

Biotecnología Microbiana de origen bioquímico

BARREIRO C.; BARRERO M.; BORREGO M.; CARBALLO D.; CARRACEDO B.; CASQUEIRO F.J.; CENDÓN M.; CHAMIZO-AMPUDIA A.; CRUGEIRAS M.; FERNÁNDEZ-ANDRÉS E.; FERNÁNDEZ-CAÑÓN J.M.; FERRERO M.A.; GARCÍA-ARMESTO M.R.; GARCÍA-BARRIO A.; GARRIDO-CHAMORRO S.; GOHLAMIAN-POUR S.; LUENGO J.M.; MARTÍNEZ J.L.; MARTÍNEZ-BLANCO H.; MIÑAMBRES B.; NAVASA N.; OLIVERA E.R.; PÉREZ-VILLA O.; RODRÍGUEZ-APARICIO L.; RÚA F.J.; SAN MARTÍN M.I.; SANCHIZ A.; VASCO-CÁRDENAS M.F.

Área Bioquímica y Biología Molecular; Dpto. Biología Molecular; Facultad de Veterinaria; Universidad de León; Campus de Vegazana s/n; 24007 León (Spain).

✉ c.barreiro@unileon.es



Personal del Área de Bioquímica y Biología Molecular de la ULe (de izqda. a dcha.): M^o Fernanda Vásco; Leandro B. Rodríguez; Honoria Martínez; Águeda García; Sogan Gohlamian; Sonia Garrido; África Sanchiz; Elías R. Olivera; Carlos Barreiro; José M. Luengo; M^o Rosario García; F. Javier Rúa; Miguel Á. Ferrero; F. Javier Casqueiro; Eduardo Fernández; Marta Cendón; Diana Carballo; Alejandro Chamizo; María Crugeiras; Omar Pérez; José L. Martínez.

El Área de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de León (ULE) está adscrita al Departamento interfacultativo de Biología Molecular, junto con las áreas de Microbiología, Genética y Biología Celular. Su ámbito docente comprende asignaturas de diferentes Grados que se

imparten en las facultades de Veterinaria, Biología y Ciencias Ambientales, y Ciencias de la Salud, entre otras, pertenecientes a los Campus de León y Ponferrada. El personal docente e investigador del Área lo componen: un Profesor Emérito, tres Catedráticos de Universidad, cuatro Titulares

de Universidad, dos Profesores Contratados Doctores, dos Profesores Ayudantes Doctores, un Técnico Superior, varios contratados predoctorales y postdoctorales, alumnos de TFM y TFG, así como personal técnico de gestión y de administración y servicios y personal auxiliar contratado

(ver Foto de grupo). Como resultado de su actividad investigadora se han publicado más de 250 artículos científicos, recogidos en las revistas más importantes de diferentes áreas de conocimiento. Adicionalmente, se han editado una veintena de libros y monografías; se han realizado numerosas patentes de invención y, en los últimos 36 años, se han defendido más de 50 Tesis doctorales. A la financiación de esa investigación han contribuido diversas empresas, así como diferentes entidades locales, provinciales, regionales, nacionales e internacionales. Como resultado de su labor, la Junta de Castilla y León ha reconocido dentro del Área dos Unidades de Investigación Consolidadas (UIC 229, UIC 230).

Además de las tradicionales líneas de investigación relacionadas con la producción de antibióticos, purificación y caracterización de enzimas del metabolismo intermediario de hongos filamentosos, obtención de carotenoides, caracterización de microorganismos ambientales, o taxonomía bacteriana, nuevas líneas se han incorporado al Área como se describen a continuación. Éstas se pueden dividir principalmente en dos actividades: **i)** degradación y/o mejora de compuestos recalcitrantes (p. ej.: plásticos), y **ii)** salud humana.

Biotechnología de *Pseudomonas*

La investigación en *Pseudomonas* se inició al integrarse el Prof. José M. Luengo en la Universidad de León. Actualmente, el grupo BIODEG se encuentra bajo la dirección del Prof. Elías R. Olivera con la participación de los Profesores Carlos Barreiro Méndez y Alejandro Chamizo Ampudia. La aplicabilidad biotecnológica de los resultados y su transferencia a diversas empresas interesadas ha sido uno de los objetivos del grupo, lo que se refleja en sus patentes. Inicialmente, la investigación de *Pseudomonas* se centró en el estudio y análisis



Aislamiento ambiental de posibles microorganismos degradadores de compuestos epoxídicos termoendurecibles.

