

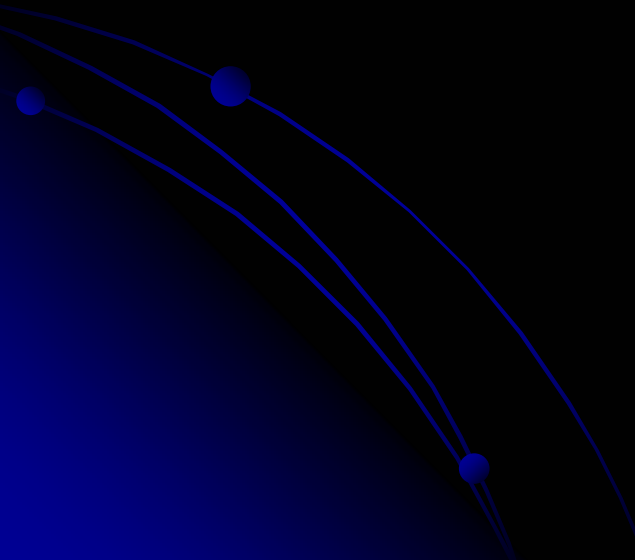
Las bacterias como fábricas de proteínas



Obtención de la proteína
nucleadora del hielo

Introducción

- Las proteínas nucleadoras son producidas por algunas bacterias Gram-negativas que promueven la nucleación del hielo. Actúan alineando las moléculas del agua a lo largo de repeticiones de dominios de 48 aminoácidos, que consisten en 16 residuos repetidos conteniendo el octámero conservado AGYGSTxT.
- Presentan un elevado interés comercial en la industria del frío, utilizándose actualmente en la producción de nieve artificial.



Características de la proteína

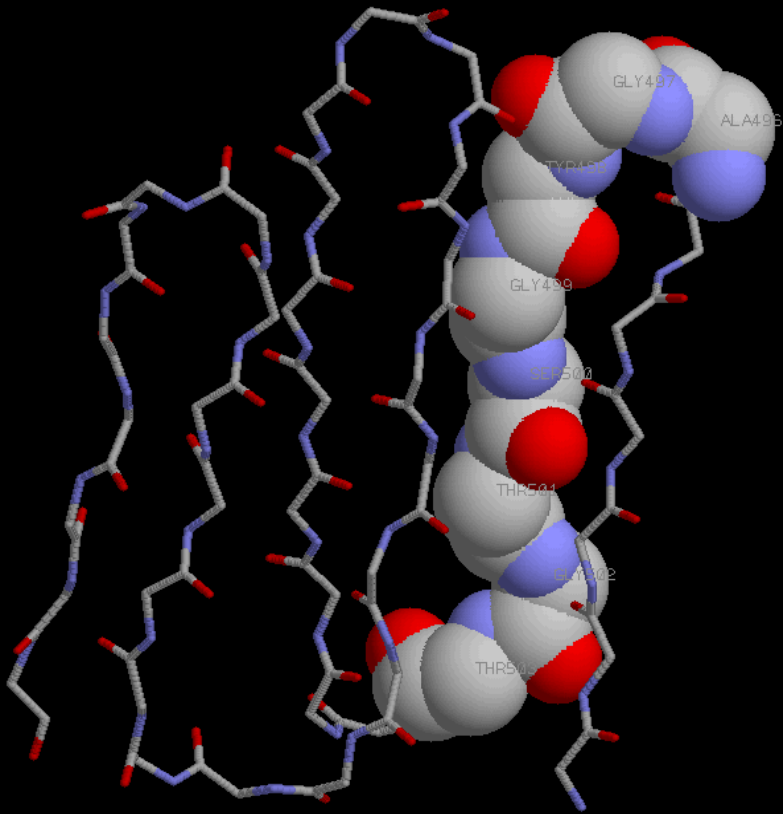


Fig. 1. Representación 3D de la sección repetitiva de 8 octámeros. Se representan 3 secciones correspondientes a los residuos (490 al 535).

