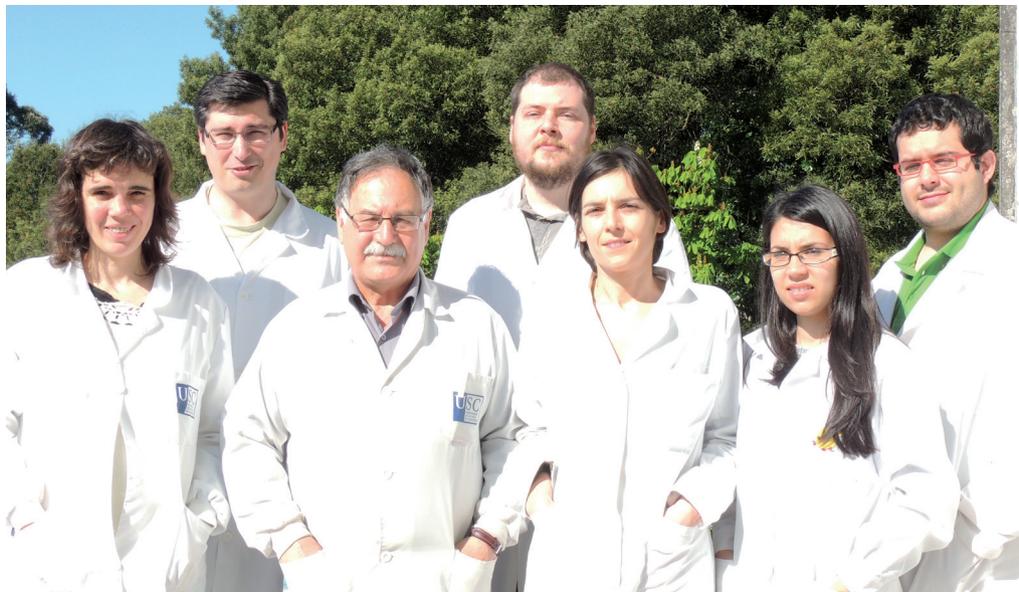
- Sevillano L., Vijgenboom E., van Wezel GP., Díaz, M., and Santamaría, R. I. (2016) New approaches to achieve high level enzyme production in *Streptomyces*. *Microbial Cell Factories* 15:28.
- Rodríguez, H., Rico, S., Yepes, A., Franco-Echevarría, E., Antoraz, S., Santamaría, R. I. and Díaz, M. (2015). The two kinases, AbrC1 and AbrC2, of the atypical two-component system AbrC are needed to regulate antibiotic production and differentiation in *Streptomyces coelicolor*. *Frontiers in Microbiology* 6:450 doi: 10.3389/fmicb.2015.00450.
- Antoraz, S., Santamaría, R.I., Díaz, M., Sanz, D. and Rodríguez, H. (2015) Toward a new focus in antibiotic and drug discovery from the *Streptomyces* Arsenal. *Frontiers in Microbiology* 6:461 doi: 10.3389/fmicb.2015.00461.
- Rico S., Yepes, A., Rodríguez, H., Santamaría, J., Antoraz, S., Krause, E., Díaz, M and Santamaría, R.I. (2014 a). "Regulation of the AbrA1/A2 two-component system in *Streptomyces coelicolor* and the potential of its deletion strain as a heterologous host for antibiotic production." *PLOS One* 9:e109844.
- Rico S, Santamaría RI, Yepes A, Rodríguez H, Laing E, Bucca G, Smith CP, Díaz M. (2014b). "Deciphering the regulon of the *Streptomyces coelicolor* AbrC3, a positive response regulator of antibiotic production. *Appl. Environ. Microbiology* 80(8): 2417-2428.
- Rodríguez, H., Rico, S., Díaz, M. and Santamaría, R.I. (2013). "Two-component systems in *Streptomyces*: key regulators of antibiotic complex pathways". *Microbial Cell Factories* 12:127.
- Sevillano, L., Díaz, M. and Santamaría, R.I. (2013). "Stable expression plasmids for *Streptomyces* based on a toxin-antitoxin system" *Microbial Cell Factories* 12:39.
- Díaz, M., Sevillano, L., Rico, S., Lombo, F., Braña, AF, Salas, JA., Méndez, C. and Santamaría, R.I. (2013). "High level of antibiotic production in a double polyphosphate kinase and phosphate-binding protein mutant of *Streptomyces lividans*". *FEMS letters* 342, 123-129.
- Sevillano L., Díaz, M. and Santamaría, R.I. (2012). Identification of the first functional toxin-antitoxin system in *Streptomyces*. *PLoS One* 7(3): e32977.
- Yepes, A., Rico, S., Rodríguez, A., Santamaría, R.I. and Díaz, M. (2011). "Novel two-components systems involved in antibiotic regulation in *Streptomyces coelicolor*". *PLoS One* 6(5): e19980.
- Pérez, J, Muñoz-Dorado J, Braña AF, Shimkets L J, Sevillano L and Santamaría R.I. (2011). "*Myxococcus xanthus* induces actinorhodin overproduction and aerial mycelium formation by *Streptomyces coelicolor*". *Microbial Biotechnology* 4:175-183.
- Esteban A, Díaz M, Yepes A and Santamaría R.I. (2008). "Expression of the *pstS* gene of *Streptomyces lividans* is regulated by the carbon source and is partially independent of the PhoP regulator." *BMC Microbiology* 8:201 doi:10.1186/1471-2180-8-201.
- Díaz, M., Ferreras, E., Moreno, R., Yepes, A., Berenguer, J, and Santamaría, R.I., (2008). "High-level overproduction of *Thermus* enzymes in *Streptomyces lividans*." *Applied Microbiology and Biotechnology* 79, 1001-1008.

Biotecnología Microbiana y Alimentaria

Tomás G. Villa, Pilar Calo Mata y Jorge Barros Velázquez


tomas.gonzalez@usc.es
p.calo.mata@usc.es
jorge.barros@usc.es

Facultad de Farmacia/Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela



Sección de Santiago



Sección de Lugo

Nuestro grupo comenzó su andadura hace más de 30 años. El grupo de investigación posee amplia experiencia en clonación y explotación de genes con potencial indus-

trial en los ámbitos farmacéutico, ingeniería de procesos y tecnología de alimentos. En sus investigaciones destacan los trabajos en genética de levaduras y hongos filamentosos

mediante estrategias alternativas a la ingeniería genética, basándose en conocimientos de genética clásica de microorganismos eucariotas. Por otra parte hemos contribuido el desa-

rollo de técnicas moleculares de detección e identificación directas de microorganismos patógenos en alimentos, especialmente en el ámbito de los métodos miniaturizados y la proteómica. Finalmente, hemos prestado atención a los métodos de lucha contra los microorganismos patógenos de mayor relevancia en el ámbito alimentario, destacando componentes naturales, extractos de algas, bacteriocinas o enzimáticos.

Dentro de este gran ámbito que representa la aplicación de herramientas biotecnológicas a la industria alimentaria, en los últimos cinco años hemos desarrollado específicamente las siguientes grandes líneas:

1. PRODUCCIÓN BIOTECNOLÓGICA DE COMPONENTES DE VALOR AÑADIDO PARA LA INDUSTRIA ALIMENTARIA.

En el grupo de investigación se ha trabajado con las poligalacturonasas de *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus* y *Medicago sativa*. Se han caracterizado, clonado y expresado en diferentes organismos tales como *Escherichia coli*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Pichia pastoris* y *Arabidopsis thaliana*. Como resultado de esta experiencia se han aislado y conseguido cepas superproductoras de poligalacturonasa, tanto de modo natural como recombinante, susceptibles de aplicación industrial con excelentes resultados. También se ha llevado a cabo la identificación y caracterización de genes de *S. cerevisiae* implicados en la formación de espuma en el vino con la finalidad de clonarlos en levaduras cerveceras, *Saccharomyces carlsbergensis*, para aumentar la cantidad y calidad de la espuma obtenida en la cerveza.

Se ha prestado asimismo especial atención a la selección de genes responsables de la biosíntesis de beta-caroteno, licopeno o xantofilinas y su expresión heteróloga en *P. pastoris*. Componentes todos ellos de gran valor añadido en la biotecnología alimentaria. Asimismo se ha abordado el estudio de quimosinas de grado alimentario y recombinantes para la producción quesera.

En un próximo futuro se pretende generar nuevas cepas productoras de estos compuestos de uso industrial. Actualmente se

está trabajando en la mejora de las cepas recombinantes de la levadura *Pichia pastoris* incrementando la dosis génica para aumentar la producción de astaxantina, licopeno y β -caroteno. De igual manera se está procediendo a terminar el adaptado de cepas de la misma levadura para la producción de una nueva proteasa aspártica de origen vegetal, para la elaboración de quesos tradicionales. Las cepas productoras de espuma y poligalacturonasa de uso alimentario están siendo escaladas para uso industrial.

Bibliografía seleccionada (diez publicaciones de los últimos cinco años)

- Araya-Garay J, Ageitos JM, Vallejo JA, Veiga-Crespo P, Sánchez-Pérez A y Villa TG.** (2012). Construction of a novel *Pichia pastoris* strain for production of xanthophylls. *AMB Express* 2:24.
- Vallejo JA, Ageitos JM, Poza M y Villa TG.** (2012). A comparative analysis of recombinant chymosins. *J Dairy Sci* 95: 609-613.
- Araya-Garay JM, Feijoo-Siota L, Rosa-dos-Santos F, Veiga-Crespo P y Villa TG.** (2012). Construction of new *Pichia pastoris* X-33 strains for production of lycopene and β -carotene. *Appl Microbiol Biotechnol* 93: 2483-2492.
- Blasco L, Veiga-Crespo P, Sánchez-Pérez A y Villa TG.** (2012). Cloning and Characterization of the Beer Foaming Gene CFG1 from *Saccharomyces pastorianus*. *J Agric Food Chem* 60: 10796-10807.
- Ageitos JM, Vallejo JA, Serrat M, Sánchez-Pérez A, Villa TG.** (2013). In Vitro Ca²⁺-Dependent Maturation of Milk-Clotting Recombinant Epr: Minor Extracellular Protease: From *Bacillus licheniformis*. *Mol Biotechnol* 54: 304-311.
- Vallejo JA, Serrat M, Pérez-Portuondo I, Sánchez-Pérez A, Ageitos JM y Villa TG.** (2012). A novel *Kluyveromyces marxianus* strain with an inducible flocculation phenotype. *AMB Express* 1: 38. doi:10.1186/2191-0855-2-38.
- Vallejo JA, Sánchez-Pérez A, Martínez JP y Villa TG.** (2013). Cell aggregations in yeasts and their applications. *Appl Microbiol Biotechnol* 97: 2305-2318.
- Vallejo JA, Miranda P, Flores-Félix JD, et al.** (2013). Atypical yeasts identified as *Saccharomyces cerevisiae* by MALDI-TOF MS and gene sequencing are the main responsible of fermentation of chicha, a traditional beverage from Peru. *Syst Appl Microbiol* 36(8): 560-564.
- Sieiro C, Villa TG, da Silva AF, García-Fraga B y Vilanova M.** (2014). Albariño wine aroma enhancement through the use of a recombinant polygalacturonase from *Kluyveromyces marxianus*. *Food Chem* 145: 179-185.
- Feijoo-Siota L, Blasco L, Rodríguez-Rama JL, De Miguel T, Barros-Velázquez J, Sánchez-Pérez A y Villa TG.** (2014). Recent advances in microbial proteases for the dairy industry. *Recent Adv DNA and Gene Seq* 8: 44-45.

