

IX CONGRESO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL Y BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA



CMIBM'24 • MADRID

10 • 12 Junio **2024**

LIBRO DE RESÚMENES



SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
MICROBIOLOGÍA



Microbiología Industrial
y Biotecnología
Microbiana

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
MICROBIOLOGÍA



ÍNDICE

	Página
BIENVENIDA	5
COMITÉ ORGANIZADOR	6
COMITÉ CIENTÍFICO	7
ENTIDADES ORGANIZADORAS Y COLABORADORAS	8
PATROCINADORES	9
PROGRAMA	10
LISTADO DE PÓSTERES	14
RESÚMENES DE PRESENTACIONES ORALES	21
• CONFERENCIA INAUGURAL	25
SESIONES	27
• SESION I: Biotecnología Sintética y Computacional	28
• SESION II: Biotecnología Farmacéutica	34
• SESION III: Biotecnología Ambiental	40
• SESION IV: Biocatálisis y Bioprocesos	46
• SESION V: Biotecnología de Alimentos	54
• CONFERENCIA DE CLAUSURA	63
RESÚMENES DE PÓSTERES	65
ÍNDICE DE AUTORES	139

BIENVENIDA

Queridos compañeros y amigos:

En nombre del Comité Organizador del IX Congreso Nacional de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana (CMIBM'24) es para mí un placer daros la bienvenida a la ciudad de Madrid.

Como en las ocho ediciones anteriores, este congreso tiene como objetivo proporcionar un foro de debate en el que científicos consolidados y jóvenes investigadores podamos intercambiar conocimiento, experiencias y nuevas ideas en diferentes ámbitos de la Microbiología Industrial y la Biotecnología Microbiana. No cabe duda que este objetivo se cumplirá con creces dada vuestra respuesta al llamamiento a esta nueva edición, a la que habéis acudido investigadores de veinte universidades, quince institutos y centros de investigación, seis empresas, dos centros tecnológicos, un instituto politécnico y un hospital, no solo de España, sino también de Colombia, Perú, Chile y México.

Como podéis ver en el Programa detallado, el congreso se ha organizado en cinco sesiones en las que se presentará una muestra de los últimos avances en los campos de la Biotecnología Sintética y Computacional, Biotecnología Farmacéutica, Biotecnología Ambiental, Biotecnología de Alimentos, y Biocatálisis y Bioprocesos. Tanto los miembros del Comité Organizador como los miembros del Comité Científico, responsables de la elaboración de este programa, esperamos que cubra vuestras expectativas. La calidad de las ponencias invitadas, así como de las comunicaciones orales cortas y en formato póster, aseguran el éxito científico de este congreso, más teniendo en cuenta vuestra experiencia y el reconocido prestigio de muchos de vosotros a nivel internacional.

Quiero dar las gracias a todas las instituciones que, de un modo u otro, han posibilitado la celebración de este congreso, entre las que se incluyen la Sociedad Española de Microbiología y su Grupo Especializado de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana, el Consejo Superior de Investigaciones Científicas, la Universidad Complutense y el Ayuntamiento de Madrid. Doy también las gracias a la Federación Europea de Sociedades de Microbiología (FEMS), que ha contribuido con una ayuda destinada a promover la participación de los investigadores más jóvenes, y nos ha permitido conceder veintiocho becas para cubrir su inscripción. Igualmente, quiero expresar mi agradecimiento a los miembros del Comité Científico y Comité Organizador, y por supuesto a todos los participantes por presentar vuestros trabajos de investigación más recientes. Finalmente, agradecer también a todas las empresas que han colaborado económicamente, haciendo así mucho más fácil que este congreso se haya podido llevar a cabo.

Por último, solo me queda desearos que disfrutéis del congreso y tengáis una feliz estancia en nuestra ciudad.

Francisco Javier Ruiz Dueñas

Presidente del comité organizador

COMITÉS

COMITÉ ORGANIZADOR

PRESIDENTE:

Francisco Javier Ruiz Dueñas

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid.

VOCALES:

Marta Pérez-Boada

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid.

Susana Camarero

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid.

Belén Patiño

Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid.

Alicia Prieto

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid.

María Jesús Martínez

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid.

Ángel T. Martínez

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid.

Jorge Barriuso

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid.

Juan Carro

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid.

Dolores Linde

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid.

COMITÉ CIENTÍFICO

Antonio Gerardo Pisabarro de Lucas

Presidente del Grupo Especializado de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana. Departamento de Ciencias de la Salud. Área de Microbiología. Universidad Pública de Navarra.

Juana Rodríguez Bullido

Vicepresidenta del Grupo Especializado de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana. Departamento de Biomedicina y Biotecnología, Universidad de Alcalá de Henares.

Ángel Manteca

Tesorero del Grupo Especializado de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana. Departamento de Biología Funcional, Universidad de Oviedo.

Jesús Manuel Cantoral

Vocal del Grupo Especializado de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana. Departamento de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública, Universidad de Cádiz.

Vicente Monedero

Vocal del Grupo Especializado de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana. Departamento de Biotecnología, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, CSIC, Valencia.

Francisco Javier Ruiz Dueñas

Vocal del Grupo Especializado de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana. Departamento de Biotecnología, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid.

Antonio Sánchez Amat

Vocal del Grupo Especializado de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana. Departamento de Genética y Microbiología, Universidad de Murcia.

Ramón I. Santamaría

Vocal del Grupo Especializado de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana. Instituto de Biología Funcional y Genómica, CSIC, Universidad de Salamanca.

Michal Letek

Secretario del Grupo Especializado de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana. Departamento de Biología Molecular, Área de Microbiología, Universidad de León.

ENTIDADES ORGANIZADORAS Y COLABORADORAS



PATROCINADORES



PROGRAMA

LUNES, 10 de Junio

14:00 Registro y colocación de Pósteres

15:00 Inauguración del Congreso

15:30 CONFERENCIA INAUGURAL

La factoría celular por dentro: de la analogía a la metodología

Víctor de Lorenzo. Centro Nacional de Biotecnología, CSIC, Madrid

16:30-17:00 Café y Pósteres

17:00-19:00 SESIÓN I: BIOTECNOLOGÍA SINTÉTICA Y COMPUTACIONAL

Moderadores:

Gerardo Pisabarro y Ángel Manteca

17:00 I1 / **¿Quién necesita enzimas? Cómo convertir proteínas en enzimas y acoplarlas en biología sintética**

Victor Guallar. Barcelona Supercomputing Center

17:30 I2 / **El impacto de la inteligencia artificial en el descubrimiento de fármacos: una oportunidad para concebir nuevos agentes antimicrobianos**

Juan Manuel Domínguez. Topazium Artificial Intelligence, Madrid

18:00 PRESENTACIONES ORALES CORTAS:

18:00 O1 / **Estrategias computacionales para el descubrimiento de enzimas en la síntesis sostenible de bioplásticos**

Martin Floor. Barcelona Supercomputing Center

18:15 O2 / **Desarrollo de un método colorimétrico de screening para la detección de la inserción simultánea de múltiples copias génicas en *Bacillus subtilis* mediante CRISPR-Cas9**

Jordi Ferrando. Universitat de Barcelona

18:30 O3 / **Generación de novo de derivados metilados en las posiciones 5 y 7 de chalcona de naringenina y naringenina**

Juan Serna-Diestro. Dpto. de Biología Funcional, Universidad de Oviedo

18:45 O4 / **La herencia mitocondrial puede afectar el crecimiento de *Pleurotus ostreatus* debido a la interacción entre el genoma nuclear y mitocondrial**

Edurne Garde. Universidad Pública de Navarra, Pamplona

20:30 Recepción de Bienvenida en la Casa de la Villa de Madrid

MARTES, 11 de Junio

09:00-11:00 SESIÓN II: BIOTECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

Moderadores:

Ramón Santamaría y Michal Letek

09:00 I3 / **El avance hacia los ensayos clínicos de MTBVAC: su historia desde una perspectiva molecular, inmunológica e industrial**

Jesús Gonzalo-Asensio. Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza

09:30 I4 / **Innovación con fagos: diagnóstico y tratamiento de las infecciones**

María del Mar Tomás. INIBIC-Hospital A Coruña

10:00 PRESENTACIONES ORALES CORTAS:

10:00 O5 / **SCO1897 as a novel transcriptional regulator modulating phosphorus homeostasis in *Streptomyces coelicolor***

Ángel Manteca. Facultad de Medicina, Universidad de Oviedo

10:15 O6 / **Ingeniería genética en *Mycobacterium smegmatis* para la producción de 22-hidroxi-23,24-bisnorcol-4-en-3-ona a escala de biorreactor**

Gabriel Hernández-Fernández. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

10:30 O7 / **Development of a yeast bioassay to screen for Nirmatrelvir drug resistance mutations in the SARS-CoV-2 protease 3CLpro**

Óscar Barbero-Úriz. Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid

10:45 O8 / **Estudio de la funcionalidad de las proteínas quinasas humanas mek5, erk1, erk2 y erk5 en *Saccharomyces cerevisiae***

Teresa Fernández-Acero. Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid

11:00-11:30 Café y Pósteres

11:30-13:30 SESIÓN III: BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

Moderador:

Antonio Sánchez Amat

11:30 I5 / **Ingeniería metabólica bacteriana para la economía circular de plásticos**

Isabel Pardo. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

12:00 I6 / **Microrremediación de lodos de depuradora: un residuo poli-contaminado con xenobióticos emergentes**

Elisabet Aranda. Instituto Universitario de Investigación del Agua y Facultad de Farmacia, Universidad de Granada

12:30 PRESENTACIONES ORALES CORTAS:

12:30 O9 / **Bioproducción de hidrógeno a partir de residuos alimentarios mediante fotofermentación utilizando mutantes superproductores de hidrógeno de *Rhodobacter capsulatus***

Emma Barahona. ESCET, Universidad Rey Juan Carlos, Móstoles

12:45	O10 / Bioproduction and characterization of lanthanide-based nanoparticles <i>Paz García-García. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid</i>
13:00	O11 / El potencial biotecnológico de <i>Peribacillus simplex</i> en la industria alimentaria y la agricultura <i>Julia Manetsberger. Dpto. de Ciencias de la Salud, Universidad de Jaén</i>
13:15	O12 / Aislamiento de fagos para el biocontrol del patógeno de peces <i>Tenacibaculum</i> <i>Andrea Martínez-Cazorla. Dpto. de Genética y Microbiología, Universidad de Murcia</i>
13:30-14:00	Pósteres
14:00-15:30	Comida
15:30-18:30	SESIÓN IV: BIOCATALISIS Y BIOPROCESOS
	Moderadoras: <i>Juana Rodríguez Bullido y Alicia Prieto</i>
15:30	I7 / Sistemas multienzimáticos para el desarrollo de estrategias de captura y conversión de CO₂ <i>Marina Guillén. Dpto. de Ingeniería Química, Biológica y Ambiental, Universidad Autónoma de Barcelona</i>
16:00	I8 / Potencial de diversas oxidorreductasas microbianas en Biotecnología Industrial <i>Elvira Romero. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid</i>
16:30	I9 / Hidrolasas fúngicas para el aprovechamiento de la biomasa vegetal y el desarrollo de bioprocesos sostenibles <i>M^a Jesús Martínez. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid</i>
17:00-17:30	Café y Pósteres
17:30	PRESENTACIONES ORALES CORTAS:
17:30	O13 / Nueva ruta sintética in vitro para la producción de acetoína bio-basada a partir de etanol <i>David Muñoz-Sánchez. Dpto. de Ingeniería Química, Biológica y Ambiental, Universidad Autónoma de Barcelona</i>
17:45	O14 / Desarrollos de ingeniería enzimática para la producción de biocombustibles de aviación <i>Mikel Dolz. EvoEnzyme SL, Madrid</i>
18:00	O15 / Producción de polihidroxibutirato en cultivos de alta densidad celular empleando <i>Cupriavidus necator</i> 545 a partir de aceite de oliva usado en cocina <i>Alberto Rodríguez. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid</i>
18:15	O16 / Técnicas de encapsulación microbiana para el control de poblaciones microbianas en co-cultivos <i>Alba Amaro da Cruz. Dpto. de Ingeniería Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada</i>
21:00	Cena del Congreso

MIÉRCOLES, 12 de Junio**09:30-11:30 SESIÓN V: BIOTECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