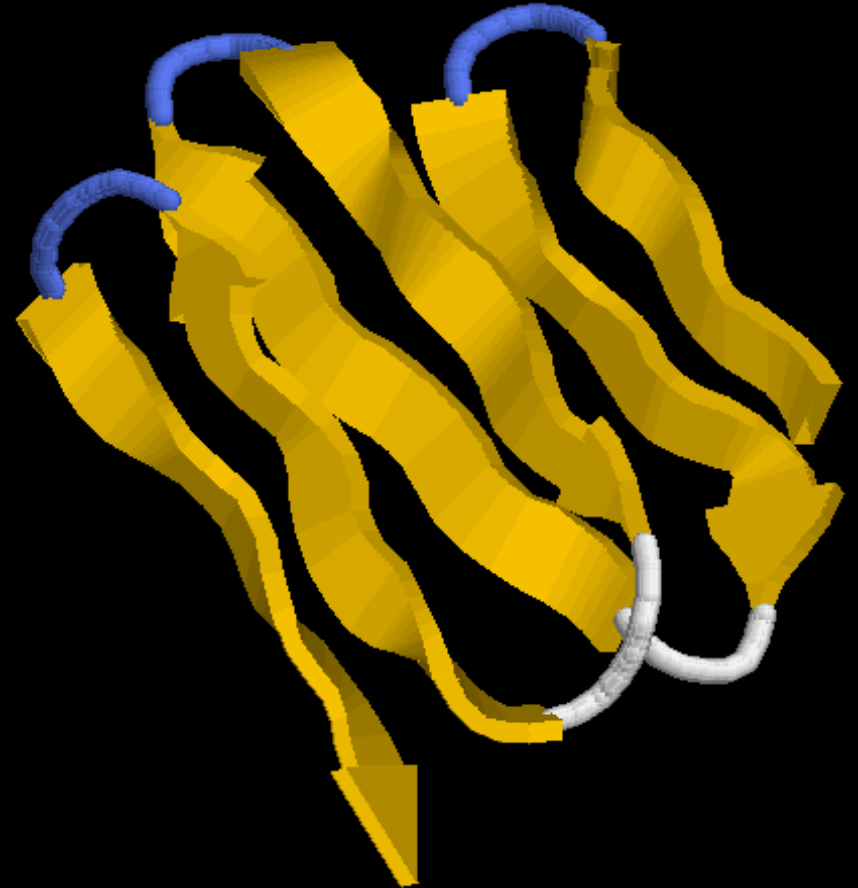


Fig. 2. Representación de la estructura en lámina β de las secciones. La proteína entera forma un plegamiento en hélice β .