2. DESARROLLO DE MICROARRAYS Y BIOMARCADORES DE HUELLA PEPTÍDICA PARA LA IDENTIFICACIÓN DIRECTA DE MICROORGANISMOS EN ALIMENTOS

En el ámbito de la proteómica, hemos tenido la oportunidad de colaborar desde el principio de nuestra existencia como grupo, con los equipos dirigidos por el Prof. José M. Gallardo en el IIM-CSIC y por el Prof. Benito Cañas en la UCM. En el ámbito de la tecnología de microarrays basados en la detección de la reacción de ligación, venimos colaborando desde hace varios años con el grupo dirigido por la Dra. Bianca Castiglioni en el IBBA-CNR (Milán, Italia) y con el Dr Stefano Morandi del grupo dirigido actualmente por la Dra Milena Brasca en el ISPA-CNR (Milán, Italia). Fruto de esta actividad ha sido la creación de una base de datos de acceso libre, Spectrabank (www.spectrabank.org o www.spectrabank.eu), que permite acceder a los perfiles MALDI-TOF de las principales especies microbianas de interés alimentaria, a sus listas de masas, etc. Dicha base de datos ha sido realizada en colaboración con la USC y el Centro de Supercomputación de Galicia, gracias a sendos proyectos financiados por el MEC y la Xunta de Galicia y representa actualmente la WEB de acceso libre más completa a nivel internacional en el ámbito de la identificación microbiana mediante MALDI-TOF.

Bibliografía seleccionada (diez publicaciones de los últimos cinco años)

- Fernández-No IC, Böhme K, Calo-Mata P, Cañas B, Gallardo JM y Barros-Velázquez J.** (2012). Isolation and characterization of *Streptococcus parauberis* from vacuum-packaged refrigerated seafood products. *Food Microbiol* 30: 91-97.
- Böhme K, Fernández-No IC, Barros-Velázquez J, Gallardo JM, Cañas B y Calo-Mata P.** (2012). SPECTRABANK: an open access tool for microorganism identification by MALDI-TOF mass fingerprinting. *Electrophoresis* 33: 2138-2142.
- Böhme K, Morandi S, Cremonesi P, Fernández-No IC, Barros-Velázquez J y Calo-Mata P.** (2012). Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from Italian dairy products by MALDI-TOF mass fingerprinting. *Electrophoresis* 33: 2355-2364.
- Fernández-No I, Böhme K, Díaz-Bao M, Cepeda A, Barros-Velázquez J y Calo-Mata P.** (2013). Characterisation and profiling of *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* and *Bacillus licheniformis* strains by MALDI-TOF mass fingerprinting. *Food Microbiol* 33: 235-242.

- Böhme K, Fernández-No I, Pazos M, Gallardo JM, Barros-Velázquez J, Cañas B y Calo-Mata P.** (2013). Identification and classification of sea-food-borne pathogenic and spoilage bacteria: 16S rRNA sequencing vs MALDI-TOF MS fingerprinting. *Electrophoresis* 334: 877-887.
- Böhme K, Fernández-No I, Pazos M, Gallardo JM, Barros-Velázquez J, Cañas B y Calo-Mata P.** (2013). Characterization of different food-isolated *Enterococcus* strains by MALDI-TOF mass fingerprinting. *Electrophoresis* 34: 2240-2250.
- Böhme K, Cremonesi P, Severgnini M, Villa TG, Fernández-No I, Barros-Velázquez J, Castiglioni B y Calo-Mata P.** (2014). Detection of spoilage and pathogenic bacteria based on ligation detection reaction coupled to flow-through hybridization on membranes. *Biomed Research Int.* 2014 (DOI: 10.1155/2014/156323).
- Fernández-No I, Böhme K, Caamaño-Antelo S, Barros-Velázquez J y Calo-Mata P.** (2015). Identification of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the 16S rRNA gene of foodborne *Bacillus* spp. *Food Microbiol* 46: 239-245.
- Caamaño-Antelo S, Fernández-No I, Böhme K, Azat-Alnakip M, Quintela-Baluja M, Barros-Velázquez J y Calo-Mata P.** (2015). Genetic discrimination of pathogenic and spoilage *Bacillus* spp based on three housekeeping genes. *Food Microbiol* 46: 288-298.
- Calo-Mata P, Carrera M, Böhme K, Caamaño-Antelo S, Gallardo JM, Barros-Velázquez J y Cañas B.** (2015). Novel Peptide Biomarker Discovery for Detection and Identification of Bacterial Pathogens by LC-ESI-MS/MS. *J Anal Bioanal Technol* 7(1): 296. (doi:10.4172/2155-9872.1000296).

3. DESARROLLO DE MÉTODOS NATURALES DE LUCHA CONTRA MICROORGANISMOS PATÓGENOS DE RELEVANCIA EN EL ÁMBITO ALIMENTARIO.

El uso abusivo de antibióticos convencionales ha provocado la aparición de microorganismos resistentes a un amplio espectro de estos fármacos, por lo que la efectividad de terapias antibacterianas se ha visto mermada.

Por esta razón se hace necesaria la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos para el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por microorganismos multirresistentes.

Dentro de estos posibles agentes terapéuticos se encuentran los enzibióticos, enzimas líticas que emplean los virus bacteriófagos en algún momento durante su ciclo lítico. Si el concepto de enzibiótico se extiende a aquellos enzimas capaces de actuar sobre las paredes fúngicas como las actividades glucanásicas y las quitinasas producidas por hongos como *Trichoderma harzianum* o la bacteria *Bacillus circulans*, la batería terapéutica se amplía enormemente. Este grupo de investigación, ha estado trabajando en la aplicación para el tratamiento de enfermedades fúngicas de las enzimas endoglucanasa.

Esta línea de investigación ha incluido asimismo el aislamiento de microbiota ácido láctica productora de compuestos antimicrobianos, fundamentalmente bacteriocinas. Se ha descrito el aislamiento de cepas de enterococos multiproductoras de diversas enterocinas con actividad frente a patógenos humanos y de peces y que actualmente se están evaluando como ingredientes de piensos en la industria acuícola. Asimismo se ha abordado el desarrollo de bacteriocinas híbridas, por colaboración del equipo del Prof. Augusto Bellomio (Conyset, Argentina).

Las perspectivas futuras incluyen no solo la profundización en el estudio de enzibióticos y de nuevas bacterias productoras de bacteriocinas, sino también en otras fuentes de origen natural, como extractos de algas marinas, dotadas de actividad antimicrobiana.

Bibliografía seleccionada (diez publicaciones de los últimos cinco años)

- Fusté E, Galisteo GJ, Jover L, Vinuesa T, Villa TG y Viñas M.** (2012). Comparison of antibiotic susceptibility of old and current *Serratia*. *Future Microbiol* 7(6): 781-786.
- Chahad OB, El Bour M, Calo-Mata P, Boudabous A y Barros-Velázquez J.** (2012). Discovery of novel preservation agents with inhibitory effects on growth of food-borne pathogens and their applications in seafood products. *Res Microbiol* 163: 44-54.
- Chahad Bourouni O, Elbour M, Calo-Mata P, Mraouana R, Abedellatif B y Barros-Velázquez J.** (2012). Phylogenetic analysis of antimicrobial lactic acid bacteria from farmed seabass *Dicentrarchus labrax*. *Can J Microbiol* 58: 463-474.
- Veiga-Crespo P, Sanchez-Perez A y Villa TG.** (2014). Enzybiotics: The Rush Toward Prevention and Control of Multiresistant Bacteria (MRB). In: *Antimicrobial Compounds*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg 215-235.
- Villa TG, Veiga-Crespo P, eds.** (2014) *Antimicrobial Compounds*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. doi:10.1007/978-3-642-40444-3.
- Acuña L, Corbalán N, Fernández-No I, Morero R, Barros-Velázquez J y Bellomio A.** (2015). Inhibitory effect of the hybrid bacteriocin Ent35/MCCV on the growth of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* in model and food systems. *Food Bioprocess Technol* 8: 1063-1075.
- El-Jeni R, Elbour M, Calo-Mata P, Böhme K, Fernández-No I, Barros-Velázquez J y Bouhaouala-Zahar B.** (2016). In vitro probiotic profiling of novel *Enterococcus faecium* and *Leuconostoc mesenteroides* lactic acid bacteria strains from Tunisian freshwater fish. *Can J Microbiol* 62: 60-71.
- Villa TG, Feijoo-Siota L, Rama JLR, Sánchez-Pérez A y de Miguel-Bouzas T.** (2016). Enzybiotics In: *Antimicrobial Food Packaging*. Elsevier: 491-502. doi:10.1016/B978-0-12-800723-5.00040-1.
- Ageitos JM, Sánchez-Pérez A, Calo-Mata P y Villa TG.** (2016). Antimicrobial peptides (AMPs): Ancient compounds that represent novel weapons in the fight against bacteria. *Biochem Pharmacol*. doi:10.1016/j.bcp.2016.09.018.
- Miranda JM, Ortiz J, Barros-Velázquez J y Aubourg S.** (2016). Quality enhancement of chilled fish by including alga *Bifurcaria bifurcata* extract in the icing medium. *Food Bioprocess Technol* 9: 387-395.

Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana: Microorganismos y productos microbianos bioactivos

Carmen Sieiro Vázquez



Área de Microbiología. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. Universidad de Vigo. Lagoas Marcosende. 36310 Vigo.



Grupo de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana. De izquierda a derecha: Belén García Fraga, Ángeles Pichardo Gallardo, Carmen Sieiro Vázquez, Jacobo López Seijas y Abigail Fernández da Silva.

El equipo de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana está integrado en el grupo de investigación multidisciplinar de Bio-recursos que coordina la Dra. Carmen Sieiro en la Universidad de Vigo. El equipo divide su trabajo en dos grandes bloques. En primer lugar, se dedica al estudio de la biodiversidad microbiana asociada a diferentes ambientes, organismos o procesos fermentativos y, debido a ello, cuenta con colecciones de los microorganismos asociados a estos hábitats, identificados y tipificados a nivel bioquímico y molecular. En segundo lugar, a partir de estas colecciones, lleva a cabo la selección y mejora de microorganismos de interés industrial así como la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos de importancia biotecnológica y la optimización de los procesos de producción.