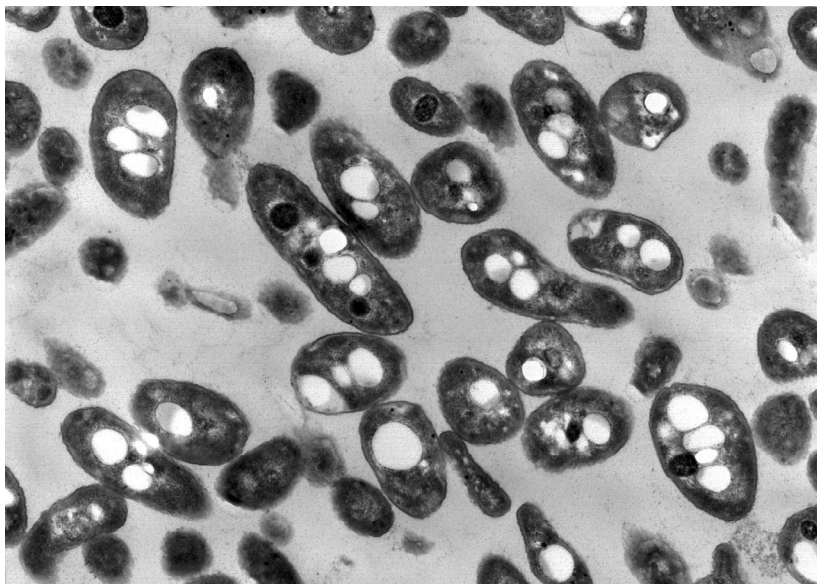
del potencial biotecnológico de las bacterias pertenecientes a este género, debido a su gran plasticidad genética y metabólica, siendo capaces de degradar compuestos aromáticos, algunos de ellos xenobióticos, alcanos, aminas biogénicas y ácidos grasos. Así, se han caracterizado rutas metabólicas no descritas previamente, como la ruta para la degradación en aerobiosis del ácido fenil-acético, la ruta para el catabolismo de histamina, la convergencia metabólica de la degradación de feniletilamina y otros compuestos en el catabolón del ácido fenilacético, de la tiramina en la ruta del ácido homoprotocatéuico y del ácido 3-hidroxifenilacético en la ruta del ácido homogentísico. Adicionalmente, se ha investigado la producción de ácidos polihidroxialcanoicos en cepas de *Pseudomonas putida*, de las que se han conseguido tanto mutantes superproductores como poliésteres bacterianos biodegradables conteniendo monómeros exóticos. Actualmente, se están llevando a cabo estudios sobre la **degradación de plásticos de origen petroquímico** por distintos modelos bacterianos. En este sentido, el grupo está financiado por el proyecto nacional ABERPLAS [MCIN (Ministerio de

Ciencia e Innovación) y la AEI (Agencia Estatal de Investigación)].

En el ámbito de la salud, aunque no parece ser una capacidad propia de este género, se han aislado cepas de *P. putida* capaces de **degradar esteroides** con gran eficiencia. También se ha observado la capacidad de estas cepas para la degradación de ácidos biliares y de hormonas androgénicas a través de la ruta 9,10-seco de degradación de esteroides, la cual está siendo completamente caracterizada. Actualmente, la investigación sobre la degradación de aminas biogénicas se está desarrollando dentro del proyecto LE250P20, financiado por la Junta de Castilla y León.

Compuestos plásticos funcionales

La microbiología industrial y la biotecnología microbiana implican el uso de microorganismos para la síntesis de diferentes productos, así como para su degradación. Por ello, el grupo del Prof. Barreiro está centrando su actividad en el uso de



Pseudomonas putida U acumulando polihidroxicanoatos cuando es cultivada en medio mínimo con octanoico (10 mM) y ácido 4-hidroxifenilacético (20 mM) como fuentes de carbono.

microorganismos para estos fines biotecnológicos. En este contexto se encuadran dos de los proyectos que actualmente se desarrollan en el Área. Por una parte, el **proyecto Europeo ESTELLA** (<https://estellaproject.eu/>) de la convocatoria *Horizon Europe*, que aborda el problema de la degradación y el reciclado de los compuestos **epoxídicos termoendurecibles**. Éstos se utilizan actualmente por sus características funciones (ligereza, flexibilidad, ...) en diferentes sectores industriales (aeronáutico, automoción, construcción, ...), pero no presentan un proceso de reciclado definido. Así, por una parte, se pretende desde el inicio del proceso productivo el rediseño de estos compuestos para facilitar el reciclado después de su vida útil; mientras que, por otra parte, se buscan y caracterizan microorganismos o actividades enzimáticas implicados en la degradación de la matriz epoxídica o de las fibras de refuerzo que componen estos materiales.