Características de la proteína

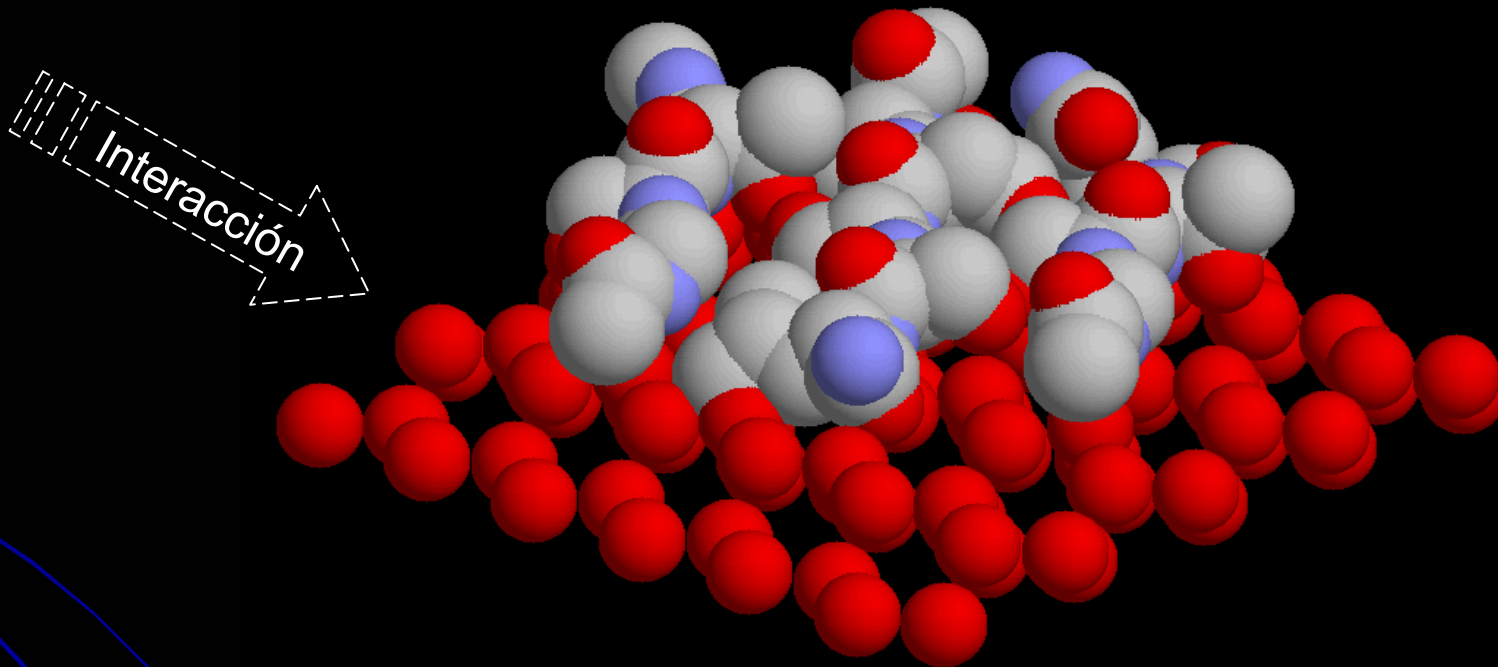
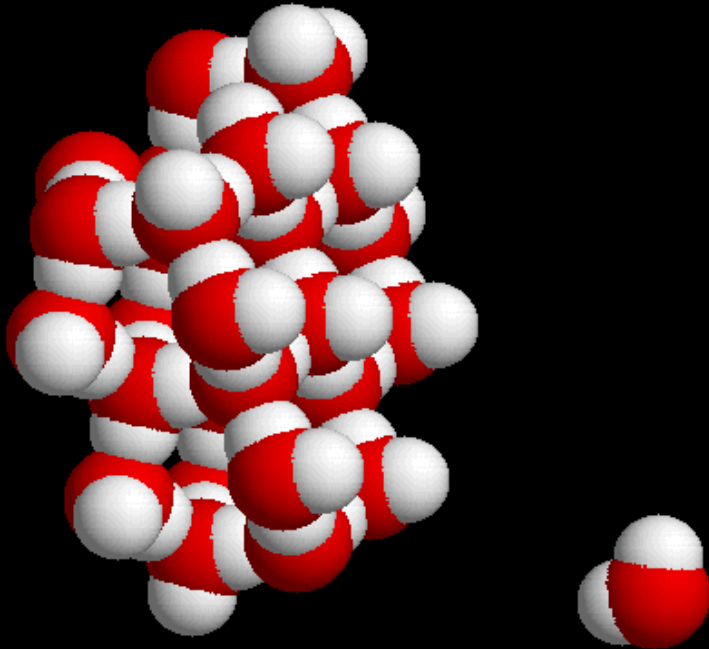


Fig. 3. Interacción de las moléculas del agua con una de las secciones de la proteína.

Nota: no se representan los átomos de hidrógeno.

Obtención de la proteína: antecedentes



El agua pura que no contengan partículas en suspensión ni se encuentre alojada en un recipiente con bordes irregulares posee un punto de congelación situado a -40°C .

En la naturaleza el punto de congelación se encuentra situado a 0°C debido a la presencia de partículas y sales que actúan como núcleos de formación de cristales de hielo.