	Moderadores: <i>Jesús M. Cantoral y Vicente Monedero</i>
09:30	I10 / Probióticos: del laboratorio al consumidor <i>Juan Miguel Rodríguez Gómez. Dpto. de Nutrición y Ciencia de los Alimentos, Universidad Complutense de Madrid</i>
10:00	I11 / Postbióticos como moduladores del microbioma para el futuro <i>Daniel Ramón. ADM-Biopolis, Valencia</i>
10:30	PRESENTACIONES ORALES CORTAS:
10:30	O17 / Edición genética con CRISPR-Cas9 en <i>Aspergillus niger</i> para el desarrollo de mutantes en la producción de OTA <i>Carolina Gómez-Albarrán. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense de Madrid</i>
10:45	O18 / Importancia de la nutrición y las condiciones fisicoquímicas de cultivo de <i>Lachancea thermotolerans</i> para la acidificación biológica de vinos <i>Javier Vicente. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense de Madrid</i>
11:00	O19 / Bacteriófagos como estrategia de biocontrol de bacterias en vinos de Jerez <i>Antonio Florido-Barba. Dpto. de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública, Universidad de Cádiz</i>
11:15	O20 / Producción de hidrolizados proteicos utilizando proteasa neutra de <i>Micrococcus</i> sp. PC7 <i>Arturo Intiquilla. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú</i>
11:30-12:00	Café y Pósteres
12:00	CONFERENCIA DE CLAUSURA Descifrando los secretos del vino: análisis multiómico y modelado del metabolismo de levaduras del género <i>Saccharomyces</i> <i>Amparo Querol. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, CSIC, Valencia</i>
13:00	Clausura del Congreso
13:30	Comida

LISTADO DE PÓSTERES

SESIÓN I: BIOTECNOLOGÍA SINTÉTICA Y COMPUTACIONAL

P1. IDENTIFICACIÓN DE NUEVAS ENZIMAS PARA LA DEGRADACIÓN DE TEREFTALATO DE POLIETILENO

Alejandro Chamizo-Ampudia. Dpto. de Biología Molecular, Área de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de León; Instituto de Biología Molecular, Genómica y Proteómica (INBIOMIC), Universidad de León

P2. PRODUCCIÓN HETERÓLOGA DE 2,3-BUTANODIOL EN *ESCHERICHIA COLI*

José Luis García. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

P3. OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN RECOMBINANTE EN *ESCHERICHIA COLI* DE LA ENZIMA N-ACETIL GLUCOSAMINA OXIDASA EN UN SISTEMA LIBRE DE ANTIBIÓTICOS

Gerard Guerra-Mas. Dpto. de Ingeniería Química, Biológica y Ambiental, Universidad Autónoma de Barcelona

P4. ANÁLISIS *IN SILICO* DE LAS AA9-LPMOS ENCONTRADAS EN TRANSCRIPTOMAS DE AGARICOMICETOS: ENFOQUE EN *PLEUROTUS OSTREATUS*

Idoia Jiménez. Institute for Multidisciplinary Research in Applied Biology (IMAB), Public University of Navarre (UPNA), Pamplona

P5. ALGORITMOS DE INTELIGENCIA ARTIFICIAL PARA BIOPROSPECCIÓN ENZIMÁTICA COMPUTACIONAL

Mireia Martínez. Barcelona Super Computing Center-Centro Nacional de Supercomputación, Dpto. de Life Sciences, Barcelona

P6. DISTRIBUCIÓN, FILOGENIA Y CLASIFICACIÓN DE OXIDASAS MULTICOBRE EN HONGOS BASIDIOMICETOS

Gonzalo Molpeceres. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

P7. PRODUCCIÓN DE BIOPLÁSTICO A PARTIR DE PET CON LA BACTERIA *COMAMONAS TESTOSTERONI*

Francisco Javier Molpeceres García. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

SESIÓN II: BIOTECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

P8. REPRODUCING THE CENTRAL DOGMA OF MOLECULAR BIOLOGY AT THE SINGLE-MOLECULE LEVEL FOR ULTRAHIGH-THROUGHPUT METAGENOMIC LIBRARY SCREENING

Laura Blas. Dept of Molecular Biology, Universidad Autónoma de Madrid; Center of Molecular Biology Severo Ochoa, UAM-CSIC, Madrid

P9. HARNESSING HOST-DIRECTED miRNAs TO COMBAT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* INTRACELLULAR INFECTIONS

Pablo Castañera. Dpto. de Biología Molecular, Área de Microbiología, Universidad de León

P10. ENGINEERING *LEISHMANIA MEXICANA* NUCLEOSIDE 2'-DEOXYRIBOSYLTRANSFERASE ACTIVITY TOWARD ARABINONUCLEOSIDES THROUGH AN *IN VIVO* SELECTION SYSTEM

Davide A. Cecchini. Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, UAM-CSIC, Madrid; Dept of Molecular Biology, Universidad Autónoma de Madrid

P11. ESTUDIO PROTEÓMICO Y FENOTÍPICO DEL PAPEL DEL GEN *bfr* EN EL METABOLISMO SECUNDARIO DE *STREPTOMYCES COELICOLOR*

Javier García Martín. Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG), Dpto. de Microbiología y Genética, CSIC-USAL, Salamanca

P12. METABOLITE DIVERSITY AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES BY MEMBERS OF THE GENUS *ACTINOPHYTOCOLA*

Ignacio González. Fundación MEDINA, Centro de Excelencia en Investigación de Medicamentos Innovadores en Andalucía, Granada

P13. OPTIMIZATION OF A MICROFLUIDIC-BASED ASSAY FOR THE METAGENOMIC SCREENING OF N-ACETYLNURAMINIC ACID ALDOLASE

Álvaro Lorente. Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, UAM-CSIC, Madrid

P14. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIPROLIFERATIVO DE UNA LACASA BACTERIANA SOBRE CÉLULAS TUMORALES

José Manuel Molina Guijarro. Dpto. de Biomedicina y Biotecnología, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares

P15. INGENIERÍA METABÓLICA DE *BACILLUS SUBTILIS* PARA LA PRODUCCIÓN EFICIENTE Y ESTABLE DE C₃₀ CAROTENOIDES

Pere Picart. Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación, Dpto. de Sanidad, Salud y Medio Ambiente, Sección Microbiología, Universidad de Barcelona

P16. SCREENING GUIADO POR ACTIVIDAD EN EXUDADOS FÚNGICOS, UTILIZANDO COMO MODELO A *OMPHALOTUS OLEARIUS*

Jusdin Ruiz-Umaña. Institute for Multidisciplinary Research in Applied Biology (IMAB), Universidad Pública de Navarra (UPNA), Pamplona

SESIÓN III: BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

P17. LOS GENES SCO0954, SCO1758, SCO4439 Y SCO4440 PARTICIPAN EN LA FORMACIÓN DE CÉLULAS DEFICIENTES DE PARED EN *STREPTOMYCES COELICOLOR*

Sergio Alonso-Fernández. Área de Microbiología, Dpto. de Biología Funcional, IUOPA, ISPA, Facultad de Medicina, Universidad de Oviedo

P18. MICROORGANISMOS AMBIENTALES COMO DEGRADADORES DE TERMOPLÁSTICOS EPOXÍDICOS

Carlos Barreiro. Área de Bioquímica y Biología Molecular, Dpto. de Biología Molecular, Facultad de Veterinaria, Universidad de León; Instituto de Biología Molecular, Genómica y Proteómica (INBIOMIC), Universidad de León

P19. SCREENING DE HONGOS DEGRADADORES DE POLÍMEROS PLÁSTICOS

Lara Bejarano-Muñoz. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

P20. AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIÓFAGOS COMO MÉTODO DE BIOCONTROL DE BACTERIAS FITOPATÓGENAS

Antonio Bernal Soto. Dpto. de Genética y Microbiología, Universidad de Murcia; Mundeco Laboratorios, Agronova Biotech, Fortuna, Murcia

P21. RECOMBINANT PRODUCTION OF BOVINE SERUM ALBUMIN (BSA) IN YEAST: OPTIMIZATION AND ENHANCED BLOCKING CAPACITY IN IMMUNOASSAYS

Sandra Bosch. Levprot Bioscience, Calatayud, Zaragoza

P22. DISEÑO DE ACINETOBACTER BAYLYI COMO CHASIS BACTERIANO PARA EL RECICLAJE BIOLÓGICO DE ÉSTERES DE FTALATO

Alba Calonge-García. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

P23. REDISEÑANDO EL METABOLISMO DE ACINETOBACTER BAYLYI PARA LA PRODUCCIÓN DE NUEVOS BIOPOLÍMEROS A PARTIR DE RESIDUOS PLÁSTICOS

Susana Capel. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

P24. RELACIÓN ENTRE PSICROFILIA Y XEROTOLERANCIA EN EXIGUOBACTERIUM

María Castillo López. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

P25. BIOPRODUCTOS DE INTERÉS COSMÉTICO EN CIANOBACTERIAS ENDOLÍTICAS DEL DESIERTO DE ATACAMA

Samuel Cirés. Dpto. de Biología, Universidad Autónoma de Madrid

P26. ESTUDIO DE LA BIODEGRADACIÓN EN CONDICIONES DE COMPOSTAJE DE PELÍCULAS ELABORADAS CON PLA Y NANOPARTÍCULAS DE MXENOS (Ti₃C₂T_x) O CU₂(OH)₃NO₃

Gabriela Domínguez. Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares

P27. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA 4-HIDROXIFENILACETATO 1-MONOOXIGENASA, EL PROTOTIPO DE UNA NUEVA FAMILIA DE FLAVÍN MONOOXIGENASAS

Pablo Espada. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

P28. PRODUCCIÓN DE β-CAROTENO USANDO UNA CEPA MODIFICADA DE YARROWIA LIPOLYTICA CULTIVADA EN MEDIOS DERIVADOS DE RESIDUOS BIOLÓGICOS DE PODA Y PAPEL

María Gallego-García. CIEMAT, Madrid; Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares

P29. BIOPLÁSTICOS DE USO AGRÍCOLA FUNCIONALIZADOS CON DERIVADOS LÁCTEOS ANTIFÚNGICOS

Sonia García-Alonso. Área de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Veterinaria, Universidad de León

P30. AISLADOS AMBIENTALES DEL GÉNERO PSEUDOMONAS COMO HERRAMIENTA PARA LA BIODEGRADACIÓN DE TERMOPLÁSTICOS EPOXÍDICOS

Sonia Garrido-Chamorro. Área de Bioquímica y Biología Molecular, Dpto. de Biología Molecular, Facultad de Veterinaria, Universidad de León

P31. OPTIMISATION OF L-LYSINE PRODUCTION FROM TEXTILE WASTES BY CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM

Anahí Ginestá-Anzola. Centro Tecnológico de la Energía y del Medio Ambiente, Cartagena

P32. ESTUDIO DEL POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE COMPUESTOS NATURALES SOBRE CLAVIBACTER MICHIGANENSIS MEDIADO POR EL INCREMENTO DE ESTRÉS OXIDATIVO

Jesús Llano-Verdeja. Área de Microbiología, Dpto. de Biología Molecular, Universidad de León

P33. ESTUDIO DEL POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE DOS CEPAS DE STREPTOMYCES

María Lorenzo-Sánchez. Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG), Dpto. de Microbiología y Genética, CSIC-USAL, Salamanca

P34. UTILIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA PRODUCIDAS CON CULTIVOS DE LAS MICROALGAS PARACHLORELLA SP. Y TETRATOSTICHOCOCCUS SP. PARA LA DETECCIÓN DE METALES PESADOS Y LA DECOLORACIÓN

Irma Marín. Dpto. de Biología Molecular, Universidad Autónoma de Madrid

P35. ESTUDIO DE LOS COMPUESTOS CON ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA PRODUCIDOS POR LA CEPA STREPTOMYCES RS231 Y SU APLICACIÓN EN EL CAMPO DE LA AGROBIOTECNOLOGÍA

Ramiro Morán Cacho. Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG), Dpto. de Microbiología y Genética, CSIC-USAL, Salamanca

P36. DESARROLLO Y DEMOSTRACIÓN DE UN SISTEMA DE PRODUCCIÓN BIOLÓGICA DE ÁCIDO SUCCÍNICO BASADO EN LOS RESIDUOS DE LA INDUSTRIA LÁCTEA

Aranzazu Pagán-Muñoz. Centro Tecnológico de la Energía y del Medio Ambiente, Cartagena

P37. MICROBIAL VALORIZATION OF HYDROTHERMAL LIQUEFACTION WASTEWATER

Beatriz Pasero. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

P38. EXPLORING THE ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF SELENIUM NANOPARTICLES SYNTHESIZED BY VARIOUS SUBCELLULAR FRACTIONS OF STENOTROPHOMONAS BENTONITICA BII-R7: A MULTIDISCIPLINARY APPROACH

Eduardo Pérez Muelas. Dpto. of Microbiology, University of Granada

P39. UTILIZACIÓN DEL HUESO COMO BIOADSORBENTE BACTERIANO

Tamara Pozo-Gualda. Dpto. de Microbiología, Universidad de Granada

P40. INTERACCIONES EN EL CONSORCIO MICROBIANO FORMADO POR EL HONGO OPHIOSTOMA PICEAE Y LA BACTERIA PSEUDOMONAS PUTIDA

Ana Pozo-Rodríguez. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

P41. GLUCONACETOBACTER DIAZOTROPHICUS Y SU POTENCIAL DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO EN TOMATE

Gloria María Restrepo Franco. Universidad Católica de Manizales, Manizales, Colombia