En concreto, el estudio de la biodiversidad microbiana asociada a las fermentaciones

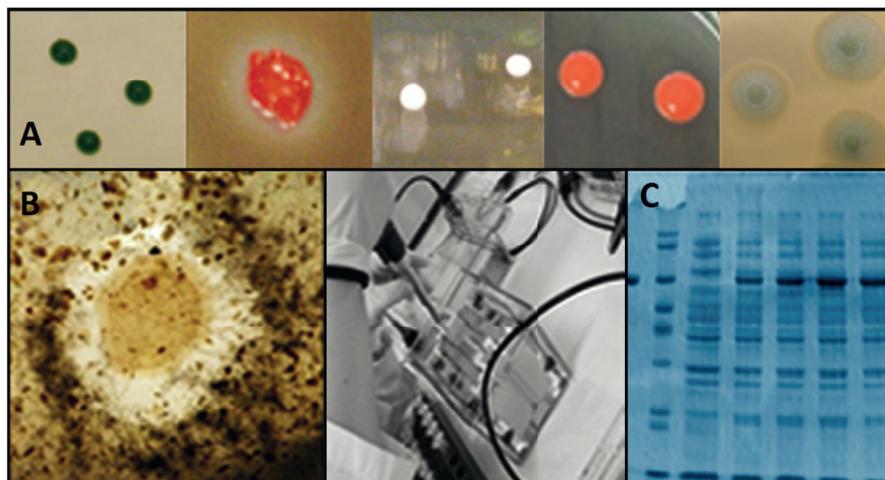
enológicas y su empleo, junto con el de las enzimas pécticas, para la mejora de la calidad de los vinos es una de las líneas de investigación desarrolladas. Estos trabajos se iniciaron con el Dr. Tomás González Villa en la Universidad de Santiago de Compostela de donde procede la investigadora principal del grupo. En colaboración con la Universidad de Santiago y con el CSIC, continuamos en esta línea estudiando el efecto de las levaduras sobre el perfil aromático y el color de los vinos de Galicia. De acuerdo con estos criterios se seleccionaron diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae* para llevar a cabo fermentaciones controladas y potenciar la tipicidad regional de los productos. Por otra parte, dados los problemas que puede presentar la consecución de la fermentación maloláctica en los vinos de la variedad Albariño en esta región, se realizaron estudios sobre la diversidad de bacte-

rias ácido lácticas asociadas a los mismos encontrándose una distribución biogeográfica diferenciadora. La caracterización en base a criterios de calidad y seguridad ha permitido la selección de cepas malolácticas que pueden ser utilizadas como cultivos iniciadores adaptados para desarrollarse en las condiciones de los vinos de las zonas estudiadas.

En el marco de un proyecto más reciente, estamos empezando a estudiar la diversidad de levaduras no-*Saccharomyces* asociadas a la vid y su presencia en las primeras fases de fermentación de los vinos. Estos estudios continuarán con la caracterización de estas levaduras para ser empleadas en fermentaciones mixtas controladas, con la finalidad de potenciar y diferenciar el perfil sensorial de los vinos y de conseguir una reducción del grado alcohólico de los mismos.

Otra de las líneas de investigación en las que investiga el grupo es la búsqueda y caracterización, mediante el estudio de sus determinantes moleculares y sus propiedades bioquímicas, de nuevas enzimas de interés biotecnológico. Dentro de esta línea, una parte de nuestros trabajos se centran en las aplicaciones de las poligalacturonasas en la producción y mejora de las características organolépticas de los vinos. Estas enzimas degradan las pectinas de las paredes celulares vegetales y se usan con diferentes funciones en la industria de producción de zumos, fundamentalmente para favorecer su extracción y clarificación. En este ámbito se han clonado y caracterizado nuevos genes que codifican para enzimas pécticas en *Kluyveromyces*. La endopoligalacturonasa codificada por el gen *EPG1-2* de *K. marxianus* se mostró idónea para la clarificación del mosto de uva y los zumos de otras frutas pero, sobre todo, resultó muy eficaz para llevar a cabo la extracción de las moléculas precursoras de los aromas varietales de la uva y potenciar de forma diferenciada el perfil aromático de los vinos. En un segundo estudio se demostró la capacidad de esta enzima para extraer e intensificar el color en vinos elaborados con variedades tintas así como para enriquecerlos significativamente en compuestos beneficiosos para la salud, en concreto en polifenoles. La acción de esta endopoligalacturonasa, como enzima única, podría evitar los efectos secundarios indeseables de los preparados pécticos comerciales constituidos por mezclas de enzimas. La producción de dicha enzima fue optimizada mediante la expresión heteróloga de la misma en *Pichia pastoris*, obteniéndose cepas hiperproductoras que permiten su explotación rentable a escala industrial.

Dentro de la línea de investigación de enzimas de importancia biotecnológica, el grupo investiga también en la identificación y caracterización de microorganismos quitinolíticos procedentes, principalmente, del medio marino y pertenecientes a la microbiota asociada a organismos marinos. Las quitinasas son enzimas que hidrolizan la quitina, el segundo polímero más abundante de la naturaleza. Estas enzimas tienen gran importancia para la degradación y/o reciclado de los residuos de quitina. Además, debido a la presencia de quitina en las paredes celulares de los hongos y en la



A: Microorganismos para *screening* de metabolitos de interés industrial. B: Hidrólisis de quitina por parte de una cepa de *E. coli* que sobreexpresa una quitinasa heteróloga. C: Inducción de la expresión de la quitinasa.

cutícula de los insectos, tanto estas enzimas como sus inhibidores, pueden tener utilidad como agentes de biocontrol. En esta campo, se han identificado y clonado los genes que codifican nuevas enzimas quitinolíticas en *Bacillus halodurans*, *Lactococcus lactis*, *Pseudalteromonas tunicata* y en la arquea *Halobacterium salinarum*. Estos genes fueron analizados desde el punto de vista estructural y demostrada su funcionalidad. El análisis de las propiedades de las enzimas puso de manifiesto que tienen actividad en un diferente y amplio rango de condiciones mostrándose como enzimas robustas con una elevada estabilidad, incluso en condiciones subóptimas. Por sus características se han mostrado como enzimas de utilidad para la transformación de los residuos de quitina y sus derivados en quitooligosacáridos que pueden tener diferentes actividades biológicas. En concreto, estas moléculas con diferentes longitudes, pueden ser empleadas para la síntesis biológica de diferentes nanomateriales que hemos comprobado poseen una potente actividad antimicrobiana frente a distintos microorganismos, incluyendo cepas multirresistentes a antibióticos convencionales. Por otra parte, se estudió también la capacidad de estas enzimas para ser utilizadas como biofungicidas demostrando que, dependiendo de la enzima, tienen la capacidad para inhibir el desarrollo de hongos fitopatógenos y/o de importancia clínica. Estos estudios continúan en la actualidad evaluando su potencial como agentes de control frente a otras plagas. Otro de los

objetivos de nuestro trabajo consistió en la construcción de cepas hiperproductoras de estas enzimas mediante la sobreexpresión de los genes en *E. coli*. Además, se han establecido las condiciones para una expresión máxima mediante la optimización del uso de codones, la estabilización del mRNA, la selección del promotor más adecuado y la optimización del inductor, temperatura y tiempo de inducción.

Esta línea de investigación continúa en la actualidad con diferentes objetivos. Por un lado, teniendo en cuenta el papel que parecen tener los dominios o proteínas de unión a quitina potenciando la actividad de las quitinasas, se están iniciando estudios para aislar, producir y caracterizar estas proteínas en las bacterias quitinolíticas. Por otro, estamos empezando a estudiar también posibles inhibidores de las enzimas quitinolíticas, dada su potencial importancia como agentes para control biológico. Además, las quitinasas han sido relacionadas con ciertas enfermedades infecciosas e inflamatorias y, recientemente, propuestas como dianas terapéuticas. Por tanto, sus inhibidores pueden tener interés también como quimioterapéuticos.

BIBLIOGRAFÍA

da Silva AF, García-Fraga B, López-Seijas J y Sieiro C. (2016). Optimizing the expression of a heterologous chitinase: A study of different promoters. *Bioengineered* 8: 1-5.

- García-Fraga B, da Silva AF, López-Seijas J y Sieiro C.** (2015). Optimized expression conditions for enhancing production of two recombinant chitinolytic enzymes from different prokaryote domains. *Bioprocess Biosyst Eng* 38: 2477-2486.
- García-Fraga B, da Silva AF, López-Sijas J y Sieiro C.** 2015. A novel family 19 chitinase from the marine-derived *Pseudoalteromonas tunicata* CCUG 44952T with antifungal activity. *Biochem Eng J* 93: 84-93.
- Rodríguez-Argüelles MC, González-Ballesteros N, Rodríguez-Domínguez G, Campanini N, Nasi L, Vázquez I y Sieiro C.** (2015). Broad-spectrum antimicrobial activity of silver nanoparticles in different types of chitosan matrices. *Chem J* 1: 165-171.
- da Silva AF, García-Fraga B, López-Seijas J y Sieiro C.** (2014). Characterization and optimization of heterologous expression in *Escherichia coli* of the chitinase encoded by the *chiA* gene of *Bacillus halodurans* C-125. *Process Biochem* 49: 1622-1629.
- Sieiro C, Villa TG, da Silva AF, García-Fraga B y Vilanova M.** (2014). Albariño wine aroma enhancement through the use of a recombinant polygalacturonase from *Kluyveromyces marxianus*. *Food Chem* 145:179-185.
- García-Fraga B, da Silva AF, López-Seijas J y Sieiro C.** (2014). Functional expression and characterization of a chitinase from the marine archaeon *Halobacterium salinarum* CECT 395 in *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol* 98: 2133-2143.
- Ladeira A, Sieiro C y Álvarez M.** (2013). Change in the food ingestion induces rapid shifts in the diversity of microbiota associated with cutaneous mucus of Atlantic salmon *Salmo salar*. *J Fish Biol* 82: 893-906.
- Sieiro C, García-Fraga B, López-Seijas J, da Silva AF y Villa TG.** (2012). Microbial pectic enzymes in the food and wine industry. In: *The Food Industrial Processes-Methods and Equipment*. InTech pp 201-218.
- Rodríguez-Argüelles MC, Sieiro C, Cao R y Nasi L.** (2011). Chitosan and silver nanoparticles as pudding with raisins with antimicrobial activity. *J Colloid Interf Sci* 363: 80-84.
- Sieiro C, Sestelo ABF y Villa TG.** (2009). Cloning, characterization and functional analysis of the *EPG1-2* gene: a new allele coding for an endopolygalacturonase in *Kluyveromyces marxianus*. *J Agr Food Chem* 57: 8921-8926.
- Vilanova M, Zamuz S, Vilaríño F y Sieiro C.** (2007). Effect of terroir on the volatiles of *Vitis vinifera* cv. Albariño. *J Sci Food Agr* 87: 1252-1256.
- Vilanova M y Sieiro C.** (2006). Contribution by *Saccharomyces cerevisiae* yeasts to fermentative flavour compounds in wines from cv. Albariño. *J Ind Microbiol Biotechnol* 33: 929-933.