Entre los factores que se conocen como iniciadores de núcleos de formación de hielo, las proteínas de determinadas bacterias se encuentran entre los más efectivos, subiendo la temperatura de congelación a -5°C .

- La presencia de estas proteínas en aguas naturales, facilita e inicia la congelación de a una temperatura más alta.

Obtención de la proteína: antecedentes

- Una de las bacterias con mayor capacidad nucleadora del hielo (Ina^+) es *Pseudomonas syringae*, la cual es un fitopatógeno.
- La bacteria presenta en su membrana externa un elevado número de estas proteínas.
- En días fríos, las proteínas aceleran la formación de cristales de hielo que actúan rompiendo la pared de las células vegetales, favoreciendo tanto la penetración de las bacterias como la obtención de nutrientes.

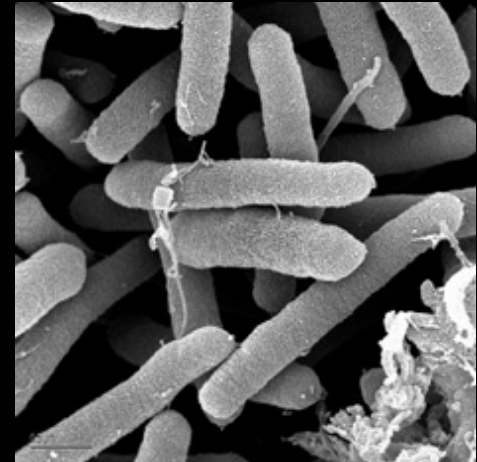
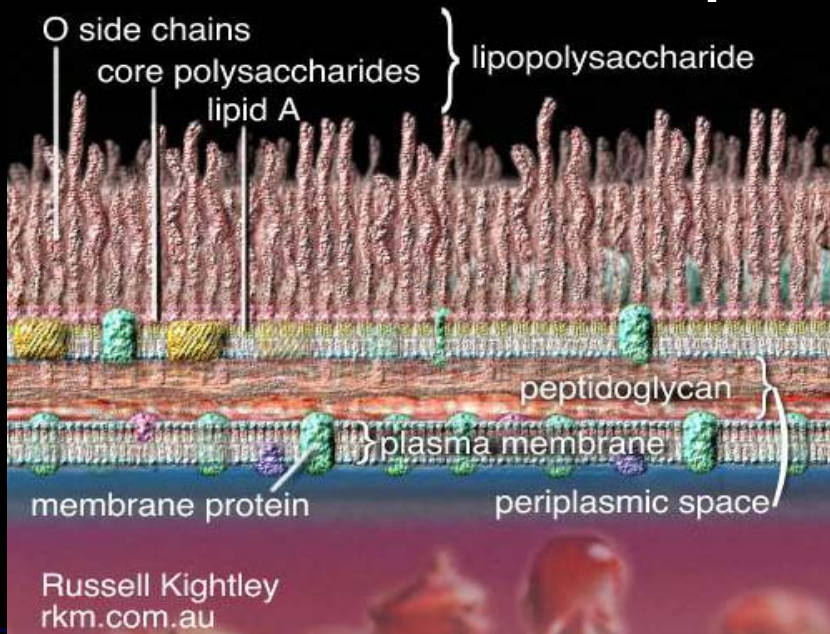


Fig. 4. Fotomicrografía electrónica.



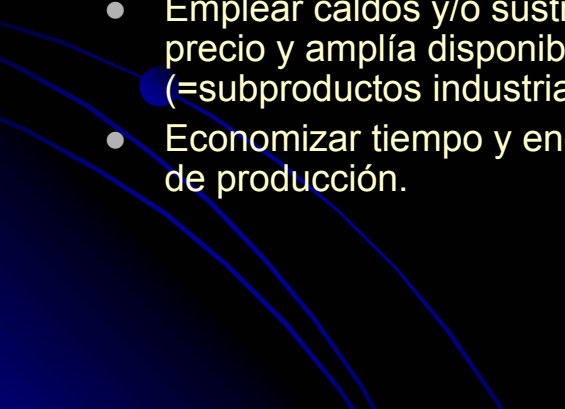
Fig. 5. Daños de *P. syringae*.