P42. APLICACIÓN DE LA BIOLOGÍA SINTÉTICA PARA LA DEGRADACIÓN DE TEREFTALATO DE POLIETILENO (PET)

Elías R. Olivera. Dpto. de Biología Molecular, Área de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de León; Instituto de Biología Molecular, Genómica y Proteómica (INBIOMIC), Universidad de León

P43. EFECTO DE DISTINTAS ESPECIES DE STREPTOMYCES SOBRE LA DIFERENCIACIÓN Y PRODUCCIÓN DE DK-XANTENOS DE MYXOCOCCUS XANTHUS

Ramón I. Santamaría. Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG), Dpto. de Microbiología y Genética, CSIC-USAL, Salamanca

P44. SELECCIÓN DE CEPAS DEL GÉNERO *BACILLUS* COMO DEGRADADORAS DE BIOPLÁSTICOS DE USO AGRÍCOLA

María F. Vasco-Cárdenas. Área de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Veterinaria, Universidad de León; Instituto de Biología Molecular, Genómica y Proteómica (INBIOMIC), Universidad de León

SESIÓN IV: BIOCATALISIS Y BIOPROCESOS**P45. OXIDASAS MULTICOBRE CON ACTIVIDAD LACASA-FERROXIDASA: CLASIFICACIÓN Y ESTUDIO DE LOS DETERMINANTES DE LA ACTIVIDAD FERROXIDASA EN UN MIEMBRO DE *HETEROBASIDIUM ANNOSUM* S. L.**

Pablo Aza. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

P46. CARACTERIZACIÓN DE UNA NUEVA DESACETILASA DE QUITINA PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMOLÉCULAS DESACETILADAS

Laura Barahona. Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, CSIC-UAM, Dpto. de Biología Molecular, UAM, Madrid

P47. ESTUDIO DE LA FORMACIÓN DE BIOFILMS MIXTOS CON MICROORGANISMOS DE INTERÉS INDUSTRIAL

Jorge Barriuso. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

P48. EFFECTS OF INSOLUBLE SOLIDS AND LIGNOCELLULOSE-DERIVED INHIBITORS ON *KLUYVEROMYCES MARXIANUS* CECT 10875 ON FERMENTATION PERFORMANCE

Manuel F. Blanco. Advanced Biofuels and Bioproducts Unit, Dept of Energy, CIEMAT, Madrid

P49. NUEVAS HIDROXIMETILFURFURAL OXIDASAS PARA AMPLIAR EL CATÁLOGO DE BIOCATALIZADORES EN LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO FURANDICARBOXÍLICO

Juan Carro. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

P50. BIOPRODUCCIÓN DE SBR PARA LA INDUSTRIA DEL CALZADO

Roberto Castrillo-Puente. Universidad Europea de Madrid, Villaviciosa de Odón; Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

P51. PRODUCCIÓN DE POLI(3-HIDROXIBUTIRATO-4-HIDROXIBUTIRATO) MEDIANTE INGENIERÍA METABÓLICA EN *AZOHYDROMONAS LATA* DSM 1123

Paula Chacón Guisado. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

P52. EVALUACIÓN DE DIFERENTES FACTORES NUTRICIONALES QUE AFECTAN LA PRODUCCIÓN DE RIBOFLAVINA POR LA LEVADURA *HYPHOPICHIA WANGNAMKHIAOENSIS*

Raziel Arturo Jiménez-Nava. Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Dpto. de Ingeniería Bioquímica, Ciudad de México, México; Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Dpto. de Microbiología, Ciudad de México, México

P53. PEROXIGENASAS FÚNGICAS EN LA PRODUCCIÓN DE EPÓXIDOS A PARTIR DE ACEITE VEGETAL: CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL, INGENIERÍA DE PROTEÍNAS Y OPTIMIZACIÓN DE PROCESOS

Dolores Linde. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

P54. CARACTERIZACIÓN DE UNA NUEVA QUITINASA FÚNGICA Y SU APLICACIÓN EN LA VALORIZACIÓN DE DESECHOS MARINOS

María Martínez-Ranz. Centro Severo Ochoa, CSIC-UAM, Dpto. de Biología Molecular, UAM, Madrid

P55. DESPOLIMERIZACIÓN DE POLISACÁRIDOS DE ALGAS USANDO ENZIMAS FÚNGICAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES DE 3ª GENERACIÓN

Juan Méndez-Líter. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

P56. ESCALADO, PRODUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE XILOOLIGOSACÁRIDOS ÁCIDOS MEDIANTE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

Noa Míguez. Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, CSIC, Madrid; Universidad Autónoma de Madrid

P57. PAPEL DE LAS ENZIMAS PPX EN LA SÍNTESIS DE POLIFOSFATO EN *LACTICASEI-BACILLUS PARACASEI*

Vicente Monedero. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), Paterna, Valencia

P58. GLUCOSILACIÓN ENZIMÁTICA DEL FLAVONOIDE BAICALEÍNA CON ALTO RENDIMIENTO Y REGIOSELECTIVIDAD EMPLEANDO UN MUTANTE DE SACAROSA FOSFORILASA

Mercedes Moreno. Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, CSIC, Madrid

P59. PRODUCCIÓN Y PURIFICACIÓN DE LA CUTINASA DE *FUSARIUM SOLANI PISI* Y SU APLICACIÓN EN LA DESPOLIMERIZACIÓN DEL ÁCIDO POLILÁCTICO

Carlos Murguiondo. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

P60. ANALISIS DE LA RELACIÓN ESTRUCTURA-FUNCIÓN DE UNA β -FRUCTOFURANOSIDASA FÚNGICA Y DE SU POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Egle Narmontaite. Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, UAM-CSIC, Madrid

P61. BIOCATALIZADORES INDUSTRIALES ROBUSTOS CON ACTIVIDAD PEROXIGENASA, FENOL-OXIDASA O FURFURIL-OXIDASA PRODUCIDOS EN HUÉSPEDES BACTERIANOS Y FÚNGICOS

Marta Pérez-Boada. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

P62. EXPRESIÓN, CARACTERIZACIÓN Y OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE REACCIÓN DE HIDROXIMETILFURFURAL OXIDASAS SALVAJES PARA LA PRODUCCIÓN DE UN PRECURSOR DE PLÁSTICOS BIOBASADOS

Rodrigo A. Rincón-Sanz. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

P63. NUEVAS SUBFAMILIAS DE MANGANESO PEROXIDASAS EN HONGOS LIGNOCELULOLÍTICOS

María Isabel Sánchez-Ruiz. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

P64. ESTUDIO DE LA DEGRADACIÓN DE POLÍMEROS PLÁSTICOS POR HONGOS LIGNINOLÍTICOS

Roberto Sevilla. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid

SESIÓN V: BIOTECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

P65. INVESTIGANDO EL ROL DE TUP1 Y LA ANEUPLOIDÍA DEL CROMOSOMA III EN LA RESPUESTA AL ESTRÉS POR ETANOL EN *S. CEREVISIAE* A TRAVÉS DEL ANÁLISIS DE RNAseq

Sonia Albillos-Arenal. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), Paterna, Valencia

P66. EFECTIVIDAD DEL PLASMA FRÍO EN LA REDUCCIÓN DE BIOFILMS FORMADOS POR *BACILLUS CEREUS*

Consuelo Esteve. Dpto. de Microbiología y Ecología, Universitat de València, Valencia

P67. DESARROLLO DE NUEVAS PELÍCULAS PLÁSTICAS CON CAPACIDAD ANTIMICROBIANA: EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD SOBRE LA MICROBIOTA DE DISTINTOS ALIMENTOS

Juana Rodríguez. Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares

P68. SCREENING DE NUEVAS CEPAS PRODUCTORAS DE ÁCIDO GAMMA-AMINOBUTÍRICO PARA ALIMENTOS FUNCIONALES

Dante Fratebianchi. Centro Nacional de Tecnología y Seguridad Alimentaria (CNTA), San Adrián, Navarra

P69. CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA SUSCEPTIBILIDAD AL FAGO *KAYVIRUS RODI* DE DISTINTAS CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Andrea Jurado. Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC), Villaviciosa

P70. IDENTIFICACIÓN DE GENES Y SNPs ASOCIADOS CON LA FERMENTACIÓN VÍNICA Y LA ADAPTACIÓN A LA LIMITACIÓN DE NITRÓGENO EN CEPAS SILVESTRES Y DOMESTICADAS DE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Claudio Martínez. Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile; Dpto. de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile

P71. INACTIVACIÓN DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* Y GENERACIÓN DE CÉLULAS SUB-LETALMENTE DAÑADAS EN EL TRATAMIENTO MEDIANTE DBD-PLASMA DE VEGETALES DESHIDRATADOS

María Consuelo Pina-Pérez. Dpto. de Microbiología y Ecología, Universitat de València, Burjassot

P72. BIOPROSPECCIÓN DE BACTERIAS ENDÓFITAS DE MANGLARES DEL CARIBE COLOMBIANO PARA USO COMO BIOINOCULANTE EN SUELOS CON PROBLEMAS DE SEQUÍA Y SALINIDAD

Zamira E. Soto-Varela. Facultad de Ciencias Básicas y Biomédicas-Centro de Investigación en Biodiversidad y Cambio Climático-ADAPTIA, Universidad Simón Bolívar, Barranquilla, Colombia

RESÚMENES DE PRESENTACIONES ORALES



CONFERENCIA INAUGURAL

CONFERENCIA INAUGURAL

LA FACTORÍA CELULAR POR DENTRO: DE LA ANALOGÍA A LA METODOLOGÍA

de Lorenzo, Víctor*

Centro Nacional de Biotecnología, CSIC, Departamento de Biología de Sistemas, Campus de Cantoblanco UAM, Madrid, España

*vdlorenzo@cnb.csic.es

Las células bacterianas a menudo se imaginan como reactores de un solo recipiente donde ocurren una gran cantidad de procesos químicos al mismo tiempo y en el mismo lugar. Aunque el citoplasma bacteriano no está compartimentalizado, esto no significa que los componentes celulares estén organizados aleatoriamente o sean libres de difundirse. Hemos investigado la localización subcelular de la maquinaria molecular que dirige el flujo de expresión génica de *Pseudomonas putida* durante el catabolismo del *m*-xileno. Las fusiones de proteínas fluorescentes con subunidades de la ARN polimerasa (RNAP) y ribosomas seguido del análisis de imágenes mostraron que la RNAP se localizaba en 3D con el ADN cromosómico, mientras que las proteínas ribosómicas abundaban sólo fuera del nucleóide. Esta *dominialización* también se observó en células con doble etiqueta para RNAP y ribosomas. Cuando el plásmido TOL pWW0 (que permite la biodegradación de *m*-xileno a través de enzimas catabólicas transmitidas por plásmidos) se visualizó mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH), la mayoría de las células contenían uno o dos focos. Además, el ADN plasmídico se detectó principalmente asociado a la superficie externa del nucleóide. Al adoptar sondas de ARN dirigidas al sistema catabólico TOL, FISH reveló que los transcritos se acumulaban en ubicaciones celulares específicas adyacentes al plásmido. Por el contrario, las enzimas catabólicas mostraron una notable movilidad en el citoplasma, como lo revela el seguimiento individual de proteínas. Por tanto, es posible que las macromoléculas implicadas en el flujo de información genética del plásmido TOL tengan una dinámica 3D específica para optimizar el rendimiento de todo el proceso catabólico.

Referencias:

Gofii-Moreno *et al.* (2017) Deconvolution of gene expression noise into spatial dynamics of transcription factor-promoter interplay. *ACS Synth Biol.* 6: 1359-1369.

Kim *et al.* (2019) Spatial organization of the gene expression hardware in *Pseudomonas putida*. *Environ Microbiol.* doi: 10.1111/1462-2920.14544.

Kim, J. *et al.* (2021) Subcellular Architecture of the *xyI* gene expression flow of the TOL catabolic plasmid of *Pseudomonas putida* mt-2. *mBio* 12: e03685-20. doi: 10.1128/mBio.03685-20.



SESIONES

SESION I: Biotecnología Sintética y Computacional

I1

¿QUIÉN NECESITA ENZIMAS? CÓMO CONVERTIR PROTEÍNAS EN ENZIMAS Y ACOPLARLAS EN BIOLOGÍA SINTÉTICA

Guallar, Victor*

Barcelona Supercomputing Center, Barcelona, España

**victor.guallar@bsc.es*

La caracterización e ingeniería de proteínas mediante métodos computacionales ha demostrado, en los últimos años, grandes avances. El desarrollo de métodos moleculares más precisos y rápidos, juntamente con el uso de métodos de aprendizaje automático está transformando nuestra manera de trabajar en biotecnología. Transformamos proteínas para vacunas, para mejorar anticuerpos, diseñar transportadores, etc. Y les ha llegado el turno a las enzimas. Somos capaces de transformar una proteína en un minirreactor enzimático, mejorando ostensiblemente el rendimiento de las mejores enzimas conocidas.