NUESTRA CIENCIA

MÁS ALLÁ DE LA CONJUGACIÓN. NUEVOS MECANISMOS DE TRANSFERENCIA HORIZONTAL GÉNICA

Informa: José Berenguer

Los nichos termófilos albergan microorganismos con una plasticidad génica extraordinaria, consecuencia de un intenso flujo horizontal de material genético entre poblaciones. En las bacterias, estos intercambios de información génica pueden ocurrir, además de por los mecanismos clásicos que aparecen en todos los libros de Microbiología (conjugación, transformación y transducción), por estrategias alternativas de más reciente descripción tales como nanotubos, agentes de transferencia génica (GTA) o vesículas de membrana, que protegen DNA durante la transferencia. Recientemente, hemos identificado en *Thermus thermophilus*, una bacteria termófila de origen antiguo empleada como modelo de laboratorio, un nuevo sistema de transferencia al que hemos denominado "Transjugación" por compartir propiedades de la conjugación y la transformación clásicas (Alba Blesa y cols. **PLoS Genet.** 2017 Mar 10;13(3):e1006669. doi: 10.1371/journal.pgen.1006669.). Como en la conjugación, este sistema permite la transferencia de grandes fragmentos de DNA por contacto entre una célula donadora y una célula receptora. Sin embargo, el mecanismo de transferencia presenta grandes diferencias con la conjugación clásica, tales como el no requerir de un sistema de transferencia derivado de los sistemas de secreción tipo 4, el no disponer de un sistema de reconocimiento de un origen de transferencia específico, sino iniciar la transferencia de forma simultánea desde múltiples sitios en el genoma, y el de ser bidireccional, de forma que ambas bacterias en el proceso son a la vez donadoras yceptoras de DNA. Más aún, la transjugación depende de la actividad de la maquinaria de competencia natural de la bacteria que actúa como receptora, de manera que el mecanismo implica una transferencia en dos pasos (*push-pull*) llevados a cabo en ambas direcciones por maquinarias independientes. En el artículo mencionado de Plos Genetics, se identifica además una translocasa de DNA codificada en un nuevo tipo de elemento conjugativo e integrativo (ICEth1), como componente fundamental del mecanismo de donación del DNA. La transferencia de este ICETH1 a otra cepa de *T. thermophilus* originalmente carente de él confiere a la receptora la capacidad para actuar de donador en transjugación.

El análisis de este nuevo proceso de transferencia horizontal, que muestra tasas de eficiencia mayores que las de transformación, sugiere que es la transjugación el motor principal de intercambio génico en las poblaciones de *Thermus*, corroborando el dinamismo en transferencias laterales de DNA en ambientes termófilos.

Blesa A, Baquedano I, Quintáns NG, Mata CP, Castón JR, Berenguer J. **PLoS Genet.** 2017 Mar 10;13(3):e1006669. doi: 10.1371/journal.pgen.1006669. eCollection 2017. The transjugation machinery of *Thermus thermophilus*: Identification of TdtA, an ATPase involved in DNA donation.

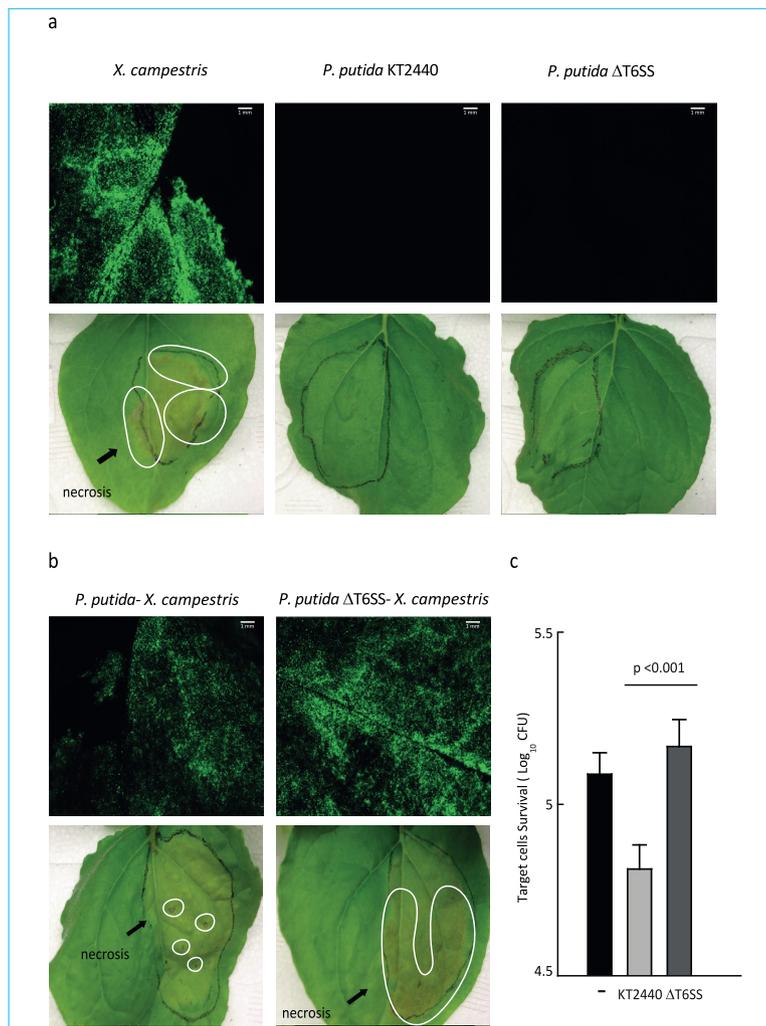
EL SISTEMA DE SECRECIÓN DE TIPO VI (T6SS) DE *PSEUDOMONAS PUTIDA* PROTEGE A LAS PLANTAS DEL ATAQUE DE FITOPATÓGENOS



Informa: Patricia Bernal

Los sistemas bacterianos de secreción de tipo VI (T6SS) son herramientas moleculares diseñadas para inyectar efectores/toxinas en el interior de células dianas. Estas nano-máquinas juegan un papel extremadamente importante en la competición entre bacterias. Las cepas bacterianas que expresan de forma activa este sistema de secreción presentan grandes ventajas con respecto al resto de organismos presentes en ambientes polimicrobianos. En este trabajo hemos analizado el genoma del agente de biocontrol *Pseudomonas putida* KT2440 donde hemos identificado tres T6SSs (K1-, K2- y K3-T6SS). Además, este estudio ha revelado la presencia de diez pares de efectores/proteínas de inmunidad asociados al T6SS, incluyendo nucleasas putativas y colicinas. El análisis de los T6SSs de *P. putida* nos ha permitido demostrar que K1-T6SS es un potente dispositivo antibacteriano que secreta al menos una toxina denominada Tke2. Cabe destacar que *P. putida* es capaz de erradicar una amplia gama de bacterias usando el K1-T6SS y entre las que se incluyen importantes fitopatógenos, demostrando que el T6SS es fundamental en la lucha contra competidores en *P. putida*. Igualmente, esta propiedad se advierte en experimentos *in planta* donde observamos que la necrosis producida en las hojas de *Nicotiana benthamiana* por el patógeno *Xanthomonas campestris* se reduce drásticamente durante la coinfección con *P. putida* y dicha protección depende de la actividad del T6SS. Aquí desvelamos un nuevo mecanismo para el control biológico de plantas que debe considerarse para la selección de futuros agentes de biocontrol con la capacidad de manipular la composición microbiana de la rizosfera y la filosfera.

Patricia Bernal, Luke P. Allsopp, Alain Filloux and María A. Llamas (2017). The *Pseudomonas putida* T6SS is a plant warden against phytopathogens. The ISME journal 11: 972-987, DOI: 10.1038/ismej.2016.169, PMID: 28045455.



En la figura se muestra un ensayo de competición *in planta* entre la cepa de biocontrol *P. putida* KT2440 y el fitopatógeno *X. campestris*.

La sección (a) muestra hojas de *N. benthamiana* tras 24 h (panel superior) y 5 días (panel inferior) después de ser infiltradas con *X. campestris* expresando un plásmido (pRL662-gfp) que codifica una proteína de fluorescencia verde (gfp), con la cepa silvestre *P. putida* KT2440 (WT), o con su triple mutante isogénico ΔtssA1ΔtssM2ΔtssM3 (ΔT6SS). La sección (b) muestra hojas de *N. benthamiana* 24 h (panel superior) y 5 días (panel inferior) después de ser co-infiltradas con *X. campestris* (pRL662-gfp) y la cepa indicada de *P. putida*. En el panel superior de las secciones (a) y (b), las hojas fueron visualizadas con microscopía de fluorescencia usando un estereomicroscopio modelo Leica M205FA.

Las áreas necróticas resultantes de la infección con *X. campestris* aparecen marcadas. Las zonas necróticas de color marrón intenso se extienden a una gran porción de la hoja (panel superior), mientras que esta zona está mucho más restringida cuando el patógeno se inocula junto con la cepa de biocontrol que expresa el T6SS (panel izquierdo).

La sección (c) muestra la cuantificación de las unidades formadoras de colonias (UFC) de *X. campestris* (pRL662-gfp) recuperadas de las hojas de *N. benthamiana* después de 24 h de co-infiltración con la cepa indicada de *P. putida*.

ANÁLISIS DEL DNA GENÓMICO Y DETERMINACIÓN DE SU MECANISMO DE EMPAQUETAMIENTO DE TRES NUEVOS BACTERIÓFAGOS VIRULENTOS DE *SALMONELLA*

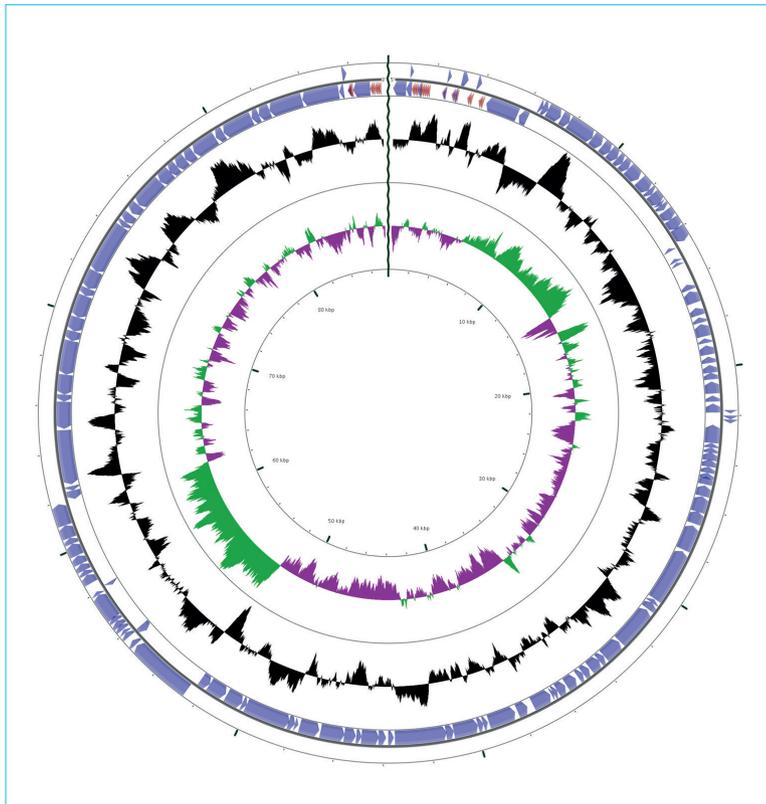
Informa: Montserrat Llagostera

Salmonella no tifoidea es el principal patógeno asociado a las enfermedades transmitidas por los alimentos en todo el mundo. La extensión de las resistencias a los antibióticos ha afectado negativamente a la salud humana y ha alentado la búsqueda de agentes antimicrobianos alternativos. Los avances desarrollados en terapia con bacteriófagos destacan su uso en el control de un amplio espectro de patógenos transmitidos por los alimentos. Hoy en día, el uso de bacteriófagos como antibacterianos obliga a la secuenciación de todo su genoma para asegurar que está libre de los genes que codifican factores de virulencia conocidos de bacterias y alérgenos potenciales. Por otra parte, la secuenciación ayuda a entender el ciclo de multiplicación de bacteriófagos a nivel molecular, y también otros rasgos biológicos importantes.