Obtención de la proteína: antecedentes

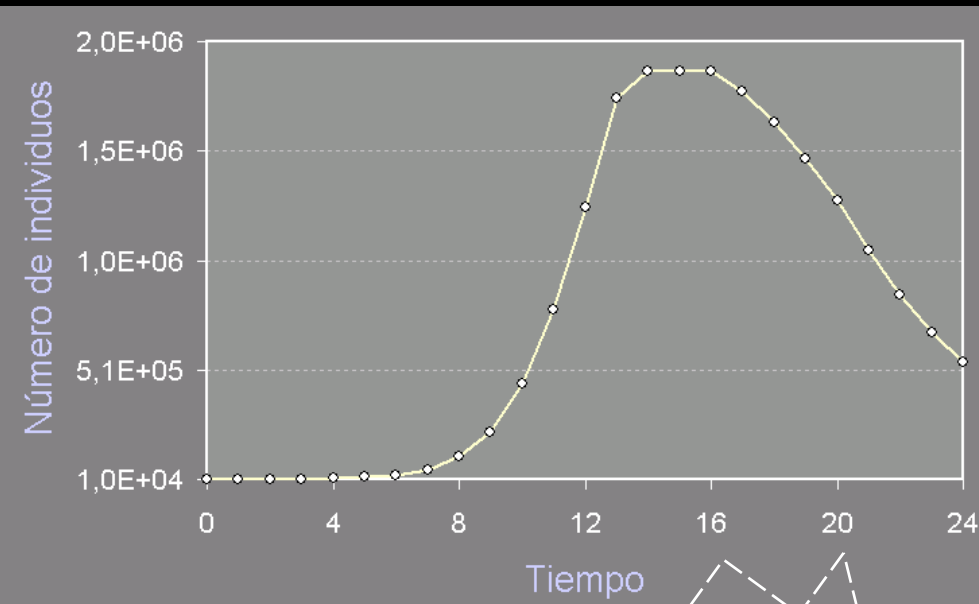


- *Pseudomonas syringae* es una bacteria que presenta tinción de Gram negativa.
- Las proteínas nucleadoras del hielo (InaZ) son glicolipoproteínas que se pueden disponer en la membrana externa mediante un anclaje de glicofosfatidil inositol, y son capaces de mimetizar la estructura de un núcleo de hielo, actuando como un molde para la formación del hielo.
- Las InaZ se clasifican en tres grupos según su actividad y el incremento de la temperatura de congelación que producen.