En esta charla repasaremos como, mediante la introducción de centros activos artificiales, hemos sido capaces de transformar varias proteínas en superenzimas. Y mostraremos nuestros resultados más recientes (no publicados), donde esta tecnología nos permite transformar una bacteria inerte en una especialista en degradar nanopartículas de plástico. ¡Biología sintética a la carta!

Referencias:

Sub-micro-and nano-sized polyethylene terephthalate deconstruction with engineered protein nanopores. A Roles-Martín, et al., Nature Catalysis 6 (12), 1174-1185 (2023)

I2

EL IMPACTO DE LA INTELIGENCIA ARTIFICIAL EN EL DESCUBRIMIENTO DE FÁRMACOS: UNA OPORTUNIDAD PARA CONCEBIR NUEVOS AGENTES ANTIMICROBIANOS

Domínguez, Juan Manuel*

Topazium Artificial Intelligence, Madrid, España

**jmdominguez@topazium.com*

El proceso de descubrimiento de fármacos se caracteriza por ser complejo y minuciosamente regulado para asegurar la eficacia de los nuevos tratamientos que alcanzan el mercado y minimizar sus efectos secundarios. Ello hace que, por término medio, este proceso dure más de una década con tasas de éxito exiguas que elevan los costes asociados al lanzamiento de un nuevo fármaco por encima de los mil millones de dólares. Todo ello aboca a las compañías farmacéuticas a elaborar estrategias que maximicen la rentabilidad económica de este proceso, lo que, entre otras consecuencias, les hace enfocarse en áreas terapéuticas de bajo riesgo o que generen retornos económicos abundantes a costa de reducir los recursos en otras áreas donde el reto científico es mayor y, por tanto, las probabilidades de éxito inferiores. El descubrimiento de nuevos antimicrobianos, particularmente aquellos dirigidos a cepas multirresistentes, es una de las áreas que más ha sufrido las consecuencias de esta estrategia investigadora en las dos primeras décadas del siglo XXI. Sin embargo, la aparición de nuevas herramientas de inteligencia artificial está causando un cambio significativo en el proceso de descubrimiento de fármacos, haciéndolo más productivo y mejorando por tanto sus expectativas de éxito. En esta presentación se discutirá cuál es ese impacto y cómo está afectando positivamente al descubrimiento de nuevas entidades terapéuticas, con especial mención a nuevos agentes antimicrobianos.

O1

ESTRATEGIAS COMPUTACIONALES PARA EL DESCUBRIMIENTO DE ENZIMAS EN LA SÍNTESIS SOSTENIBLE DE BIOPLÁSTICOS

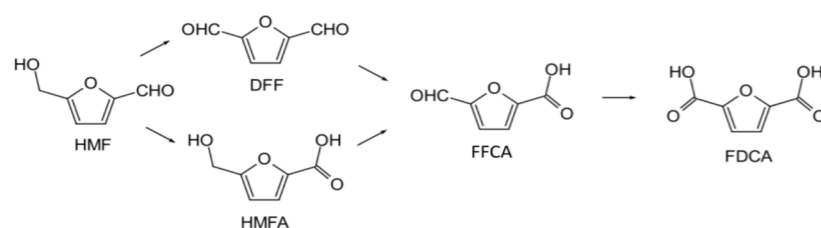
Floor, Martin^{1*}; Muñoz, Rubén¹; Martínez, Mireia¹; Rodà, Sergi²; Carro, Juan³; Martínez, Ángel T³; Ruiz-Dueñas, Francisco Javier³; Guallar, Victor¹

¹Barcelona SuperComputing Center - Centro Nacional de Supercomputación, Barcelona, España;

²Nostrum Biodiscovery S.L., Barcelona, Spain; ³Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España

*mfloor@bsc.es

Los bioplásticos ofrecen una alternativa ecológica a los polímeros convencionales derivados de petroquímicos. Sin embargo, su uso generalizado se ha visto limitado por el desafío de generar eficientemente los sustratos monoméricos necesarios para su síntesis. El polietileno furanoato (PEF), un actor crucial en este ámbito, depende de la síntesis de furano-2,5-dicarboxilato (FDCA) a partir de la oxidación de hidroximetilfurfural (HMF), un compuesto orgánico derivado de la deshidratación de azúcares reductores (Esquema 1). Las enzimas HMF oxidasas (HMFO) (EC: 1.1.3.47), dentro de la familia de las flavoproteínas oxidantes tipo glucosa-metanol-colina, son centrales en esta síntesis. A pesar de su importancia, el paso oxidativo final para producir FDCA (i.e., FFCA a FDCA) constituye la principal limitante debido a la acotada cantidad de enzimas conocidas capaces de catalizar esta reacción eficientemente. Dada la necesidad apremiante de encontrar mejores soluciones enzimáticas para agilizar el desarrollo comercial de bioplásticos, diseñamos un nuevo protocolo de bioprospección computacional, con el cual, empleando búsquedas masivas de similitud de secuencias, simulaciones Monte Carlo, cálculos de ingeniería de proteínas y aprendizaje supervisado, exploramos decenas de miles de nuevas HMFO en búsqueda de mejores catalizadores para la producción de FDCA. Con el objetivo principal de identificar nuevas enzimas que exhibieran una mejora en el paso final de oxidación, caracterizamos nuevas HMFO con buena actividad catalítica y con un gran potencial para su medra. Estos hallazgos representan un avance significativo hacia la optimización de la producción de bioplásticos. No obstante, además de ofrecer soluciones potenciales en la síntesis de PEF, también definen la frontera y las complejidades inherentes al campo de la bioprospección *in silico* para la concreción de nuevos descubrimientos biocatalíticos.



Esquema 1. Cascada de oxidaciones para la conversión de HMF a FDCA.

Financiación:

Proyecto PLEC2021-007690 financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033 y por la Unión Europea NextGenerationEU/PRTR; Proyecto ROBUSTOO, financiado por la Unión Europea bajo el Acuerdo de Subvención No 101135119; y Plataforma Temática Interdisciplinar Susplast, CSIC

O2

DESARROLLO DE UN MÉTODO COLORIMÉTRICO DE SCREENING PARA LA DETECCIÓN DE LA INSERCIÓN SIMULTÁNEA DE MÚLTIPLES COPIAS GÉNICAS EN *BACILLUS SUBTILIS* MEDIANTE CRISPR-CAS9

Ferrando, Jordi*; Filluelo, Oriana; Picart, Pere

Universitat de Barcelona, Barcelona, España

*jferranu7@alumnes.ub.edu

Bacillus subtilis destaca por ser un excelente productor de enzimas industriales, en parte debido a su rápido crecimiento, elevada capacidad para secretar proteínas al medio extracelular y su reconocido estatus GRAS (Generalmente Reconocido como Seguro). No obstante, pese a los notables avances en el campo de la ingeniería genética para la regulación y manipulación de genes, aún persiste un desafío crucial: la eficiente inserción de múltiples copias de un gen en *B. subtilis*. Para abordar esta necesidad, presentamos una estrategia innovadora basada en el sistema CRISPR-Cas9. Por primera vez, hemos desarrollado y demostrado conceptualmente un método de screening eficaz que permite detectar la inserción simultánea de hasta tres copias génicas en el cromosoma de *B. subtilis* según el color de las colonias (amarillas/blancas). Para ello, se integraron hasta tres copias del operón *crtMN* de *Staphylococcus aureus*, cuya expresión produce un pigmento amarillo, en tres puntos diferentes dentro del cromosoma de *B. subtilis*, resultando en la obtención de cepas formadoras de colonias amarillas. A continuación, desarrollamos un sistema CRISPR-Cas9 basado en un único plásmido portador de un ARN guía específico, dirigido al operón *crtMN*, y un molde de reparación editable para permitir la sustitución simultánea de los múltiples operones *crtMN* por el gen de interés mediante recombinación homóloga. De este modo, es posible diferenciar las colonias recombinantes blancas, que sólo aparecen si se sustituyen los múltiples operones *crtMN* por el gen deseado, de las colonias amarillas con ediciones genéticas defectivas, manteniendo al menos una copia intacta del operón *crtMN*. Este novedoso sistema facilita la construcción de cepas de *B. subtilis* con una elevada expresión del gen de interés de manera sencilla y eficiente, sin necesidad de marcadores de resistencia ni plásmidos, y en un tiempo de siete días, demostrando el potencial que la implementación de esta tecnología alberga en fines biotecnológicos.

Financiación:

Este trabajo ha sido subvencionado por el Pla de Doctorats Industrials del Departament de Recerca i Universitats de la Generalitat de Catalunya con el apoyo de Gestió d' Ajuts Universitaris de Recerca con la beca número 2021 DI 77 concedida a Jordi Ferrando Núñez.

Referencias:

Ferrando J, Filluelo O, Zeigler DR, Picart P. Barriers to simultaneous multilocus integration in *Bacillus subtilis* tumble down: development of a straightforward screening method for the colorimetric detection of one-step multiple gene insertion using the CRISPR-Cas9 system. *Microb Cell Fact* 22, 21 (2023).

O3

GENERACIÓN DE NOVO DE DERIVADOS METILADOS EN LAS POSICIONES 5 Y 7 DE CHALCONA DE NARINGENINA Y NARINGENINA

Serna-Diestro, Juan^{1,2,3*}; Pérez-Valero, Álvaro^{1,2,3}; Fernández, Javier^{1,2,3}; Villar, Claudio J.^{1,2,3}; Lombó, Felipe^{1,2,3}

¹Departamento de Biología Funcional, Universidad de Oviedo, Oviedo, España; ²Instituto Universitario de Oncología del Principado de Asturias, Oviedo, España; ³Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias, Oviedo, España

*sernadjuan@uniovi.es

El interés por la producción industrial de flavonoides se ha incrementado durante los últimos años. Estos metabolitos secundarios de origen vegetal destacan por sus actividades antioxidantes, antiinflamatorias y antitumorales¹. De entre ellos, los derivados metilados presentan una mayor biodisponibilidad oral, mejor transporte a través de membrana y mayor estabilidad². Sin embargo, su extracción a partir de los productores vegetales naturales es insuficiente y su síntesis química, además de cara, es muy laboriosa, siendo el uso de microorganismos como biofactorías una solución a este problema³. Este trabajo se ha centrado en la generación de rutas biosintéticas heterólogas de derivados metilados en las posiciones 5 y 7 de la chalcona de naringenina y de naringenina en la bacteria *Streptomyces albidoflavus*. Los flavonoides metilados en la posición 5 y dimetilados en las posiciones 5 y 7 se originan en una menor proporción en la naturaleza que el resto de los flavonoides, debido a lo cual es un campo ampliamente lleno de oportunidades de estudio². Un total de 6 genes de origen vegetal (*TAL*, *4CL*, *CHS*, *CHI*, *7-OMT* y *5-OMT*) son necesarios para la generación de dichos derivados metilados, todos ellos integrados a lo largo del cromosoma de la bacteria elegida como factoría. Como resultado se ha obtenido la producción de 43,42 µg/L de helichrisetina y 79,92 µg/L de flavokavaina C, ambos derivados metilados de chalcona de naringenina. Por otro lado, se identificaron putativamente los derivados metilados de naringenina, 5-metil naringenina y 5,7-dimetil naringenina, llegando a unos niveles de producción de alrededor de 4,02 mg/L y 2,89 mg/L respectivamente. Estos resultados se presentan a nuestro conocimiento como las primeras generaciones *de novo* de estos compuestos en un hospedador heterólogo, abriendo el abanico a la investigación de las diferentes actividades y usos de estos compuestos.

Referencias/Financiación:

1. Kumar S, Pandey AK. *Sci. World J.*, 2013. doi: 10.1155/2013/162750.
2. Koirala N, et al. *Enzyme Microb Technol.*, 2016. doi: 10.1016/j.enzmictec.2016.02.003
3. Pyne ME, et al. *Plant Physiol.*, 2019. doi: 10.1104/pp.18.01291

Esta investigación ha sido financiada por el Principado de Asturias (Programa de ayudas a organismos públicos para apoyar las actividades de I+D+I de sus grupos de investigación: AYUD/2021/51347), por el Programa Severo Ochoa de Ayudas Predoctorales para la investigación y docencia del Principado de Asturias (PA-21-PF-BP20-150, A.P.-V.), por el Programa de Ayudas FPI del MICINN (PRE2022-102792, J.S.-D.), el proyecto PID2021-127812OB-I00 del MICINN, y el proyecto EU Horizon 2020 no. 814650 SynBio4Flav.