En este sentido, un grupo de investigadores de la UAB ha secuenciado y ha analizado el genoma de tres nuevos bacteriófagos virulentos específicos de *Salmonella* que han demostrado un gran efecto en terapia fágica oral y en el biocontrol de *Salmonella* en diversas matrices alimentarias, refrendado por diversas publicaciones previas.

La investigación ha sido publicada en el mes de abril en la revista *Frontiers in Microbiology* con el título "Genomics of three new bacteriophages useful in the biocontrol of *Salmonella*" y ha sido realizada por el Grupo de Microbiología Molecular del Departamento de Genética y Microbiología de la UAB, coordinado por la Dra. Montserrat Llagostera.

En este nuevo trabajo, se ha realizado la secuenciación así como diversos análisis moleculares de los genomas de tres bacteriófagos (UAB_Phi20, UAB_Phi78, y UAB_Phi87) capaces de infectar una amplia gama de cepas de *Salmonella*. Los análisis *in silico* de las secuencias de los genomas no han evidenciado la presencia de genes asociados con la virulencia y resistencia a los antibióticos conocidos y a potenciales alérgenos alimentarios. Tras los estudios filogenéticos, el genoma del bacteriófago UAB_Phi20 de 41,81 kilobases (kb) mostró una alta homología con el genoma del bacteriófago P22 y otros bacteriófagos del género tipo P22 de la familia *Podoviridae*, incluyendo ST64T y ST104. En el genoma del fago UAB_Phi78 de 44,11 kb se identificaron repeticiones terminales directas de 179 pb, característica exhibida por fagos del género tipo SP6 de la familia *Podoviridae*. Además, este fago mostró una similitud con los bacteriófagos K1-5, K1E, y K1F, los cuales infectan a *Escherichia coli*. Por último, el genoma del bacteriófago UAB_Phi87 de 87,67 kb presentó repeticiones directas terminales de 608 pb, y similitud con los bacteriófagos del género tipo Felix O1 de *Salmonella* y con el fago wV8 de *E. coli*. Además, un análisis filogenético de las subunidades mayores de las terminasas de los tres fagos confirmó sus estrategias de empaquetamiento agrupándolos en sus correspondientes géneros tipo.



Todos los datos obtenidos contribuyen a una mejor comprensión de la biología de estos fagos, y evidencia la necesidad de este tipo de aproximaciones para el desarrollo y el uso de un cóctel eficiente con aplicaciones comerciales en la terapia de bacteriófagos contra *Salmonella*.

Los datos obtenidos contribuyen a una mejor comprensión de la biología de estos fagos, y evidencia la necesidad de este tipo de aproximaciones para el desarrollo y el uso de un cóctel eficiente con aplicaciones comerciales en la terapia de bacteriófagos contra *Salmonella*.

Bardina C, Colom J, Spricigo DA, Otero J, Sánchez-Osuna M, Cortés P, Llagostera M. Genomics of three new bacteriophages useful in the biocontrol of *Salmonella*. *Frontiers in Microbiology* (2016). 7: 545.

Mapa circular del genoma del bacteriófago UAB_Phi87.

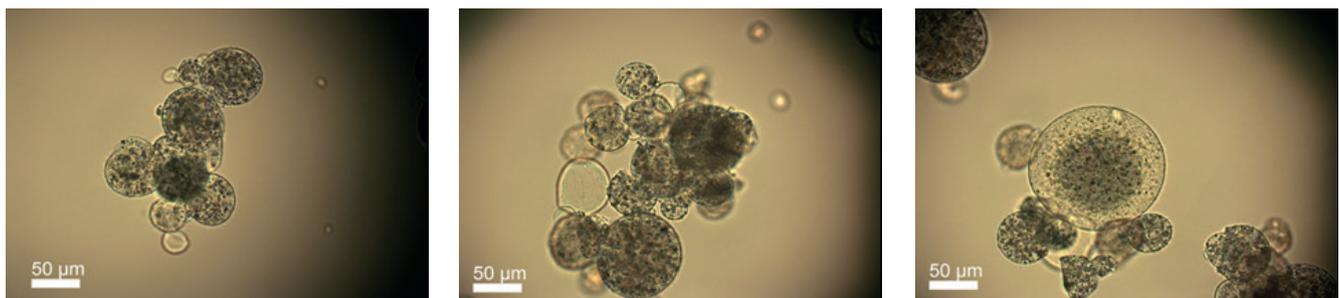
MICROENCAPSULACIÓN CON ALGINATO: UNA ESTRATEGIA DE MEJORA DE LA TERAPIA CON FAGOS

Informa: Montserrat Llagostera

Los bacteriófagos son prometedores agentes terapéuticos que pueden aplicarse en las diferentes etapas de la producción alimentaria. En este sentido, pueden ser administrados de forma oral a los animales de granja para protegerlos contra diferentes patógenos intestinales, como *Salmonella*. Sin embargo, el bajo pH del estómago, y el efecto de la bilis y las enzimas del tracto intestinal limitan su eficacia en terapia fágica. Estrategias como la encapsulación han demostrado ser útiles en la protección de los bacteriófagos contra estos efectos adversos y en el aumento de su efectividad en terapia fágica oral. Como continuación de anteriores trabajos relacionados con la encapsulación de bacteriófagos, el grupo de Microbiología Molecular del Departamento de Genética y Microbiología de la UAB, dirigido por la Dra. Montserrat Llagostera, en colaboración con el grupo Supramolecular Nanochemistry and Materials del ICN2, dirigido por el profesor ICREA Daniel Maspoch, ha desarrollado un método de microencapsulación de bacteriófagos con alginato/CaCO₃ que ha mostrado una gran eficacia en pollos de engorde comerciales, infectados experimentalmente con *Salmonella*. Este trabajo ha sido publicado recientemente en la revista *Scientific Reports*, del grupo Nature. El trabajo publicado demuestra la utilidad de un método de encapsulación con matrices de alginato/CaCO₃ adecuado para encapsular bacteriófagos con diferentes morfologías y con eficacias de encapsulación de alrededor de un 100%. Aunque el alginato ha sido utilizado anteriormente como material para encapsular bacteriófagos, esta es la primera vez que se han aplicado bacteriófagos encapsulados en alginato/CaCO₃ en terapia fágica oral. De esta forma, un cóctel de tres bacteriófagos encapsulados en alginato/CaCO₃ se administró de forma oral a pollos de engorde comerciales infectados con *Salmonella* y en condiciones parecidas a las de una granja. La encapsulación evitó la destrucción de los bacteriófagos por el jugo gástrico y permitió una mayor retención intestinal de los bacteriófagos. También se demostró la liberación de los fagos de las cápsulas cuando éstas eran incubadas en fluido intestinal simulado. El tamaño de las cápsulas (125-150 µm) es inferior al descrito hasta ahora en la bibliografía y su pequeño tamaño permite su uso en terapia oral y en otras aplicaciones en terapia con fagos.

Los resultados obtenidos permiten concluir que un cóctel formado por tres bacteriófagos líticos encapsulados con alginato/CaCO₃ muestra una eficacia mayor y más duradera que un cóctel de los mismos fagos no encapsulados como terapia oral en pollos de engorde contra *Salmonella*, uno de los patógenos alimentarios más comunes a nivel mundial.

Colom J, Cano-Sarabia M*, Otero J, Ariñez-Soriano J, Cortés P*, Maspoch D, Llagostera M. 2017. Microencapsulation with alginate/CaCO₃: A strategy for improved phage therapy. *Scientific Reports* 7:41441 | DOI: 10.1038/srep41441.



Imágenes de microscopía óptica de las microcápsulas de alginato/CaCO₃ conteniendo los bacteriófagos encapsulados.

La sección «nuestra ciencia» publica reseñas de artículos científicos producidos por nuestros socios. La extensión máxima es de 250 palabras. Envía tus reseñas a la Dirección de las revistas o al delegado de Difusión de tu Grupo Especializado.

semaforo@semicrobiologia.org
noticiasem@semicrobiologia.org

DIVERSIDAD DE COMUNIDADES HETERÓTROFAS ASOCIADAS A LAS AGUAS DE CONSUMO

Autora: Laura Sala Comorera

Directores: Dr. Anicet R. Blanch Gisbert y Dra. Cristina García Aljaro

Centro de realización: Universitat de Barcelona

El agua mineral embotellada y el agua de la red de distribución no son aguas estériles sino que contienen una gran diversidad de microorganismos. De hecho, la diversidad propia del agua de consumo ha sido poco explorada hasta el momento. El propósito de esta tesis doctoral fue contribuir al estudio de la composición y la dinámica de las comunidades microbianas de el agua mineral natural envasada y agua potable de distribución a lo largo del proceso de potabilización.

Las marcas de agua mineral tienen una huella molecular característica durante su vida comercial, lo que sugiere la posibilidad de definir un marcador molecular para su trazabilidad. El número de células viables y heterótrofos en placa experimentan cambios durante el tiempo de vida comercial en función del material de la botella.

En el ámbito del agua potable, se evaluó el uso de MALDI-TOF MS para la identificación rutinaria de las cepas aisladas en una planta de tratamiento de agua potable. La identificación por MALDI-TOF MS es una metodología útil y prometedora gracias a su robustez y a la velocidad para la identificación microbiana. El factor limitante es la falta de una base de datos de espectros adecuada para cepas ambientales.

EL EXÓMERO DE SCHIZOSACCHAROMYCES POMBE COLABORA EN EL TRÁFICO VESICULAR ENTRE EL APARATO DE GOLGI Y EL SISTEMA ENDOSOMAL

Autora: Marta Hoya Gallego

Directora: M^a Henar Valdivieso Montero

Centro de realización: Departamento de Microbiología y Genética – Universidad de Salamanca

Centro de presentación: Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG) centro mixto CSIC/USAL

A pesar de su importancia biológica, el paso del tráfico vesicular entre el aparato de Golgi y la membrana plasmática es uno de los menos entendidos del proceso de secreción. El exómero es un complejo de proteínas que participa en el tráfico entre la zona *trans* del aparato de Golgi (TGN) y la membrana plasmática en la levadura de gemación *Saccharomyces cerevisiae*. En este trabajo hemos demostrado que en *Schizosaccharomyces pombe* las proteínas Cfr1 y Bch1 constituyen la forma más simple de exómero posible. En la levadura de fisión el exómero cicla entre el TGN, los endosomas y el compartimento pre-vacuolar, mostrando que la distribución de este complejo es más amplia de lo que se sospechaba. Además, el gen *cfr1** interactúa con distintos adaptadores de clatrina, tanto APs como GGAs, que llevan a cabo funciones en estos orgánulos.