A lo largo de los últimos años diferentes proyectos se han llevado a cabo centrados en la obtención de compuestos plásticos funcionales, que son aquellos que han sido modificados o tratados para tener características específicas. Así, actualmente el **proyecto nacional BioPAC**, financiado por el MCIN y la AEI, busca la obtención de plásticos de *mulch*, utilizados en plas-

ticultura por su capacidad para retener la humedad, retrasar la aparición de malas hierbas y controlar la degradación del suelo, pero que tengan características funcionales de interés como: **i)** una degradación más rápida mediante el uso de microorganismos de la rizosfera, o **ii)** la integración de compuestos naturales que sustituyan o disminuyan el uso de pesticidas de origen químico.

Probióticos y antioxidantes

Los estudios acerca de la funcionalidad de las cepas tipo-probiótico (bacterias ácido-lácticas, principalmente) bajo condiciones fisiológicas gastrointestinales simuladas, así como por el estudio del efecto de compuestos fenólicos y extractos vegetales sobre bacterias tipo probiótico y sobre microorganismos patógenos y alterantes de alimentos, ha centrado los intereses investigadores de los doctores María Rosario García Armesto y Francisco Javier Rúa Aller. En particular, se ha comprobado la variación en actividades enzimáticas de interés para la salud humana como antioxidantes (reducción del estrés oxidativo debido a la acumulación de especies de oxígeno reactivo, ROS) y en un futuro,

se seguirán estudios sobre el efecto de aditivos alimentarios (incluidos edulcorantes naturales y sintéticos) en la supervivencia de bacterias probióticas. Junto a ello, se ha investigado la actividad antimicrobiana y/o potenciadora del crecimiento de bacterias probióticas, de compuestos fenólicos simples y de extractos vegetales de forma individual y en combinaciones binarias en medios de cultivo no selectivos y selectivos, así como en diferentes alimentos (carne, leche y zumos de frutas). Uno de los objetivos de tales trabajos consistió en la búsqueda de efectos sinérgicos (microbianos y antioxidantes) de combinaciones de fenoles simples y de alguno de estos con extractos vegetales. Los resultados de estas investigaciones se han venido publicando, desde el año 2010, en revistas relevantes en las áreas temáticas de "Tecnología y Ciencia de los Alimentos" y "Microbiología".

Microbioma y celiacía

La integridad de nuestros tejidos es continuamente desafiada por infecciones intracelulares causadas por virus y bacterias. En respuesta, la inmunidad mediada por células Th1 y linfocitos T citotóxicos residentes en el tejido, se encarga de eliminar las células infectadas y promover la reparación epitelial, a la vez que evita la destrucción indiscriminada de tejidos. Sin embargo, esta participación conjunta de la inmunidad también está asociada al desarrollo de procesos autoinmunes y destrucción tisular. La enfermedad celíaca es una enfermedad inflamatoria autoinmune asociada al intestino delgado y que se desencadena en personas con predisposición genética que previamente han perdido la tolerancia oral al gluten. La atrofia vellositaria implica la pérdida de las vellosidades intestinales como resultado de un ataque del propio sistema inmune a las células epiteliales intestinales, y su presencia o ausencia sirve para clasificar a la enfermedad celíaca como activa o potencial, respectivamente.

te. El desarrollo de la atrofia vellositaria requiere la expresión de IL-15 tanto en la lámina propia como en el epitelio intestinal. La cooperación entre la sobreexpresión de IL-15 en la lámina propia inducida por el gluten y en el epitelio activa los linfocitos T citotóxicos que desencadenan el ataque a las células epiteliales intestinales. Sin embargo, se desconocen completamente los factores que provocan la sobreexpresión de IL-15 en el epitelio intestinal. En este sentido, patógenos intracelulares como *Mycobacterium*, *Listeria* o numerosos virus inducen la expresión de IL-15 en las células estresadas infectadas. El grupo del Dr. Navasa trata de identificar microorganismos agresivos asociados a los pacientes celíacos con atrofia vellositaria para analizar su papel en la inducción de IL-15 y la destrucción tisular. Actualmente estas investigaciones se desarrollan dentro de la UIC 229 de la Junta de Castilla y León, y el grupo Celiaquía de la ULe (Dir. Leandro B. Rodríguez).