O4

LA HERENCIA MITOCONDRIAL PUEDE AFECTAR EL CRECIMIENTO DE *PLEUROTUS OSTREATUS* DEBIDO A LA INTERACCIÓN ENTRE EL GENOMA NUCLEAR Y MITOCONDRIAL

Garde, Edurne^{1,2*}; Pérez, Gumer^{1,2}; Ruiz, Jusdin^{1,2}; Jiménez, Idoia^{1,2}; Pisabarro, Antonio G.^{1,2}; Ramírez, Lucía^{1,2}

¹Universidad Pública de Navarra, Pamplona, España; ²Instituto de Investigación Multidisciplinar en Biología Aplicada (IMAB), Pamplona, España

*edurne.garde@unavarra.es

Pleurotus ostreatus es un hongo filamentoso comestible ampliamente distribuido con valor nutricional y propiedades biotecnológicas. En un ciclo de vida regular, los monocariontes pueden donar o aceptar otro núcleo. Cuando un monocarionte puede aceptar y donar su núcleo de manera indistinta, se producen cruces bidireccionales. Este escenario puede crear conflictos entre los genomas nuclear y mitocondrial, y puede ocurrir "esterilidad masculina". La composición mitocondrial del monocarionte que acepta el núcleo permanece en el nuevo dicarionte. Las mitocondrias son responsables de la respiración celular y juegan un papel esencial en la respuesta al estrés. Para analizar la interacción entre el núcleo y las mitocondrias y cómo esta interacción podría afectar el crecimiento y la aptitud de la cepa, obtuvimos cepas dicarióticas con la misma composición nuclear pero diferentes tipos de mitocondrias. Utilizamos monocariontes de la misma progenie de crecimiento rápido (F) y lento (S) (conteniendo las mismas mitocondrias: m) cruzados con otra cepa salvaje (T) que contiene una mitocondria diferente (t) y construimos dicariontes con la misma composición nuclear pero diferentes complementos mitocondriales: FxT y SxT con mitocondrias m o t. Las cepas se cultivaron bajo estrés abiótico variando las fuentes de carbono y temperatura. También se caracterizaron los cuerpos fructíferos. Las cepas con mitocondrias heredadas del probador (t) presentaron tasas de crecimiento y valores de aptitud más altos. En los dicariontes de crecimiento rápido, no se encontraron diferencias entre las cepas. Sin embargo, una de las cepas que involucra una cepa parental de crecimiento lento mostró diferencias significativas en la tasa de crecimiento dependiendo de las mitocondrias. Demostramos la interacción entre las mitocondrias y el núcleo, cómo el genoma nuclear determina la respuesta de las mitocondrias y cómo afecta la tasa de crecimiento y las características del cuerpo fructífero.

SESION II: Biotecnología Farmacéutica

13

EL AVANCE HACIA LOS ENSAYOS CLÍNICOS DE MTBVAC: SU HISTORIA DESDE UNA PERSPECTIVA MOLECULAR, INMUNOLÓGICA E INDUSTRIAL

Martín, Carlos^{1,2}; Gonzalo-Asensio, Jesús^{1,2*}

¹Grupo de Genética de Micobacterias, Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza IIS-Aragón, Zaragoza, España; ²CIBER de Enfermedades Respiratorias, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

*jagonzal@unizar.es

La vacuna contra la Tuberculosis MTBVAC es una vacuna viva consistente en una cepa del patógeno humano, *Mycobacterium tuberculosis*, atenuada mediante la eliminación racional de dos genes de virulencia: *phoP* y *fadD26*. MTBVAC fue desarrollada por la Universidad de Zaragoza, como una estrategia de mejora de la centenaria vacuna BCG derivada de una cepa de *Mycobacterium bovis* aislada de las vacas. En 2008, MTBVAC fue transferida a la farmacéutica Biofabri para su producción industrial. Actualmente, se han llevado a cabo, o están planificados, diferentes ensayos clínicos en humanos con MTBVAC, que incluyen un ensayo de fase 1 sobre seguridad en adultos¹ (Número de ClinicalTrials.gov NCT02013245), un ensayo de fase 1b sobre seguridad en recién nacidos² (NCT02729571), 2 ensayos de fase 2a sobre inmunogenicidad en adultos (NCT02933281) y recién nacidos (NCT03536117), y un ensayo de fase 3 de eficacia en recién nacidos (NCT04975178).

Paralelamente a estos ensayos clínicos, y a la producción industrial de MTBVAC, desde el año 2000, venimos caracterizando los mecanismos moleculares por los cuales dicha vacuna es segura y eficaz. Entre estos mecanismos se encuentran: 1) la falta de lípidos complejos de la envoltura micobacteriana con capacidad de inmunomodular el sistema inmunológico³; 2) la falta de secreción de ESAT-6, considerado el mayor factor de virulencia de *M. tuberculosis*; 3) la secreción de CFP-10, que contiene un gran número de epítomos inmunoestimulantes⁴; 4) la secreción incrementada de antígenos, como la familia Ag85⁵; y 5) la mayor producción de c-di-AMP, un segundo mensajero capaz de estimular el sistema inmune innato⁶.

Todos estos fenotipos correlacionan con los resultados obtenidos en los ensayos clínicos, y en modelos celulares y animales realizados por laboratorios independientes, y permiten un conocimiento molecular sin precedentes de la vacuna MTBVAC.

Referencias:

1. Spertini F, et al. *Lancet Respir Med.*, 2015. doi:10.1016/S2213-2600(15)00435-X
2. Tameris M, et al. *Lancet Respir Med.*, 2019. doi: 10.1016/S2213-2600(19)30251-6
3. Gonzalo-Asensio J, et al. *PNAS*, 2014. doi: 10.1073/pnas.1406693111
4. Aguilo N, et al. *Nat Commun.*, 2017. doi: 10.1038/ncomms16085
5. Solans L, et al. *PLoS Pathog.*, 2014. doi: 10.1371/journal.ppat.1004183
6. Pérez I, et al. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2022. doi: 10.1016/j.omtn.2022.02.011

14

INNOVACIÓN CON FAGOS: DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES

Tomás, María del Mar*

INIBIC-Hospital A Coruña, A Coruña, España

*ma.del.mar.tomas.carmona@sergas.es

La terapia con fagos líticos (también llamada fagoterapia) es una forma médica de control biológico de infecciones bacterianas, que utiliza virus naturales, llamados bacteriófagos o fagos, así como virus sintéticos (o modificados genéticamente) y proteínas derivadas de los fagos, como agentes antibacterianos. Hace más de 100 años desde el inicio de la aplicación de la fagoterapia, sin embargo, en la actualidad está experimentando un resurgimiento en interés, con un número creciente de estudios de casos clínicos publicados debido a la crisis de la resistencia a los antimicrobianos. Por todo ello, la terapia con fagos, se enfrenta a desafíos médicos, biológicos, normativos y económicos. El éxito terapéutico de la fagoterapia frente a las bacterias resistentes a los antimicrobianos dependerá de su aplicación a través de ensayos clínicos, así como a través del “uso compasivo” frente a determinadas infecciones mediante una medicina personalizada. Por ello, es clave la estandarización de protocolos en laboratorios clínicos y servicios para obtener resultados que permitan avalar dicha terapia en el tratamiento de enfermedades infecciosas. En esta presentación, analizamos estos desafíos y desarrollamos las diversas líneas de protocolización en el manejo de los fagos líticos en el laboratorio. Nos centramos en diversas líneas de innovación en fagoterapia basadas en la utilización de fagos líticos naturales en combinación con diversos tratamientos (concretamente inhibidores de mecanismos bacterianos de resistencia a la infección por fagos), que fomentan su acción, así como en proteínas derivadas como lisinas y depolimerasas, y fagos diseñados por ingeniería portando proteínas de interés.

O5

SCO1897 AS A NOVEL TRANSCRIPTIONAL REGULATOR MODULATING PHOSPHORUS HOMEOSTASIS IN *STREPTOMYCES COELICOLOR*

Fernández-García, Gemma¹; Alonso-Fernández, Sergio¹; García-Cancela, Paula²; Corte Rodríguez, Mario²; Montes-Bayón, María²; Manteca, Ángel^{1*}

¹Microbiology Area, Department of Functional Biology, IUOPA and ISPA, Faculty of Medicine, University of Oviedo, Spain; ²Department of Physical and Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry and ISPA, University of Oviedo, Spain

*mantecaangel@uniovi.es

Streptomyces are important biotechnological bacteria from which most antibiotics were discovered. Secondary metabolism and hypha differentiation are closely linked, and phosphate is one of the key modulators of both processes¹. Under phosphate starvation the canonical PhoP transcriptional regulator represses sporulation and activates phosphate import and polyphosphate accumulation by means of the pstA/B/C phosphate transporter, the pstS extracellular phosphate-binding protein and the ppK polyphosphate kinase/adenosine diphosphate kinase². Under high phosphate levels the PhoP transcriptional activity is highly diminished. PhoP represses indirectly antibiotic production increasing cytosolic phosphorus which has a negative effect in secondary metabolism³. Here, we discover the SCO1897 DeoR transcriptional repressor, which is activated under the high cytosolic levels reached in sporulating hyphae and modulates phosphate accumulation into spores. Most of the 1,420 genes whose transcription is affected in the SCO1897 mutant are not affected by PhoP, suggesting that SCO1897 and PhoP have different and complementary roles. For instance, SCO1897 modulates the expression of the SCO1898/1899/1900 ABC phosphate transporter and the SCO4849 phosphatase, alternatives to the PhoP regulated PstA/B/C and PpK to control phosphate import and polyphosphate accumulation in sporulating hyphae. Secondary metabolism, sporulation and germination are pleiotropically influenced by SCO1897. Our results open new avenues to understand *Streptomyces* phosphate metabolic global response, phosphate homeostasis, hypha differentiation and secondary metabolism regulation.

Funding:

“Ministerio de Ciencia, Innovación Universidades / Agencia Estatal de Investigación / Fondo Europeo de Desarrollo Regional” (PID2021-122911OB-I00); “Consejería de Empleo, Industria y Turismo del Principado de Asturias” (SV-PA-21-AYUD/2021/51399). Sergio Alonso was funded by a “Severo Ochoa” predoctoral grant (grant no. PA-20-PFBP19-006) from “Consejería de Ciencia, Innovación y Universidad del Principado de Asturias”.

References:

1. Martin JF, Liras P. *Int J Mol Sci*, 2021. Doi: 10.3390/ijms22031129
2. Ghorbel S, et al. *J Bacteriol*, 2006. Doi: 10.1128/JB.188.2.677-686.2006
3. Barreiro C, Martínez-Castro M. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2019. Doi: 10.1007/s00253-018-09600-2

O6

INGENIERÍA GENÉTICA EN *MYCOLICIBACTERIUM SMEGMATIS* PARA LA PRODUCCIÓN DE 22-HIDROXI-23,24-BISNORCOL-4-EN-3-ONA A ESCALA DE BIORREACTOR

Hernández-Fernández, Gabriel^{1*}; de la Torre, Isabel¹; Acedos, Miguel G.²; García, José L.¹; Galán, Beatriz¹

¹Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, Madrid, España; ²Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas, Madrid, España

*gabriel.hernandez@cib.csic.es

Las sintonas esteroideas C19 como el AD (androstenediona) y el ADD (androstendiendiona) se producen industrialmente utilizando fitoesteros como sustrato y varios mutantes del género *Mycolicibacterium* que tienen bloqueada la degradación de los anillos esteroideos. Sin embargo, debido a la existencia de una ruta catabólica alternativa de esteroides, también se acumula como subproducto un esteroide C22 denominado 22-hidroxi-23,24-bisnorcol-4-en-3-ona (4-HBC), lo que reduce los rendimientos de producción y complica la purificación de las sintonas. En trabajos previos hemos identificado en *Mycolicibacterium smegmatis* el gen *MSMEG_6561*, que codifica una posible aldolasa (Sal) responsable de la transformación de 22-hidroxi-3-oxo-colest-4-en-24-carboxil-CoA en el precursor del 4-HBC denominado (20S)-3-oxegn-4-oxoprene-20-aldehído-carboxaldehído (3-OPA)¹. La delección de *MSMEG_6561* evita la acumulación del contaminante 4-HBC durante la producción de AD. Por otro lado, se ha comprobado en *M. neoaurum* que el intermediario 3-OPA es posteriormente reducido por la reductasa mnOpccR para producir 4-HBC que, cuando se produce de forma mayoritaria, deja de ser un subproducto para convertirse en una sintonas C22 de interés industrial. La reductasa homóloga a mnOpccR en *M. smegmatis* es la reductasa msOpccR (*MSMEG_1623*)². Por otro lado, se hipotetizó que también podría funcionar en la transformación de 3-OPA a 4-HBC el gen *MSMEG_6563*, que codifica una reductasa que se encuentra junto a la aldolasa Sal. Los genes *MSMEG_6563* y *MSMEG_1623* se clonaron independientemente en una cepa de *M. smegmatis* productora de 4-HBC junto con el gen *MSMEG_6561* para estudiar si la presencia de las reductasas junto con la aldolasa podía mejorar el rendimiento de 4-HBC. Cuando se realizaron experimentos de biotransformación en biorreactor con estas cepas utilizando fitoesteros como materia prima se observó que tanto la cepa que expresa la reductasa *MSMEG_6563* como la que expresa la reductasa msOpccR (*MSMEG_1623*) produjeron una mayor cantidad de 4-HBC respecto a la cepa parental.