En esta tesis doctoral se ha demostrado que el exómero interactúa con adaptadores de clatrina en el tráfico a través de distintos compartimentos intracelulares y que esta interacción es importante en el mantenimiento de la integridad del sistema. Esto indica que el exómero podría participar en otros pasos del tráfico vesicular en otros organismos.

COMUNICACIÓN INTERCELULAR BACTERIANA Y SU INHIBICIÓN EN AMBIENTES SALINOS

Autora: Marta Torres Béjar

Directoras: Inmaculada Llamas Company y Emilia Quesada Arroquia

Centro de realización: Facultad de Farmacia, Universidad de Granada

Las enfermedades infecciosas que afectan a la acuicultura constituyen un serio problema en todo el mundo y causan enormes pérdidas económicas en el sector. Se ha demostrado que un gran número de bacterias patógenas poseen sistemas de comunicación intercelular de tipo quorum sensing (QS) dependientes de moléculas señal, con las que regulan la producción de factores de virulencia. Debido a ello, aunque tradicionalmente se han utilizado los antibióticos, hoy en día la alternativa más novedosa para combatir las enfermedades en la acuicultura es la interrupción de los sistemas QS de las bacterias patógenas. Entre las distintas estrategias que

existen para interferir los mecanismos QS se encuentra la degradación enzimática de las moléculas señal, conocida como quorum quenching (QQ).

En este estudio presentamos la selección y caracterización de 22 cepas con actividad QQ a partir de dos colecciones de 146 y 450 aislados marinos procedentes de criaderos de peces y moluscos de Lugo y Granada. Las cepas seleccionadas han dado muy buenos resultados en ensayos *in vivo* en moluscos y corales frente a patógenos marinos cuyas moléculas señal han sido caracterizadas por primera vez y de forma paralela en este trabajo.

En esta tesis también se ha abordado la búsqueda de enzimas QQ en ambientes salinos utilizando técnicas de ecología molecular. Así, a partir de una librería metagenómica de un suelo salino constituida por 250.000 clones se ha identificado una nueva clase de enzima QQ no relacionada con otros tipos de enzimas descritos previamente. Esta enzima ha sido probada *in vivo* frente a bacterias patógenas tanto del sector de la acuicultura como de la agricultura, y se han obtenido resultados muy prometedores.

Se reivindica así la interferencia de la comunicación intercelular bacteriana como una estrategia eficaz para combatir las enfermedades en la acuicultura y agricultura.

PATHOGENESIS AND TRANSMISSION OF LYMPHOCYSTIS DISEASE VIRUS (LCDV) IN GILTHEAD SEABREAM (*SPARUS AURATA* L.)

Autora: Estefanía Jiménez Valverde

Directores: Dr. Juan José Borrego García y Dra. Dolores Castro López

Centro de realización: Universidad de Málaga

El virus de la enfermedad de linfocistis (LCDV), familia *Iridoviridae*, es el agente causal de la enfermedad de linfocistis (LCD), una de las principales patologías descritas en las piscifactorías de dorada. Los principales objetivos de esta tesis doctoral han sido el estudio de la patogénesis del LCDV en dorada, y el establecimiento de las rutas de transmisión del mismo en larvas y alevines de esta especie.

Se han diseñado y evaluado protocolos de qPCR y RT-qPCR para la cuantificación de genomas y transcritos virales, de ICC-RT-PCR para la detección y cuantificación de virus infectivos, y de hibridación *in situ* para la detección de transcritos virales en secciones histológicas, así como un ensayo LAMP que permite la detección rápida y económica del virus en piscifactorías. Por otra parte, se han realizado estudios histopatológicos en doradas infectadas con LCDV.

Los resultados obtenidos indican que la infección por LCDV en juveniles de dorada presenta un carácter sistémico, incluso en infecciones subclínicas. Además, el curso de la infección puede ser crónico, presentando los peces una infección persistente durante un periodo de tiempo indeterminado. El LCDV presenta un tropismo muy amplio. Además de los fibroblastos de la dermis, existen células en hígado, bazo, riñón, intestino y cerebro que son capaces de soportar una infección vírica productiva. Las células permisivas para la replicación del LCDV parecen ser fibroblastos, hepatocitos y células del sistema fagocítico mononuclear. Los cambios histopatológicos asociados con la LCD aparecen en diferentes órganos de alevines de dorada, y revierten cuando los peces se recuperan de la enfermedad.

En cuanto a la transmisión del LCDV, se ha comprobado que los reproductores asintomáticos son portadores que podrían liberar partículas víricas en sus fluidos reproductivos y/o excreciones, provocando la transmisión del virus a las larvas. Además, tanto los rotíferos como los metanauplios de *Artemia* pueden actuar como vector para la transmisión del LCDV a doradas. Por último, el LCDV provoca una infección productiva en *Artemia*, al menos en las condiciones experimentales

utilizadas, lo cual extiende el rango de hospedador del LCDV a crustáceos.

DESCRIPCIÓN DE NUEVOS TAXONES BACTERIANOS ASOCIADOS A ALMEJA CULTIVADA. CARACTERIZACIÓN DE LA ESPECIE *VIBRIO TORANZONIAE* SP. NOV.

Autor: Aide Lasa González

Director: Jesús López Romalde

Centro de realización: Facultad de Biología-CIBUS, Universidad de Santiago de Compostela.

El estudio de la microbiota asociada a diferentes especies de almeja cultivada es importante, no solo para la identificación y descripción de nuevas especies bacterianas, sino también para el éxito de los cultivos, ya que permite la detección de posibles patógenos de especies con interés acuícola. Los estudios que analizan las comunidades microbianas en almejas todavía son escasos. Uno de los trabajos más extensos fue el realizado por nuestro grupo de investigación en el que se analizaron comparativamente las poblaciones microbianas asociadas a cultivos de almeja fina y japónica. Sin embargo, un número considerable de aislados no pudo ser identificado por tratarse de posibles nuevos grupos bacterianos. Sobre esta base nos propusimos los objetivos de describir algunos de estos nuevos taxones bacterianos mediante una aproximación polifásica.

De esta forma se han identificado cinco nuevos taxones bacterianos, dos de ellos miembros del género *Vibrio* (*Vibrio toranzoniae* sp. nov. y *Vibrio cortegadensis* sp. nov.), una especie del género *Lacinutrix* (*Lacinutrix venerupis* sp. nov.) y dos pertenecientes al género *Marinomonas* (*Marinomonas gallaica*

sp. nov. y *Marinomonas atlantica* sp. nov.). Además, se analizaron los genomas de tres posibles nuevas especies del género *Psychrobacter* con potencial interés en procesos de biorremediación.

En este trabajo también incluimos la primera descripción de *Vibrio toranzoniae*, asociada a mortalidades de congrio rojo en Chile, demostrando el potencial patógeno para peces de los aislados chilenos, pero no de las cepas aisladas de almeja en Galicia. El análisis genómico comparativo realizado entre la cepa tipo de la especie y un representante de los aislados chilenos mostró diferencias en diferentes factores de virulencia que permiten explicar este comportamiento, como son: los sistemas de adquisición de hierro, la producción de toxinas RTX o la capacidad para sintetizar cápsula.

El estudio de los mecanismos de persistencia de estas cepas de *V. toranzoniae* en condiciones ambientales adversas demostró que siguen estrategias diferentes. Mientras la cepa tipo entra en el estado viable no cultivable y es capaz de resucitar, la cepa representativa chilena mantiene intacta su cultivabilidad, aunque mostrando una reducción en el número de células cultivables. El análisis de la expresión de los genes *ftsZ* y *mreB* mostró una reducción en ambas cepas durante el estudio, mientras que en el gen *envZ* observamos una sobreexpresión en la cepa tipo de la especie. Este resultado indicaría que este gen cumple una función relevante en la adaptación de la bacteria al ambiente.

Los resultados obtenidos en este trabajo abren nuevos frentes para futuros trabajos en el estudio de esta especie como patógeno de peces, como puede ser la determinación del rango de hospedador o la ruta de entrada en el hospedador.

Publicación de resúmenes de Tesis Doctorales

SEM@foro publica resúmenes de Tesis Doctorales realizadas por miembros de la SEM. Deben enviarse a la Secretaría de la SEM (secretaria.sem@semicrobiologia.org) o al Director Editorial (m.sanchez@umh.es) por correo electrónico, siguiendo el formato: Título, Autor, Director(es), Centro de realización, Centro de presentación (si es distinto) y Resumen (máximo, unas 200 palabras).

SEM@foro se reserva el derecho a no publicar la información si el resumen es excesivamente largo o el tema del trabajo no guarda suficiente relación con la Microbiología.

Los resúmenes de tesis dirigidas por miembros de la SEM no serán publicados en esta sección. Se recomienda enviar a la sección "Nuestra Ciencia" un resumen de alguno de los artículos producidos por la tesis.

Informe resumen de actividades JISEM

Marzo 2017

Ignacio Belda

Departamento de Microbiología III Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid

Desde que comenzara a gestarse la idea del grupo de Jóvenes Investigadores de la SEM (JISEM), en el transcurso de la I Reunión del grupo D+D (Madrid, Septiembre de 2012), los responsables de este último en aquel momento, Montserrat Llagostera y Victor J. Cid, apoyaron su puesta en marcha y pusieron todos los medios y recursos que estaban en su mano para que “nuestra cantera” tuviera un nicho dentro de la Sociedad. JISEM nació con el objetivo de dar identidad al colectivo de jóvenes microbiólogos españoles, formalizando y dejando constancia del apoyo de la SEM al desarrollo de carreras científicas.

Para quien aún no esté familiarizado con JISEM, hasta el momento nuestras actividades se enmarcan dentro del grupo de Docencia y Difusión (D+D-SEM) como “grupo de trabajo” dentro de su estructura. El trabajo interno del grupo está dividido en función de las actividades que, hasta la fecha, llevamos a cabo. Blanca Vera (Universidad de Sevilla), se encarga de la difusión de contenidos en las redes sociales y actualización de la página web (<https://sites.google.com/site/jovenesinvestigadoressem/home>); Sergio Bárcena (Universidad de Navarra), está al cargo de las tareas comunicativas del grupo, mediante la publicación periódica “MicroJoven” en el boletín NoticiasSEM, así como en la coordinación de los Concursos de fotografía que comenzaron el pasado año; Daniel Thomas (Universidad Complutense de Madrid) se encarga del contacto y coordinación con los nuevos socios jóvenes de la SEM que ingresan, fundamentalmente, a través de los Cursos de iniciación a la investigación en Microbiología (CIIM), así como de su participación como becados en los Congresos SEM; José David Flores (Universidad de Salamanca), se ocupa

y preocupa por el desarrollo de actividades divulgativas para niveles pre-universitarios, y primeros cursos de grado; Y finalmente, Ignacio Belda (Universidad Complutense de Madrid) actúa como coordinador del conjunto de actividades y como interlocutor y representante de JISEM en la Junta Directiva de la SEM y del grupo D+D.