Referencias

- Barreiro, C. y Ibáñez, A.M.** (2023) 'Bidimensional Analyses of the Intra- and Extracellular Proteomes of Steroid Producer Mycobacteria', in Barreiro C and J.L. Barredo (eds), *Microbial Steroids: Methods and Protocols*. Humana Press, New York, NY, pp. 115–141. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3385-4_7
- Chamizo-Ampudia, A.; Getino, L.; Luengo, J.M.; Olivera, E.R.** (2023) 'Isolation of Environmental Bacteria Able to Degrade Sterols and/or Bile Acids: Determination of Cholesterol Oxidase and Several Hydroxysteroid Dehydrogenase Activities in *Rhodococcus*, *Gordonia*, and *Pseudomonas putida*', in Barreiro C and J.L. Barredo (eds) *Microbial Steroids: Methods and Protocols*. Humana Press, New York, NY, pp. 25–42. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3385-4_2
- Getino, L.; Chamizo-Ampudia, A.; Martín, J.L.; Luengo, J.M.; Barreiro, C.; Olivera, E.R.** (2023) 'Specific Gene Expression in *Pseudomonas putida* U Shows New Alternatives for Cadaverine and Putrescine Catabolism', *Genes*, 14(10), p. 1897. Available at: <https://doi.org/10.3390/genes14101897>
- Ibáñez, A.; Garrido-Chamorro, S.; Coque, J.J.R.; Barreiro, C.** (2023) 'From Genes to Bioleaching: Unraveling Sulfur Metabolism in *Acidithiobacillus* Genus', *Genes*, 14(9), p. 1772. Available at: <https://doi.org/10.3390/genes14091772>
- Ibáñez, A.; Barreiro, C.; Diez-Galán, A.; Cobos, R.; Calvo-Peña, C.; Coque, J.J.R.** (2023) 'Molecular Identification and Acid Stress Response of an *Acidithiobacillus thiooxidans* Strain Isolated from Rio Tinto (Spain)', *International Journal of Molecular Sciences*, 24(17), p. 13391. <https://doi.org/10.3390/ijms241713391>
- Ibáñez, A., Garrido-Chamorro, S. and Barreiro, C.** (2023) 'Microorganisms and Climate Change: A Not so Invisible Effect', *Microbiology Research*, 14(3), pp. 918–947. <https://doi.org/10.3390/microbiolres14030064>
- Luengo, J.M. and Olivera, E.R.** (2023) 'Identification and Characterization of Some Genes, Enzymes, and Metabolic Intermediates Belonging to the Bile Acid Aerobic Catabolic Pathway from *Pseudomonas*', in Barreiro C and J.L. Barredo (eds), *Microbial Steroids: Methods and Protocols*. Humana Press, New York, NY, pp. 51–83. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3385-4_4
- Velasco-Rodríguez, Ó.; Fil, M.; Heggeset, T.M.B.; Degnes, K.F.; Becerro-Recio, D.; Kolsaková, K.; Haugen, T.; Jønsson, M.; Toral-Martínez, M.; García-Estrada, C.; Sola-Landa, A.; Josefsen, K. J.; Sletta, H. Barreiro, C.** (2022) 'Characterization of Microbial Diversity in Decayed Wood from a Spanish Forest: An Environmental Source of Industrially Relevant Microorganisms.', *Microorganisms*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061249>
- Barreiro, C. y Barredo J.L.** (2021) 'Worldwide clinical demand for antibiotics: is it a real countdown?', in Barreiro C and J.L. Barredo (eds), *Antimicrobial Therapies: Methods and Protocols*. Humana Press, New York, NY, pp. 3–15. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1358-0_1
- Fernández-Pérez S, Pérez-Andrés J, Gutiérrez S, Navasa N, Martínez-Blanco H, Ferrero MÁ, Vivas S, Vaquero L, Iglesias C, Casqueiro J, Rodríguez-Aparicio LB.** (2020) The Human Digestive Tract Is Capable of Degrading Gluten from Birth. *Int J Mol Sci*. 21(20), p. 7696. <https://doi.org/10.3390/ijms21207696>
- Barreiro, C. y Barredo, J. L.** (2018) 'Carotenoids production: a healthy and profitable industry', in C. Barreiro and J. Barredo (eds) *Microbial Carotenoids: Methods and Protocols*. New York, NY: Springer Science+Business Media, pp. 45–55. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8742-9_2
- Gutiérrez S, Pérez-Andrés J, Martínez-Blanco H, Ferrero MA, Vaquero L, Vivas S, Casqueiro J, Rodríguez-Aparicio LB.** (2017) The human digestive tract has proteases capable of gluten hydrolysis. *Mol Metab*. 6(7):693-702. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.05.008>

.....