Referencias y financiación:

- 1 Hernández-Fernández, G., et al. *Microb Biotechnol*, 2023. doi: 10.1111/1751-7915.14270
 - 2 Peng H, et al. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2021. doi: 10.1002/anie.202015462
- Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto FRONTTEST (PID2021-125370OB-I00) y por el contrato FPU21/05101

O7

DEVELOPMENT OF A YEAST BIOASSAY TO SCREEN FOR NIRMATRELVIR DRUG RESISTANCE MUTATIONS IN THE SARS-COV-2 PROTEASE 3CLPRO

Barbero-Úriz, Óscar*; González-Rubio, Gema; Molina, María; Cid, Víctor J.; Fernández-Acero, Teresa

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España

*oscaralb@ucm.es

SARS-CoV-2 is a single-stranded RNA + polarity virus that belongs to coronavirus family. Its genome contains 14 ORFs, 2 of which lead to 2 polyproteins (pp1a and pp1ab) that, in turn, lead to 16 non-structural proteins. To complete its viral cycle these polyproteins are processed by 2 viral essential proteases, 3CLpro (nsp5/Mpro) and PLpro (nsp3). Thus, these proteases are both pharmacological drug targets. In fact, one of the compounds approved for the treatment of COVID-disease, nirmatrelvir, is a competitive inhibitor of 3CLpro. Nowadays, one emerging problem is the clinical selection of variants resistant to nirmatrelvir.

We have developed a bioassay in the model yeast *Saccharomyces cerevisiae* based on the growth inhibition caused by 3CLpro overexpression. When we expose yeast to nirmatrelvir it restores cell growth. The treatment of yeasts expressing the variant 3CLpro^{E166V} resistant to nirmatrelvir leads to an incomplete restoration of growth when compared to wild-type 3CLpro. We have adapted this system to search for resistance mutations to nirmatrelvir in yeast. We have performed a randomized mutagenesis on 3CLpro followed by yeast gap-repair, obtaining 1190 clones. Protease activity assays were performed, obtaining 825 fully active clones. We set a primary nirmatrelvir-resistance screening by exposing these clones to a fixed concentration of nirmatrelvir. 267 clones behaved as resistant and were subsequently subjected to plasmid extraction, DNA sequencing and yeast retransformation for phenotype confirmation. Only 31 of them reproduced the phenotype. When studied in dose-response assays for validation, 5 mutants bearing single, double, or triple point mutations were finally isolated as resistant to nirmatrelvir.

Our screening provides useful predictions about new variants that could arise through the clinical use of nirmatrelvir. This structural and functional knowledge will help to design effective 3CLpro inhibitors that avoid the selection of resistant variants.

Acknowledgment:

The work of PhD student Óscar Barbero is funded by a research trainee contract from the Complutense University of Madrid. This research is funded by the research project PR27/21 (Ayudas para la realización de proyectos de I+D para jóvenes doctores) of the Complutense University of Madrid and the Community of Madrid, and is part of the I+D+i Grant PID2022-138591NB-I00, funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033.

O8

ESTUDIO DE LA FUNCIONALIDAD DE LAS PROTEÍNAS QUINASAS HUMANAS MEK5, ERK1, ERK2 Y ERK5 EN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Fernández-Acero Bascones, Teresa*; Lavilla García, Beatriz; Molina Martín, María; Martín Brieve, Humberto

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid (UCM) e Instituto Ramón y Cajal de Investigaciones Sanitarias (IRYCIS) Madrid

*teresafe@ucm.es

Las rutas de señalización mediadas por MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinases*) regulan procesos fisiológicos fundamentales en los organismos eucarióticos. La levadura *Saccharomyces cerevisiae* se emplea como modelo para el estudio de las rutas de MAPKs debido a su alto grado de conservación, especialmente a nivel de la cascada constituida por tres proteínas-quinasa, la MAPKKK, la MAPKK y la MAPK activadas por fosforilación secuencial. Estas rutas se regulan negativamente mediante la desfosforilación ejercida por fosfatasa como las MKPs (MAPK *Phosphatases*). La ruta de MAPK CWI (*Cell Wall Integrity*) de la levadura responde a estrés, principalmente sobre pared celular para mantener su integridad, y está compuesta por la MAPKKK Bck1, las MAPKKs Mkk1 y Mkk2 y la MAPK Sit2. En este trabajo, hemos encontrado que la expresión en levadura de las MAPK humanas ERK1 y ERK2, pero no de ERK5 ni de una versión truncada constitutivamente activa de la misma, ERK5ΔCt, recupera el crecimiento de mutantes *slt2D* sometidos a estrés. Además, estas condiciones propician la fosforilación de ERK1, ERK2 y de ERK5ΔCt, característica de su activación. Sin embargo, la expresión de una versión hiperactiva de la MAPKK humana Mek5 junto con sus dianas ERK5 y ERK5ΔCt, reemplaza la función del par Mkk1/2-Sit2. Por último, la sobreexpresión de las MKPs humanas DUSP3 y DUSP6 reduce los niveles de fosforilación de ERK1, ERK2 y Sit2 en levadura. Nuestros resultados reflejan que las MAPKs y las MKPs humanas pueden integrarse en la fisiología de la levadura y sustituir la función de las proteínas endógenas en ciertos contextos. Además, dado que estas proteínas están implicadas en procesos patológicos, nuestros resultados suponen un punto de partida en el desarrollo de modelos que permitan su análisis funcional en este organismo, así como el rastreo de compuestos inhibidores de interés farmacológico.

Financiación:

I+D+i PID2022-138591NB-I00, financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033.

SESION III: Biotecnología Ambiental

15

INGENIERÍA METABÓLICA BACTERIANA PARA LA ECONOMÍA CIRCULAR DE PLÁSTICOS

Calonge-García, Alba¹; Capel, Susana¹; Pereyra-Camacho, Marco A.^{1,2}; Pardo, Isabel^{1,2*}

¹Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España; ²Plataforma Temática Interdisciplinar de Plásticos Sostenibles para una Economía Circular, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (SusPlast-CSIC), Madrid, España

*isabel.pardo@cib.csic.es

La gestión sostenible de los residuos plásticos se ha convertido en uno de los grandes retos de la sociedad actual. Desafortunadamente, muchos de los residuos plásticos más abundantes no son aptos para el reciclado mecánico tradicional. Si bien se están desarrollando tecnologías alternativas, como el reciclado químico o el reciclado por disolución, su alto coste hace que aún no sean implementadas de manera generalizada. Adicionalmente, estas tecnologías pueden generar corrientes residuales complejas y potencialmente tóxicas que complican en gran medida su tratamiento posterior. Por ello, el uso de microorganismos como embudos catabólicos para la conversión de estas corrientes en un único producto de valor añadido es considerado como una estrategia de gran potencial para mejorar la viabilidad económica de estas tecnologías de reciclaje alternativas.

En esta presentación, se abordarán ejemplos recientes en los que se han empleado estrategias de ingeniería metabólica sobre bacterias de suelo modelo para convertir compuestos derivados del reciclado químico de plásticos en nuevos bioproductos, concretamente polímeros o precursores de origen microbiano que pueden ser empleados para la fabricación de bioplásticos más sostenibles¹⁻³. Adicionalmente, se introducirán los esfuerzos que se estamos llevando a cabo en la actualidad para convertir a la bacteria *Acinetobacter baylyi* en una nueva plataforma para la producción de bioplásticos con un ciclo de vida circular a partir de residuos de plásticos convencionales. De este modo, pretendemos mostrar cómo la biotecnología microbiana puede contribuir a la Economía Circular de los plásticos.

Referencias/Financiación:

[1] Pardo *et al.* (2020) *Metab Eng.* doi: 10.1016/j.ymben.2020.09.009[2] Werner *et al.* (2021) *Metab Eng.* doi: 10.1016/j.ymben.2021.07.005[3] Sullivan *et al.* (2022) *Science.* doi: 10.1126/science.abo4626

Este trabajo está financiado por el CSIC y la Fundación Reina Sofía, en colaboración con la Fundación Primafrío, a través del acuerdo nº 20210510; MCIN/AEI/10.13039/501100011003 y la Unión Europea "NextGenerationEU/PRTR" bajo el proyecto TED2021-130850A-I00; y la Comunidad Autónoma de Madrid bajo el proyecto 2022-T1/BIO-23939. A.C.G. agradece al CSIC la beca JAE Intro y al Ministerio de Universidades la beca de Formación de Profesorado Universitario (FPU). S.C.N. e I.P.M. agradecen a la CAM sendos contratos de Personal Investigador Predoctoral en Formación y de Atracción de Talento.

16

MICORREMEDIACIÓN DE LODOS DE DEPURADORA: UN RESIDUO POLI-CONTAMINADO CON XENOBIÓTICOS EMERGENTES

Ángeles de Paz, Gabriela¹; Robledo-Mahón, Tatiana^{1,2}; López Rodríguez, María del Mar¹; Guirado-Mendoza, Luna¹; Blanco González, Antonio¹; Martínez Cortizas, Antonio³; Bankole, Paul^{1,2}; Calvo, Concepción^{1,2}; Aranda, Elisabet^{1,2*}

¹Instituto Universitario de Investigación del Agua, Universidad de Granada, Granada, España;

²Departamento de Microbiología de la Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Granada, España; ³Centro de Investigación Interdisciplinar en Tecnologías Ambientales (CRETUS), Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

*earanda@ugr.es

Los procesos de depuración de aguas residuales llevan consigo la generación anual de alrededor de 1,2 millones de toneladas de lodos de depuradora en España. De acuerdo con la normativa, es necesario estabilizarlos antes de su uso como enmendantes de suelos, garantizando con ello la revalorización de estos residuos en el marco de una economía circular. Sin embargo, la composición de estos residuos es de una gran complejidad, conteniendo múltiples xenobióticos, incluidos contaminantes prioritarios y emergentes. En particular, los lodos representan una de las principales fuentes de entrada de fármacos y microplásticos en suelos, con el agravante de no existir hoy en día una normativa reguladora para estas sustancias. La mayoría de estos compuestos son difíciles de eliminar mediante los procesos que usualmente se aplican para la estabilización de estos residuos, como son la digestión anaerobia o el compostaje tradicional. En consecuencia, se hace necesario el desarrollo y aplicación de estrategias más efectivas. El objetivo de este estudio fue optimizar una estrategia de compostaje con bioaumento, empleando hongos con capacidad de eliminar un amplio espectro de xenobióticos. Se seleccionó el hongo *Penicillium oxalicum* XD3.1, un hongo poliextremotolerante con capacidad de eliminar hidrocarburos policíclicos aromáticos, disruptores endocrinos, reguladores lipídicos, así como con capacidad para tolerar la presencia de metales, y alterar la composición de plásticos como el polietileno o el polipropileno en ensayos *in vitro*. Su aplicación en pilas de compostaje en condiciones reales se tradujo en una mejora de la calidad del compost al reducir la cantidad de fármacos como la carbamazepina y de metales pesados como el cobre, respecto a la pila control sin inocular, sin alterar las poblaciones microbianas mayoritarias durante el proceso. Por tanto, la micorremediación se presenta como una estrategia viable para el tratamiento de residuos complejos como los lodos de depuradora.

Financiación:

CTM2017-84332-R, PRPPID2021-123164OB-I00, HE-HORIZON-MSCA-2021-PF-01.

O9

BIOPRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO A PARTIR DE RESIDUOS ALIMENTARIOS MEDIANTE FOTOFERMENTACIÓN UTILIZANDO MUTANTES SUPERPRODUCTORES DE HIDRÓGENO DE *RHODOBACTER CAPSULATUS*

Cuesta-Belvis, Daniel^{1,4}; Valverde-Cañas, Ángel^{1,4}; Cicimov, Viktor²; De Nicolás, Amanda P.¹; Díez, Mario P.³; Díaz, Elena³; De la Rubia, M. Ángeles³; Mohedano, Ángel F.³; Puyol, Daniel¹; Barahona, Emma^{4*}

¹Departamento de Tecnología Química y Ambiental, ESCET, Universidad Rey Juan Carlos, Móstoles, España; ²Faculty of Technology and Metallurgy, Ss. Cyril and Methodius University, Skopje; ³Departamento de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid; ⁴Departamento de Biología y Geología, Física y Química inorgánica, ESCET, Universidad Rey Juan Carlos, Móstoles, España

*emma.barahona@urjc.es

Las bacterias rojas no del azufre, como *Rhodobacter capsulatus*, producen H₂ mediante fotofermentación vía nitrogenasa. Estas bacterias tienen varias ventajas sobre otros sistemas de bioproducción de H₂, como la alta eficiencia de conversión de sustratos, el uso de una amplia variedad de fuentes de carbono, la posibilidad de operar en condiciones ambientales, la reducción del consumo de energía y la alta pureza del hidrógeno producido. A pesar de todas estas ventajas, se requieren tasas de producción más altas y fuentes de carbono más económicas para competir con los métodos convencionales de producción de H₂. Por este motivo, en el trabajo que estamos desarrollando nos centramos, por un lado, en rediseñar genéticamente *R. capsulatus* para incrementar sus tasas de producción de H₂, y por otro, en optimizar y mejorar el proceso mediante la valorización del contenido material y energético de residuos alimentarios.