La intención de dar estos nombres no es otra que convertir JISEM en algo tangible, parte fundamental de la SEM, distribuida por toda España y que, tras este periodo de despegue, pretende iniciar un proceso de renovación que garantice su continuidad en el mejor estado de salud y dinamismo posibles.

A continuación, desglosaremos las actividades que hemos llevado a cabo hasta la fecha.

TRABAJO DE DIFUSIÓN EN REVISTAS SEM

En el mes de Septiembre de 2014, tras los grandes avances y el ánimo que sacamos de la II Reunión D+D (Alicante), y gracias a la generosidad de su editora (Emilia Quesada, en aquel momento), dimos comienzo a nuestra sección mensual en el boletín NoticiasSEM (MicroJoven). Esta sección, que mantenemos aún en plena actividad, recoge entrevistas, puntos de vista o reportajes sobre microbiólogos jóvenes, asociaciones científicas o iniciativas internacionales con foco en los investigadores junior. En ella hemos tenido oportunidad de conocer, entre otros, el papel de una microbióloga en primera línea de lucha contra el brote de ébola en África, la experiencia de una start-up becada por el programa de aceleración de Illumina en San

Francisco, o la organización y actividades del grupo de jóvenes científicos de la reputada revista eLife, fundada y dirigida por el Premio Nobel Randy Sheckman.

Con este artículo pretendemos dar comienzo a una sección fija en SEM@foro, de enfoque y contenido diferente al de la sección en NoticiasSEM. Esperamos que sea siempre de vuestro interés y agrado.

REDES SOCIALES

En el último año se ha procurado sistematizar la difusión de información desde nuestra página de Facebook y hemos superado ya los 630 seguidores. El grueso de información de la página se ocupa con *posts* referidos a becas, contratos y cursos, los cuales reciben un elevado número de visitas y difusión a terceros. Asimismo, hemos procurado intensificar la coordinación con la página de Facebook de la SEM y del blog Microbios&Co, por lo que el contenido en difusión de Ciencia se ha visto incrementado.

CENSO DE JÓVENES INVESTIGADORES Y REGISTRO DE NUEVOS SOCIOS:

Éste continúa siendo uno de nuestros objetivos prioritarios. Para la correcta realización y difusión de nuestras actividades a futuro es necesario conocer la población de jóvenes investigadores de la SEM (entendida esta como los socios de hasta 30 años). Sin embargo, la base de datos de socios de la SEM carece, en muchos casos, de información respecto a la fecha de nacimiento de dichos miembros por lo que estamos seguros de que aún no llegamos a toda la población JISEM. Hemos

realizado distintas campañas o llamamientos para que todos los miembros de la SEM, menores de 30 años, entren en sus cuentas de socios (a las que se accede desde la web de la Sociedad) para cerciorarse de que sus datos personales están adecuadamente completados, notificándonos en caso contrario, su modificación. Queremos agradecer en este punto la gran colaboración de Isabel Perdiguer y nuestro webmaster, Jordi Urmeneta, por su colaboración en este trabajo. Asimismo, agradecemos a todo aquel socio que proceda a completar sus datos personales en la web.

Mientras eso se soluciona, desde el año 2014, llevamos a cabo la tarea de reclutamiento de jóvenes socios procedentes de los Cursos SEM. A este respecto, tan sólo daremos cifras del último proceso de ingreso de socios becados, que tuvo lugar el pasado mes de enero de 2017. En él realizamos la campaña de estabilización de los nuevos socios (becados), provenientes del Curso SEM 2016 (Jaén), así como la gestión de su participación (como voluntarios de la Organización) en el Congreso FEMS 2017. Debido a las particularidades del Congreso de este año, los esfuerzos realizados desde JISEM para coordinar la participación de los alumnos en el Congreso, han sido mayores que otros años, concluyendo con cifras realmente satisfactorias:

- 24 de los 26 alumnos han formalizado ya su inscripción gratuita a la SEM para 2017.
- 19 de 26 alumnos del CIIM (Jaén 2016), participarán como voluntarios en FEMS
- 13 de los 19, participarán activamente en el Congreso con comunicación formato Poster.

COLABORACIÓN CON CURSOS Y CONGRESOS

JISEM mantiene, desde el año 2014 (Curso de Bilbao), colaboración con la organización de los Cursos de Iniciación a la Investigación SEM (CIIM), coordinando la realización de una actividad/ponencia de carácter transversal sobre “cómo desarrollar una carrera científica”. Tras la participación de David Pérez (INRA) y Avelino Álvarez-Ordoñez (TEAGASC), en 2014 y 2015, respectivamente, el pasado año (2016), la ponencia fue impartida por Diego Romero (último Premio Jaime Ferrán) y, como en el caso de sus predecesores, su ponencia fue de las que más interacción creó con los alumnos. Para la próxima edición del CIIM (Valencia, Julio 2017), ya se ha efectuado el contacto con su organizador (David Ruiz Arahál, Universidad de Valencia) para la coordinación de esta actividad, y la encargada de dar la correspondiente ponencia será la Dra. Mireia Coscolla (recientemente agraciada con un Contrato Ramón y Cajal, que la traerá de vuelta de su trabajo postdoctoral en Suiza).

Asimismo, con el esfuerzo de Inés Arana en la organización del pasado Congreso D+D (Bilbao, Julio 2016), pudimos llevar a cabo una nueva sesión (mesa redonda) de Jóvenes Investigadores, con el foco en el papel de los jóvenes en la docencia universitaria. Esta mesa redonda dio pie a debate e interacción entre los asistentes al Congreso bastante debate. El origen de esta sesión, cuya organización se reserva a JISEM, tiene origen en la 2ª Reunión D+D (Alicante, 2014) y esperamos poder seguir coordinándola.

Respecto al papel de JISEM en el Congreso FEMS 2017, al margen de la gestión de

la participación de los alumnos CIIM-SEM, hemos podido contribuir a la organización de la sesión “Engage your audience!” coordinada por Massimo Caine (Suiza). Esta actividad, que sigue el formato de “Tesis en 3 minutos”, pretende promover las habilidades comunicativas de los jóvenes investigadores y, junto con actividades de *mentoring*, son algunas de las posibilidades que se barajan para futuros Congresos nacionales SEM o de Grupos Especializados, a los cuales tendemos la mano en la organización de este tipo de sesiones.

RENOVACIÓN Y CONTINUIDAD DE JISEM

La continuidad en el tiempo de JISEM, ha sido algo que desde el principio ha preocupado tanto a la Junta Directiva de la SEM como a los propios integrantes de JISEM. Si bien contamos aún con 3-4 años de margen hasta que el último de los miembros actuales activos de JISEM, deje de ser considerado “joven”, somos conscientes de que la renovación ha de ser progresiva y dar comienzo ya mismo. Por ello, con el comienzo del nuevo año, 2 nuevos investigadores predoctorales se integran activamente al grupo desde las universidades de Salamanca y Navarra que, progresivamente, irán integrándose en las distintas tareas de JISEM para que conozcan al completo los objetivos y puedan continuar con ellos y, por qué no, mejorarlos.

Agradeceremos que compartáis con nosotros cualquier opinión, sugerencia o duda a través de nuestro correo electrónico jovenesinvestigadoressem@gmail.com.

Nuevos socios de la SEM

- Abdullah, Iman
- Acosta García, Fermín
- Acosta Jurado, Sebastián
- Afonso Lages, Marta Carolina
- Agirregomoskorta Sevilla, Iker
- Agudo Algibe, Lucía
- Aguirre Garrido, José Félix
- Akgül, Ózer
- Alba, María del Mar
- Alcalde Rico, Manuel
- Alonso Conde, Rafael Alejandro
- Amoozegar, Mohammad Ali
- Anoz Carbonell, Ernesto
- Aragón Herrera, Alana
- Arce Rodríguez, Alejandro
- Arora, Natasha
- Asensio Calavia, Alejandro
- Ayala Suárez, Ruben
- Baeza Lara, Nicolás
- Ballester Frutos, Ana Rosa
- Ballesteros Perdices, Mercedes
- Bañares España, Elena
- Barahona Marín, Emma
- Barbarroja Ortiz, Paula
- Baselga Cervera, Beatriz
- Bastet, Lauréne
- Beamud Aranguren, Beatriz
- Berdejo Martínez, Daniel
- Bes Fustero, M^a Teresa
- Blanco Romero, Esther
- Blanco Torres, Paula
- Borthakur, Madhusmita
- Bravo Santillana, María
- Bueno Arribas, Miranda
- Cabrera Rodríguez, Juan José
- Camacho Soguero, Isabel
- Camino Martínez, Tamara
- Carazo Ferrandis, Pau
- Cárcel Márquez, Jara
- Caro Astorga, Joaquín
- Casanova Ferrer, Franc
- Casas Martínez, Leonor
- Castro Rodríguez, M^a Rosario
- Cedillo Martin, Carlota
- Cerna Vargas, Jena Paul
- Chapategui González, Itziar
- Cordero Bueso, Gustavo
- Corral Sábado, Jordi
- Cutillas Barrios, Cristina
- De Benito Armas, Ampara
- de la Fuente Hidalgo, Javier
- del Cerro Sánchez, Pablo
- Diaz Jiménez, Dafne
- Domínguez Maqueda, Marta
- Dorado Morales, Pedro Luis
- Durán Vargas, Roberto Eduardo
- Espinosa Taxis, Alejandra Paula
- Estrada García, Teresa
- Fàbregas Càmara, Francesc
- Fernández García, Bárbara Victoria
- Fernández Lanza, Val
- Fernández Llamosas, Helga
- Fernández Navarro, Julián
- Fernandez Otal, Angela
- Fernandez Pelayo, Adriana Uxo
- Fernández Santos, Julia
- Ferrer García, María Desamparados
- Fillat Castejón, María Francisca
- Fillol Salom, Alfred
- Flórez García, Ana Belén
- Funosas Planas, Gerard
- Gago Córdoba, César
- Galán Vidal, Jesús
- García Calvo, Laura
- García de Viedma, Dario
- García Ferris, Carlos
- García González, Neris
- García i Garcerà, Marc
- García Meniño, Isidro
- García Tomsig, Natalia Isabel
- Gazi, Khaled
- Gil Diez, Patricia
- Gimeno Pérez, María
- Giner Lamia, Joaquín
- Gómez Gil, Elisa
- Gómez Moreno, Andoni
- González Candelas, Luis
- Gonzalez Candelas, Fernando
- González Delgado, Alejandro
- González Gálvez, Belinda
- González Martínez, Ignacio
- González Rubio, Gema
- Gudiño Gomezjurado, Marco Esteban
- Guevara Acosta, Flor Govinda
- Guivernau Ribalta, Miriam
- Gurnani Serrano, Carlos Karan
- Gutiérrez Chamorro, Lucía
- Hamou Segarra, Myriam
- Hortelano Martín, Irene
- Hueso Gil, Ángeles
- Hurtado Ruiz, Mónica Asunción
- Ibáñez Sánchez, Ana María
- Iglesias Vilches, Alba
- Infanzón Ramos, Belén
- Isaac, Sandrine
- Jaén Luchoro, Daniel
- Jamil, Isha
- Jiménez Leiva, Andrea
- Kalita, Debajit
- Kidibule, Peter Elias
- Labella Sanfrutos, Jose Ignacio
- León Mediavilla, Javier
- Llamas Lorente, Marian
- Llopis Grimalt, Maria Antonia
- Llorens Fons, Marta
- Llosa Blas, Matxalen
- Lohberger, Andrea
- López López, Arantxa
- López Serrano, Sergi
- Magno Pérez-Bryan, M. Concepción