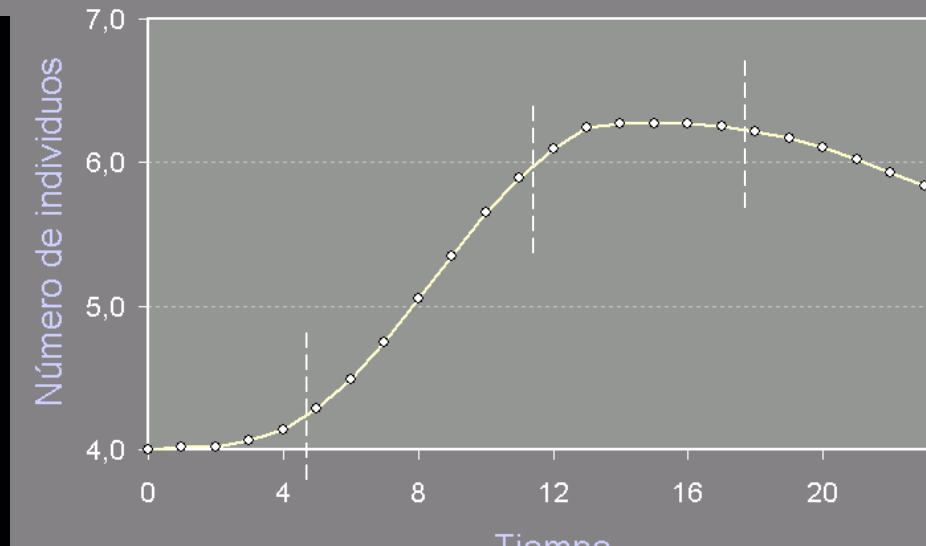
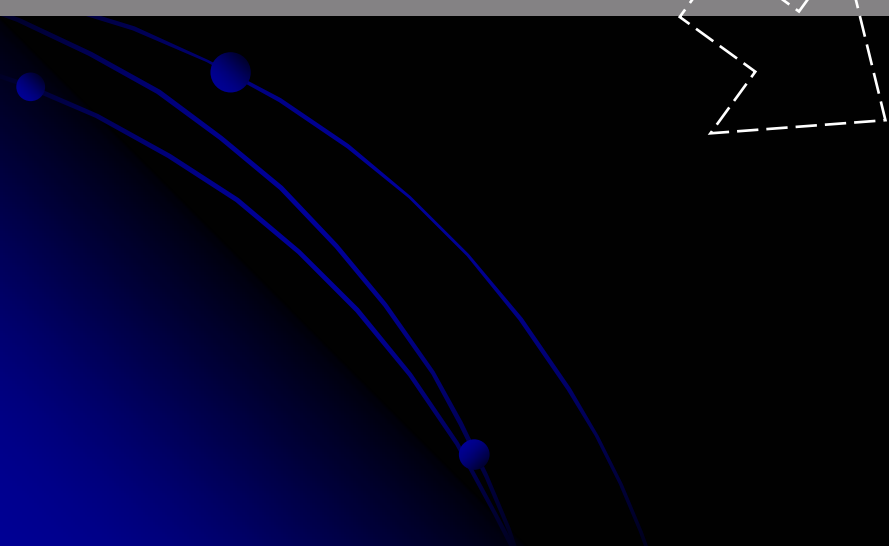
Obtención de la proteína: biotecnología

- En los procesos biotecnológicos se busca el mayor rendimiento productivo con el mínimo costo económico.
 - Para incrementar este rendimiento debe establecerse una estrategia dirigida hacia los siguientes puntos:
 - Establecer los parámetros de temperatura, pH, aireación, y estado fisiológico de máxima producción.
 - Emplear caldos y/o sustratos de bajo precio y amplia disponibilidad (=subproductos industriales).
 - Economizar tiempo y energía: líneas de producción.
 - Dado que existen 3 tipos de proteínas, se busca la generación del tipo I que presenta una mayor eficiencia de nucleación.
 - Mediante el seguimiento de la síntesis de proteína InaZ tipo I, se establece que su síntesis se inicia a finales de la fase de crecimiento exponencial y a principios de la estacionaria (en ella es común la síntesis de metabolitos secundarios).
 - La presencia de glicerol como fuente de C, y una menor concentración de P, N, S o Fe, favorece la síntesis de InaZ.
 - La eficiencia de síntesis de InaZ se ve afectada por la tasa de crecimiento. A mayor tasa menor eficiencia de síntesis.
- 