En los experimentos de producción de H₂ por *R. capsulatus*, se evaluaron tanto la cepa silvestre como un mutante en la hidrogenasa de captación ($\Delta hupAB$). Se utilizó agua de proceso obtenida de la carbonización hidrotermal de residuos alimentarios y un medio mínimo RCV como sustratos en el proceso de fotofermentación. Los experimentos se llevaron a cabo en régimen discontinuo continuamente iluminados. Los mayores niveles de producción de H₂ se observaron en la condición en la que el mutante *hupAB* estaba creciendo en medio RCV sin fuente de nitrógeno (casi 110 mL de H₂/gCOD). No obstante, los valores de producción de H₂ fueron similares a los que se obtuvieron utilizando como sustrato agua de proceso durante las primeras 24 horas, demostrando así que *R. capsulatus* puede producir H₂ a partir de residuos alimentarios.

Financiación:

Proyecto VALPIG4FOOD (TED2021-129595B-100) financiado por MCIN

O10

BIOPRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF LANTHANIDE-BASED NANOPARTICLES

García-García, Paz^{1*}; Serrano-Pelejero, Cristina¹; Castro, Laura²; Díaz, Eduardo¹ and Carmona, Manuel¹

¹Grupo de Microbiología Medioambiental, Departamento de Biotecnología Microbiana y de Plantas, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España; ²Departamento de Ingeniería Química y de Materiales, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Complutense de Madrid (UCM), Madrid, España

*paz.garcia@cib.csic.es

Rare-earth elements (REE) are being used in the last decades for modern technology-based products¹. Lanthanides stand out among REE in applications such as imaging and therapeutics^{2,3} due to their optical and magnetic properties, which are enhanced when lanthanides form nanoparticles (NP). Thus, the main objective of this work was to pioneer the bioproduction of lanthanides-NP (LnNPs) by bacteria as an eco-friendly and cost-effective alternative to their traditional chemical synthesis. In this study, the use of the soil bacterium *Pseudomonas putida* strain KT2440 as a biological nanofactory for LnNPs production was analyzed. The influence of lanthanide concentration (ranging from 0.05 to 1 mM), type of lanthanide (light lanthanides such as lanthanum, cerium and neodymium, and heavy lanthanides as europium, gadolinium, holmium), incubation time (up to 24 hours), and production conditions (resting cells vs growing cells) were evaluated. Moreover, the purification of selected LnNPs was also accomplished. The results obtained showed that REE presented different levels of bacterial toxicity depending on whether they are light or heavy lanthanides, which might be related with their bioavailability in *P. putida*. When using *P. putida* resting cells the production inside the cell of phosphate-lanthanide NPs with filamentous shape and a time-dependent size was observed by transmission electron microscopy coupled with energy dispersive spectroscopy (TEM-EDS). Moreover, LnNPs production correlated with the removal of soluble lanthanide as monitored by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). On the other hand, formation of lanthanide-NP was also checked in growing cells that were cultivated in different low-phosphate minimal media to avoid formation of insoluble Ln precipitates. In summary, the sustainable bioproduction of interesting LnNPs was achieved, and this work paves the way for the scaling-up of the process and the characterization of the potential novel properties of the biologically-synthesized NPs.

References/Financing

1. Science of the Total Environment, 2024, 908, 168210; 2 Chemical Engineering Journal, 2020, 397, 124596; 3 ACS Cent. Sci., 2019, 5, 1496–1506

This work was funded by TED2021-132135B-100 project from Next Generation EU Program.

O11

EL POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE *PERIBACILLUS SIMPLEX* EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA Y LA AGRICULTURA

Manetsberger, Julia^{1*}; Caballero Gómez, Natacha¹; Soria Rodríguez, Carlos²; Benomar, Nabil¹; Abriouel, Hikmate¹

¹Área de Microbiología, Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad de Jaén, Jaén, España; ²Área de Derecho Internacional Público y Relaciones Internacionales, Departamento de Derecho Público y Común Europeo, Universidad de Jaén, Jaén, España

*jmanetsb@ujaen.es

Peribacillus simplex es una bacteria grampositiva, formadora de esporas, de orígenes muy diversos. En particular, forma parte de la comunidad rizobacteriana promotora del crecimiento vegetal de muchos cultivos. Aunque los miembros de la familia *Bacillaceae* se han utilizado ampliamente en la agricultura, *P. simplex* ha permanecido hasta ahora a la sombra de sus parientes más conocidos, como *Bacillus subtilis* o *Bacillus thuringiensis*. Sin embargo, estudios recientes han empezado a desvelar las prometedoras y versátiles propiedades de esta bacteria, sobre todo en aplicaciones agrícolas y medioambientales.

Recientemente, hemos aislado una cepa muy prometedora de *P. simplex* como parte de una colección de bacterias termorresistentes aisladas de cinco olivares españoles, denominada “esporobiota del olivo”. Hemos determinado sus propiedades de resistencia frente a estrés ambiental y agrícola comunes, como la resistencia a metales pesados y la tolerancia a fertilizantes. La cepa candidata mostró un perfil prometedor de actividad antimicrobiana frente a patógenos de origen alimentario y vegetal, incluidas las plagas altamente perjudiciales para las plantas tales como *Xylella fastidiosa*. Además, para desvelar otras propiedades de la cepa hemos determinado su genoma, así como la ultraestructura de sus esporas y sus propiedades de resistencia.

La cepa de *P. simplex* recientemente identificada presenta un promotor potencial biotecnológico. Con vistas a las aplicaciones en la industria agrícola y alimentaria, hemos abordado también los últimos avances en el panorama normativo europeo para facilitar el uso de esta cepa como de otros microorganismos en productos fitosanitarios.

Referencias/Financiación:

Programa de investigación e innovación Horizonte 2020 de la Unión Europea - subvención Marie Skłodowska-Curie n° 101029930 y Universidad de Jaén (equipo de investigación EI_BIO1_2023).

O12

AISLAMIENTO DE FAGOS PARA EL BIOCONTROL DEL PATÓGENO DE PECES *TENACIBACULUM*

García Cervera, Marina; Martínez-Cazorla, Andrea*; Sánchez-Amat, Antonio

Departamento de Genética y Microbiología, Universidad de Murcia, Murcia, España

*a.martinezcazorla@um.es

El incremento de la resistencia microbiana a antibióticos está generando un gran interés en mecanismos alternativos de biocontrol bacteriano. Los virus que infectan a bacterias, bacteriófagos o fagos, están recibiendo una gran atención en este campo. Entre sus ventajas se encuentra el que son muy específicos en su actuación, lo que evita efectos secundarios sobre la microbiota no patógena.

Tenacibaculum es un género bacteriano que origina la enfermedad ulcerativa denominada tenacibaculosis en numerosas especies de peces de interés comercial¹. Para el aislamiento de fagos infectivos sobre esta especie se han utilizado diferentes cepas de *Tenacibaculum* y muestras de agua cedidas por la empresa de acuicultura COOKE España. Mediante la realización de dobles capas de agar ha sido posible aislar diferentes fagos infectivos sobre *Tenacibaculum*. La caracterización de estos fagos ha incluido el establecimiento del rango de huéspedes y la secuenciación y anotación del genoma. Esto ha permitido detectar dos tipos de fagos. Uno de estos consiste en fagos de dsDNA que infectan a *T. soleae*. Es el primer fago descrito que infecta a esta especie, aunque hay descritos algunos fagos de *Polaribacter*² que guardan cierta similitud genómica. El otro tipo de fagos es también de dsDNA e infecta a diversas cepas de *Tenacibaculum*, pero no a *T. soleae*. Los fagos aislados, y otros que se puedan aislar en el futuro, pueden constituir la base para la aplicación de fagoterapia en el control de la tenacibaculosis en peces.

Referencias:

- 1 Mabrok, M. et al. Tenacibaculosis caused by *Tenacibaculum maritimum*: Updated knowledge of this marine fish pathogen. *Front Cell Infect Microbiol* 12, 1068000, doi:10.3389/fcimb.2022.1068000 (2022).
- 2 Bartlau, N. et al. Highly diverse flavobacterial phages isolated from North Sea spring blooms. *ISME J* 16, 555-568, doi:10.1038/s41396-021-01097-4 (2022).

SESION IV: Biocatálisis y Bioprocesos

17

SISTEMAS MULTIENZIMÁTICOS PARA EL DESARROLLO DE ESTRATEGIAS DE CAPTURA Y CONVERSIÓN DE CO₂

Guillén, Marina^{1*}; Carceller, Albert¹; Rodríguez, Roberto¹; Bonet, Kírian¹; Caminal, Gloria²; González, Gloria¹; Casablanca, Antoni¹; Álvaro, Gregorio¹; Romero, Óscar¹

¹Departamento de Ingeniería Química, Biológica y Ambiental, UAB, Bellaterra, España;

²Institut de Química Avançada de Catalunya, IQAC, CSIC, España

*marina.guillen@uab.cat

El Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC) presentó un informe especial sobre los impactos del calentamiento global, considerando que debe mantenerse por debajo de 1,5°C con respecto a niveles preindustriales para responder eficientemente a la amenaza del cambio climático¹. Sin embargo, las emisiones mundiales de gases de efecto invernadero procedentes de las actividades industriales siguen aumentando. La Agencia Internacional de Energía ha propuesto tres iniciativas globales para mitigar las emisiones de CO₂: i) mejorar la eficiencia de la conversión de energía, ii) acelerar el desarrollo de fuentes de energía renovables y iii) aumentar la captura y utilización de CO₂². Por lo tanto, para alcanzar el objetivo de la 'neutralidad de carbono', es esencial fomentar el desarrollo de tecnologías innovadoras de captura y utilización de CO₂ (CCU) que prioricen la simplicidad, la rentabilidad y una supervisión regulatoria rigurosa³. Los biocatalizadores representan una alternativa más ecológica respecto a las CCU basadas en catalizadores químicos, ya que i) son biodegradables, seguros y no tóxicos, ii) se producen a partir de recursos renovables, iii) funcionan en condiciones suaves, lo que conduce a procesos que consumen menos energía, iv) muestran alta especificidad y selectividad y v) no requieren pasos de activación, protección y desprotección de grupos funcionales, lo que lleva a procesos más económicos y con una menor generación de residuos⁴. Por tanto, la biocatálisis juega un papel importante en el desarrollo de las CCU. En el presente trabajo se describen dos estrategias de CCU basadas en sistemas multienzimáticos: i) la producción de ácido láctico a partir de CO₂ y etanol y ii) la producción de dos compuestos de alto valor añadido (ácido fórmico y dihidroxiacetona) mediante el acoplamiento de una estrategia de CCU a una valorización de residuos.

Referencias y financiación:

1 Chen, Y.; Connors, S. Global Warming of 1.5°C: Summary for Policymakers, Technical Summary and Frequently Asked Questions; Masson-Delmotte, V., et al, Eds.; *Intergovernmental Panel on Climate Change*, 2019.

2 International Energy Agency, 2021, 70

3 Lackner, K. S., et al. *Energy Environ. Sci.* 2023, doi:10.1039/d3ee01138k

4 Shi, J.; et al. *Chem. Soc. Rev.* 2015. doi.org/10.1039/c5cs00182j.

Project MEPLAB-CO2 TED2021-129732A-I00, funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033 and by the European Union "NextGenerationEU"/PRTR European Union's Horizon 2020 Research and Innovation programme under Grant Agreement n°761042 (BIOCON-CO2).

Generalitat de Catalunya, 2021 SGR 00143.

18

POTENCIAL DE DIVERSAS OXIDORREDUCTASAS MICROBIANAS EN BIOTECNOLOGÍA INDUSTRIAL

Romero, Elvira*

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España

*eromero@cib.csic.es

La clase de oxidorreductasas (EC 1) agrupa a diversas enzimas que catalizan la transferencia de electrones desde una molécula (reductor) a otra (oxidante). Entre ellas se han descrito varias oxidasas, monooxigenasas, peroxigenasas y reductasas con elevado potencial en industria para reemplazar o complementar procesos de síntesis de química tradicional. Estos biocatalizadores deben ser eficientes, selectivos, robustos, sostenibles y asequibles. Si este no es el caso, se dispone actualmente de las herramientas de Ingeniería de Proteínas necesarias para mejorar sus propiedades¹. Cabe destacar que su utilización a gran escala es esencial para la transición a una economía circular, que permite la utilización de materias primas renovables y la revalorización de residuos, a diferencia de la economía lineal actual.