Altas desde el 04/11/2016 hasta 24/05/2017

Nuevos socios de la SEM

- Manoli, María-Tsampika
- Manzanares Secades, Paloma
- Marina Moreno, Alberto
- Martín Clemente, Elena
- Martín Quijada, Narciso
- Martínez Castillo, Alexandre
- Martínez Gutiérrez, Marlen
- Martínez Martínez, Daniel
- Martínez Navajas, Gonzalo
- Martínez Pascual, Eulalia
- Mata Lozano, Elena
- Mejía Castañeda, María Lorena
- Melero Jiménez, Ignacio José
- Menasria, Taha
- Méndez Camus, Valentina
- Méndez Lítez, Juan Antonio
- Menendez Serra, Mateu
- Millach Carrobé, Laia
- Mingo Casas, Patricia
- Molina Gutiérrez, María
- Monforte Mercado, Sergi
- Moreno García, Antonio David
- Moreno Mesonero, Laura
- Moreno Trigos, Yolanda
- Morro Chávez, Ana
- Mulas García, Rebeca
- Muñoz Calvo, Sara
- Muñoz Benavent, María
- Navarro García, Federico
- Nogacka, Alicja Maria
- Novosak, Marina Gisel
- Ocejo Sianturi, Ines Medelina
- Oliva Melguizo, Coral
- Olivares Pacheco, Jorge Andrés
- Ortiz Álvarez, Rüdiger
- Oves Costales, Daniel
- Pacheco Márquez, Pedro José
- Palau de Miguel, Montserrat
- Palmieri, Fabio
- Pastor García, Yadira
- Peigneux Navarro, Ana
- Pellón Rodríguez, Aize
- Peralta Sánchez, Juan Manuel
- Pérez Delgado de Torres, Carmen María
- Pérez Santonja, Rut
- Pérez Varela, María
- Perona Vico, Elisabet
- Pico Sánchez, Eva
- Pintado Calvillo, Adrián
- Pla Díaz, Marta
- Porta Banderas, Sonia
- Quirós Fernández, Pablo
- Ramírez Saad, Hugo César
- Ramón García, Santiago
- Reina Cabello, José Carlos
- Rey Marino, Alejandra
- Reyes Prieto, Bertha Mariana
- Roca Pinilla, Ramon
- Rodríguez Beltrán, Jerónimo
- Rodríguez Matamoros, Bosco
- Rodríguez Melcón, Cristina
- Roig Molina, Emma
- Rosas Pérez, Tania
- Rosier, Bob
- Rubio Zamora, Vicente
- Rudilla Mateo, Héctor
- Ruiz García, Lorena
- Ruiz Hueso, Paula
- Ruiz Roldán, Lidia
- Ruiz Ruiz, Susana
- Ruiz Saenz, Julian
- Ruiz Sánchez, Josep
- Ruiz Sorribas, Albert
- Salor Torregrosa, José María
- Sánchez Costa, Mercedes
- Sánchez de la Nieta Moreno, Ricardo
- Santos Garcia, Diego
- Santos Torres, Beatriz
- Sanz Mata, David
- Sanz Sáez, Isabel
- Sapmaz, Burcu
- Sarasa Buisán, Cristina
- Scheu, Ann-Karolin
- Seeger Pfeiffer, Michael
- Serna Bernaldo, Carlos
- Serrano Bacallao, Rachel
- Sevilla Miguel, Emma
- Sevillano Peña, Elena
- Shukla, Livleen
- Silva Moreno, Francisco J.
- Simancas Sánchez, Alfredo
- Soenens Martínez de Murguía, Amalia
- Solana Guillén, Rafael
- Solvas Cortés, David
- Su, Ying
- Subirats Medina, Jessica
- Supek, Fran
- Tarancón Iñiguez, Raquel
- Tavio Pérez, M^a del Mar
- Tello Lancho, Maitane
- Toral Navarro, Laura
- Tormo Beltrán, José Rubén
- Triadó Margarit, Xavier
- Ubeda Morant, Carles
- Val Calvo, Jorge
- Valenzuela Agui, Cecilia
- Valenzuela Naveda, Myriam Victoria
- Valls i Matheu, Marc
- Vargas Chávez, Carlos
- Vázquez Iglesias, Lucía
- Vázquez Marín, Beatriz
- Vega Mendoza, Daniel Edgar
- Vesga Pérez, Fidson Juarismy
- Vicedo Jover, Begonya
- Vígara Astillero, Gonzalo
- Vinardell González, Jose Maria
- Viñas Canals, Marc
- Zornoza Zornoza, Andrés Miguel
- Zurita Carrasco, Antonio

Altas desde el 04/11/2016 hasta 24/05/2017

Research Topic sobre Taxonomía, Filogenia y Biodiversidad Microbianas en la revista *Frontiers in Microbiology*

Jesús López Romalde

Presidente del Grupo Especializado Taxonomía, Filogenia y Biodiversidad

Como se había informado anteriormente a través de diferentes canales de nuestra sociedad, gracias a una invitación realizada al presidente del Grupo Especializado, la revista *Frontiers in Microbiology* tiene en marcha un *Research Topic*, coordinado por los Drs. Jesús López Romalde, Sabela Balboa y Antonio Ventosa, sobre *Taxonomía, Filogenia y Biodiversidad Microbianas*. Creemos sinceramente que la participación en dicha publicación puede dar visibilidad internacional a nuestro Grupo Especializado y, por extensión a la Sociedad, por lo que esperamos que la propuesta tenga una buena acogida por parte de los distintos grupos de investigación implicados.

A algunos de vosotros os habrá llegado una invitación de la editorial, pero cualquier miembro de la SEM que esté interesado puede enviar un manuscrito asociándolo en la plataforma online a este *Research Topic*.

Podéis encontrar información más completa sobre esta publicación especial en el siguiente enlace: <http://journal.frontiersin.org/researchtopic/5493/microbial-taxonomy-phylogeny-and-biodiversity>.

Os animo a que participéis y consigamos todos juntos que esta iniciativa sea un éxito.

PRÓXIMOS CONGRESOS NACIONALES E INTERNACIONALES

CONGRESO	FECHA Y LUGAR	ORGANIZADOR/ES	WEB
7th Congress of European Microbiologist (FEMS 2017). 26th Congress of the Spanish Society for Microbiology	9-13 julio 2017 Valencia (España)	Bauke Oudega Antonio Ventosa	http://www.fems-microbiology2017.kenes.com
IUMS 2017 Singapore. International Union of Microbial Societies	17-21 julio 2017 Singapur	Rosalba Lagos Paul Young Gustavo Goldman	http://www.iums2017singapore.com
20th International Congress on Nitrogen Fixation	3-7 septiembre 2017 Granada (España)	M ^a Jesús Delgado	http://20icnf.congresosgestac.com/en/
5th Conference on exploring the edge of bacterial life	6-8 septiembre 2017 Viena (Austria)	Alexander Kirschner Clemens Kittinger Gernot Zarfel	http://oeghmp.at/events/hdid2017
ProkaGENOMICS 2017: "7th European Conference on Prokaryotic and Fungal Genomics"	19-22 septiembre 2017 Göttingen (Alemania)	Rolf Daniel Michael Hecker Alfred Pühler	http://www.prokagenomics.org
10th International Conference on Predictive Modelling in Food (ICPMF10)	26-29 septiembre 2017 Córdoba (España)	Fernando Pérez-Rodríguez Antonio Valero Elena Carrasco	http://www.icpmf10.com
Workshop Metawater Project: Lessons learned for improving the safety of irrigation water in Europe	10 octubre 2017 Munich (Alemania)	Christiane Höller	http://www.lgl.bayern.de
ASM Conference "Vibrio2017: The Biology of Vibrios"	12-15 noviembre 2017 Chicago (EEUU)	Karl R. Klose Karla Satchell	http://conferences.asm.org/
XVI workshop MRAMA	21-24 noviembre 2017 Barcelona (España)	Josep Yuste Puigvert Marta Capellas Puig	http://jornades.uab.cat/workshopmrama
Ecology of Soil Microorganisms 2018	17-21 junio 2018 Helsinki (Finlandia)	Taina Pennanen Hannu Fritze Petr Baldrian	https://www.lyyti.fi/p/ESM2018_9358
FoodMicro Conference 2018: 26th International ICFMH Conference-FoodMicro	3-6 septiembre 2018 Berlín (Alemania)	Herbert Schmidt Barbara Becker Thomas Alter	http://www.foodmicro2018.com
VII Congreso Nacional de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana	6-10 junio 2018 Cádiz		



International Biodeterioration & Biodegradation Society

The 17th Triennial International Biodeterioration and Biodegradation Symposium

September 6th - 8th 2017

Manchester Metropolitan University
Manchester, UK



The 17th International Biodeterioration & Biodegradation Symposium brings together scientists, academics and industry with the theme “*Preservation & Protection of Materials*” and sessions on:

- Antiadhesive Surfaces
- Antimicrobial Surfaces
- Biocides
- Biocorrosion
- Biodegradation
- Biofilms and Biofilm Control Strategies
- Bioremediation
- Constructional Materials and Paints
- Cultural Heritage/Cultural Property
- Decontamination
- Emerging Topics
- Fuels and Lubricants
- Modern Investigative Methods
- Pharmaceuticals

Full details at www.ibbs17.org.

Submission of Abstracts: Oral presentations will be 20 minutes long with a session of short, 10 minute, papers for young scientists and researchers to present “work in progress”.

Online submissions for oral and poster papers - www.ibbs17.org/abstracts.

Poster competition with prizes!

Registration: Reduced registration rates before 1st July and for IBBS members and young scientists – www.ibbs17.org/registration.

Assistance with Registration & Travel

Costs: Financial assistance, especially for young and early career scientists, available through IBBS 17’s support by FEMS - www.ibbs17.org/fems.

Conference Dinner: The conference dinner, at only £30, takes place at the prestigious and historic Midland Hotel, Manchester - guest speaker Prof. Joanna Verran of Manchester Metropolitan University. See - <http://www.ibbs17.org/dinner>.

Sponsorship: Sponsorship enables us to support young/early years scientists and we are very grateful to those organisations supporting IBBS 17. If your company would like to join them please see www.ibbs17.org/sponsors. There will be an associated sponsors’ exhibition.

Our Sponsors:



The City of Manchester Town Hall



www.ibbs17.org

FEMS 2017

7TH CONGRESS OF EUROPEAN MICROBIOLOGISTS

JULY 9-13, 2017 VALENCIA, SPAIN



In Association with  **SEM** | 26th Congress of the Spanish Society for Microbiology

www.fems-microbiology2017.kenes.com