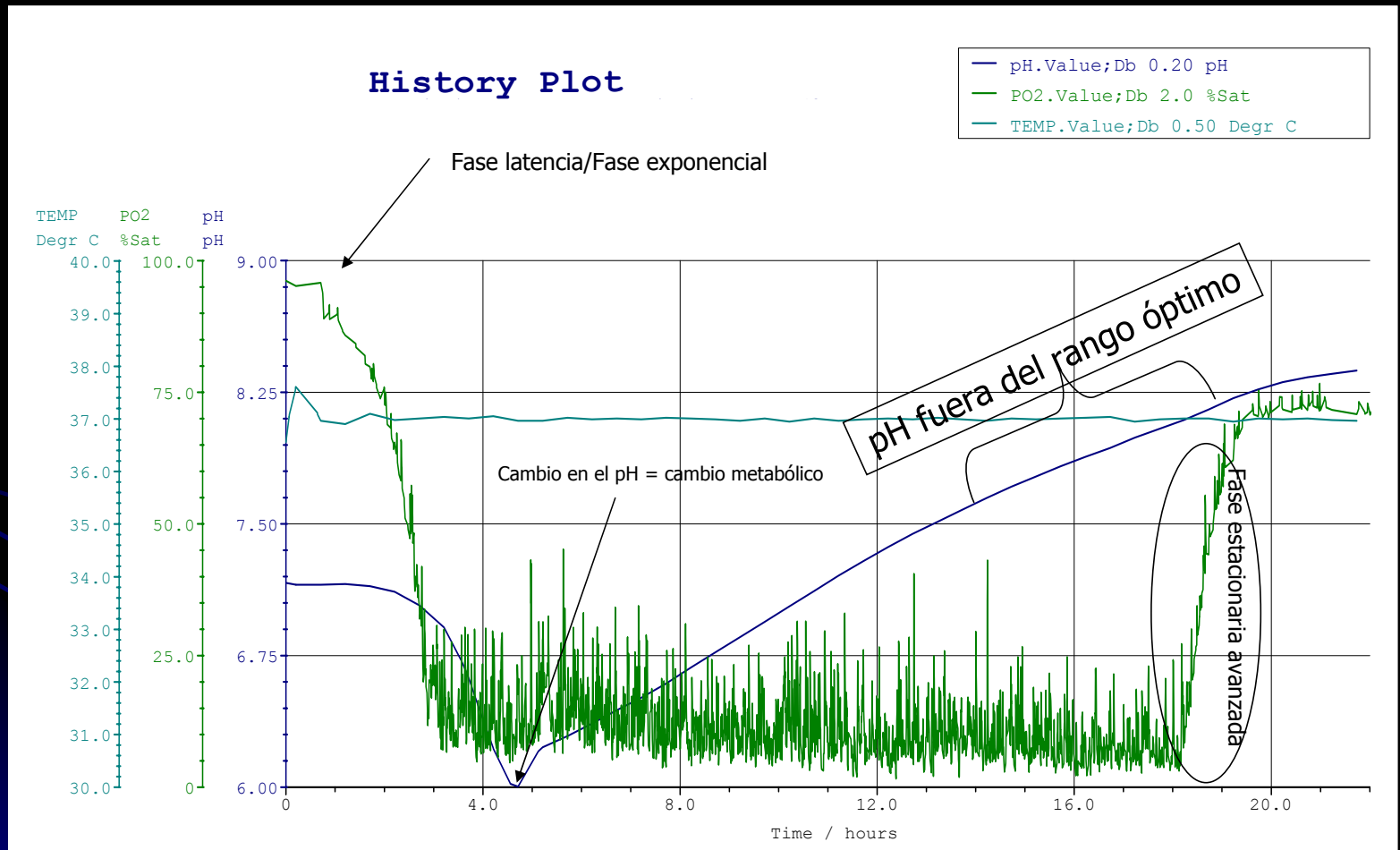
Obtención de la proteína: biotecnología



FASES DEL CRECIMIENTO BACTERIANO



Obtención de la proteína: biotecnología



Obtención de la proteína: producción

1. Inicia el crecimiento de la bacteria *Pseudomonas syringae*.
2. Se ajustan las condiciones del medio para la máxima producción de InaZ tipo I.

3. Se concentra el cultivo bacteriano.
4. Se liofiliza el cultivo (desechar una sustancia mediante congelación y posterior sublimación a presión reducida del hielo formado. Se utiliza en la deshidratación de alimentos, materiales biológicos y productos sensibles al calor).
5. Se esteriliza el cultivo mediante radiación beta (preserve la actividad de la proteína).

UPSTREAM

PROCESSING

Línea de producción.

DOWNSTREAM

PROCESSING

Concentración.

Liofilización.

Esterilización.

CONTROL DE CALIDAD

CONTROL DE CALIDAD