En esta comunicación oral, serán discutidos varios ejemplos recientes de oxidorreductasas con gran valor en Biotecnología Industrial. En concreto, se presentará el descubrimiento, caracterización y/o optimización de cuatro biocatalizadores con origen distinto, así como sus aplicaciones industriales más relevantes. Estas enzimas fascinantes son: aril-alcohol oxidasa (AAO, EC 1.1.3.7)², ciclohexanona monooxigenasa (CHMO, EC 1.14.13.22)³, peroxigenasa inespecífica (UPO, EC 1.11.2.1)⁴ y azoreductasa-A (AzoA, EC 1.7.1.6).^[5] La AAO sirve para producir diferentes aldehídos bencílicos de interés industrial como vainillina, mientras que la robusta CHMO presenta gran utilidad para producir polímeros como el nailon y el polimetilmetacrilato. Además, se presentará como se ha usado la UPO para mejorar fármacos, así como la aplicación de la AzoA en la industria textil.

Referencias/Financiación:

[1] E. L. Bell, W. Finnigan, S. P. France, A. P. Green, M. A. Hayes, L. J. Hepworth, S. L. Lovelock, H. Niikura, S. Osuna, E. Romero, K. S. Ryan, N. J. Turner, S. L. Flitsch, *Nat. Rev. Methods Primers* 2021, 1, 1-21.

[2] E. Romero, P. Ferreira, A. T. Martínez, M. J. Martínez, *Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteom.* 2009, 1794, 689-697.

[3] E. Romero, J. R. Gómez Castellanos, A. Mattevi, M. W. Fraaije, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2016, 55, 15852-15855.

[4] E. Romero, M. J. Johansson, J. Cartwright, G. Grogan, M. A. Hayes, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2022, 61, e202207831.

[5] E. Romero, S. Savino, M. W. Fraaije, N. Lončar, *ACS Chem. Biol.* 2020, 15, 504-512.

El trabajo actual en el CIB, en colaboración con el IRNAS (A. Gutiérrez) y BSC (V. Guallar), es parte del proyecto TED2021-129264B-C31 financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033/ y por la Unión Europea NextGenerationEU/PRTR (proyecto OxyLipids).

19

HIDROLASAS FÚNGICAS PARA EL APROVECHAMIENTO DE LA BIOMASA VEGETAL Y EL DESARROLLO DE BIOPROCESOS SOSTENIBLES

Martínez, María Jesús*

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España

*mjmartinez@cib.csic.es

Los hongos secretan una gran batería de hidrolasas para la degradación de la biomasa vegetal, principal reservorio de carbono de los ecosistemas terrestres y fuente de recursos inagotables para la producción de energías renovables y otros productos de valor añadido. Nuestra investigación se centra en buscar, producir y caracterizar nuevos y robustos biocatalizadores para la biodegradación/biotransformación de la biomasa vegetal, especialmente de lípidos y polisacáridos (celulosa y hemicelulosa) de residuos agroindustriales, con el fin de mejorar su gestión y maximizar su valor.

Estos estudios se iniciaron con una lipasa versátil secretada por *Ophiostoma piceae*, seleccionada por su capacidad de hidrolizar triglicéridos y ésteres de esteroides de la madera, compuestos que producen problemas durante la fabricación de pasta de papel, tras eliminar el cloro del proceso de blanqueo. La producción de la enzima recombinante en *Pichia pastoris* permitió realizar estudios estructura-función, inmovilizarla, y demostrar su utilidad en la síntesis de nutracéuticos (ésteres de esteroides), aromas, y biodiesel a partir de residuos oleaginosos. Actualmente se investiga el uso de esta lipasa para la degradación/síntesis de ácido poliláctico, un bioplástico biodegradable.

En relación con la degradación de los polisacáridos de la pared celular vegetal, hemos analizado en profundidad el sistema enzimático de *Talaromyces amestolkiae*, caracterizando distintas celulasas y hemicelulasas. No solo se ha demostrado su potencial para la sacarificación de residuos vegetales y para la obtención de prebióticos, sino que hemos comprobado que algunas de estas enzimas, y sus variantes obtenidas por mutagénesis dirigida, sintetizan eficientemente nuevos glicoconjugados con propiedades bioactivas.

Todos nuestros estudios pretenden contribuir a un desarrollo sostenible utilizando biocatalizadores, de acuerdo con los conceptos de biorrefinería y economía circular. En ese contexto, en el marco de la plataforma TransENER del CSIC, estamos construyendo una planta piloto para producir etanol 2G a partir de residuos lignocelulósicos pretratados con un solvente verde.

O13

NUEVA RUTA SINTÉTICA IN VITRO PARA LA PRODUCCIÓN DE ACETOÍNA BIO-BASADA A PARTIR DE ETANOL

Muñoz-Sánchez, David*; Carceller, Albert; Romero, Óscar; Álvaro, Gregorio; Guillén, Marina

Departamento de Ingeniería Química, Biológica y Ambiental, Escuela de Ingeniería, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España

*david.munoz.sanchez@uab.cat

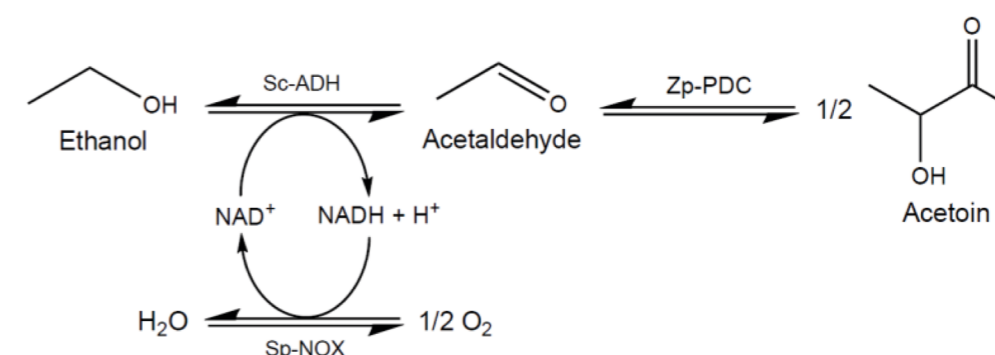


Figura 1. Reacción multienzimática para la síntesis de acetoína a partir de etanol con una alcohol deshidrogenasa de *Saccharomyces cerevisiae*, una piruvato descarboxilasa de *Zymobacter palmae* y una NADH oxidasa de *Streptococcus pyogenes*.

La acetoína (3-hidroxi-2-butanona) es un compuesto químico quiral de interés industrial con diversas aplicaciones, incluyendo su uso como aromatizante alimentario. Para superar algunas limitaciones de su síntesis química convencional¹, la biocatálisis ofrece condiciones de reacción suaves y un proceso más verde y sostenible². En este estudio, se ha desarrollado una novedosa reacción multienzimática en un reactor *one-pot* para la síntesis de acetoína a partir de etanol (Fig. 1). El etanol es oxidado a acetaldehído mediante una alcohol deshidrogenasa de *Saccharomyces cerevisiae*, reduciendo el cofactor NAD⁺ a NADH. La acetoína se produce a partir de dos moléculas de acetaldehído mediante una piruvato descarboxilasa de *Zymobacter palmae*³. Con el objetivo de reducir los costes del proceso asociados al requerimiento de cofactor, se acopla una tercera reacción catalizada por la NADH oxidasa de *Streptococcus pyogenes* con el fin de regenerar el NAD⁺. En primer lugar, se ha caracterizado la reacción multienzimática para determinar sus condiciones óptimas de operación (pH 7.5, 1 mM NAD⁺). Posteriormente, se han determinado las actividades enzimáticas óptimas así como los ratios de enzima del sistema: 100 U·mL⁻¹ Zp-PDC, una relación Sc-ADH:Zp-PDC de 0.5 y una relación Sp-NOX:Zp-PDC de 1.27. Bajo estas condiciones, el rendimiento de la reacción y la conversión tras 8 horas fueron del 62 y 65%, respectivamente, obteniendo 13.2 mM de acetoína. Finalmente, se han evaluado las limitaciones por transferencia de oxígeno en la reacción. Llevando a cabo el sistema bajo burbujeo de oxígeno, las métricas de reacción obtenidas mejoran, alcanzando un rendimiento y una conversión tras 2 horas del 69% y 84%, respectivamente, obteniendo 17.2 mM de acetoína. Esto supone un aumento de 4.2 veces en la productividad volumétrica, alcanzando 759.5 mg de

acetoina $\cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$. Este estudio demuestra que esta reacción multienzimática con regeneración de cofactor representa una alternativa viable para la síntesis de acetoina.

Referencias/Financiación:

1. Xiao Z, Lu JR. *J Agric Food Chem.*, 2014. doi:10.1021/jf5013902
2. Bommarius AS. *Annu Rev Chem Biomol Eng.*, 2015. doi:10.1146/annurev-chembioeng-061114-123415
3. Carceller A, et al. *Environ Sci Technol.*, 2023. doi:10.1021/acs.est.3c05455

Este estudio se engloba en el Proyecto DEMUBI PID2022-139725OA-I00 financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033/FEDER, UE. Este trabajo se recoge en el grupo de investigación de Ingeniería de Bioprocesos y Biocatálisis Aplicada (Generalitat de Catalunya, 2021, SGR 00143). D.M.S. agradece su beca de Personal Investigador en Formación (PIF) a la Universidad Autónoma de Barcelona.

O14

DESARROLLOS DE INGENIERÍA ENZIMÁTICA PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES DE AVIACIÓN

Dolz, Mikel^{1*}; Viña-González, Javier¹; Alcalde, Miguel²

¹EvoEnzyme SL, Madrid, España; ²Instituto de Catálisis y Petroleoquímica ICP-CSIC, Madrid, España

*mdolz@evoenzyme.com

EVOENZYME SL, empresa *spin-off* del ICP-CSIC, comercializa enzimas diseñadas para diversos sectores industriales como el químico y farmacéutico. Su amplia experiencia en evolución dirigida e ingeniería de proteínas le permite ofrecer soluciones personalizadas para el desarrollo de biocatalizadores en contextos biotecnológicos. En el marco del proyecto MADRID VUELA SOSTENIBLE, EVOENZYME participa en la creación de un HUB de Innovación liderado por REPSOL, integrado por IMDEA Energía, ARIEMA y EVOENZYME, y con la colaboración de IBERIA, CSIC y TÉCNICAS REUNIDAS como asesores. Este proyecto de la Comunidad de Madrid busca dar respuesta a las necesidades tecnológicas de la producción de combustibles de aviación sostenibles (SAF). Un punto de gran interés es el desarrollo de tecnologías para la recuperación de residuos lignocelulósicos como materia prima en la producción bioetanol para SAF. Para ello, se presenta un enfoque integral para la ingeniería y selección de lacasas para la deslignificación de residuos. Este enfoque incluye la optimización de la expresión de lacasas en superficie de levadura para un cribado de alta capacidad mediante FACS y la evaluación de la actividad enzimática sobre diferentes tipos de lignina utilizando sistemas lacasa-mediador para seleccionar las enzimas más eficientes. El proyecto también incluye la selección y optimización de celulasas para la hidrólisis de celulosa en azúcares fermentables. Tras la selección de las variantes de mayor interés de la colección de celulasas de la compañía se realiza una valoración de la estabilización de las enzimas mediante métodos computacionales. En definitiva, EVOENZYME aporta al proyecto su experiencia en ingeniería de proteínas y selección de enzimas, contribuyendo al desarrollo de tecnologías innovadoras en entornos de aviación sostenibles.

Financiación:

Este trabajo está financiado por HUB de Innovación de Combustibles de Aviación Sostenibles (SAF) de la Comunidad de Madrid expediente N°69/070812.9/23

O15

PRODUCCIÓN DE POLIHIDROXIBUTIRATO EN CULTIVOS DE ALTA DENSIDAD CELULAR EMPLEANDO *CUPRIAVIDUS NECATOR* 545 A PARTIR DE ACEITE DE OLIVA USADO EN COCINA

Rodríguez, Alberto^{1,2*}; Hernández-Herreros, Natalia^{1,2}; Rivero-Buceta, Virginia^{1,2}; Rodríguez-Carreiro, Marina²; Sanz, Eugenio^{1,2}; Prieto, M. Auxiliadora^{1,2}

¹Plataforma Temática Interdisciplinar de Plásticos Sostenibles para una Economía Circular, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (SusPlast-CSIC), Madrid, España; ²Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España

*arodriguez@cib.csic.es

El aceite de oliva es una de las grasas vegetales más recomendadas para su consumo en alimentación, debido a su alto contenido en ácidos grasos insaturados y polifenoles, que actúan como antioxidantes naturales¹. Su gestión como residuo supone un riesgo potencial de contaminación para ecosistemas terrestres y acuáticos¹. En la actualidad, la mayor parte del aceite de oliva usado en cocina (AOUC) se incinera para obtener energía, con la consecuente emisión de gases de efecto invernadero al medio ambiente. A pesar de que puede ser una materia prima interesante en la síntesis de biodiésel, el rendimiento de esta transformación es muy bajo en comparación con otros aceites vegetales². Desde el punto de vista de la biorrefinería, su uso como sustrato en la producción de polihidroxialcanoatos (PHA) es una alternativa interesante de revalorización, reduciendo los costes de producción². *Cupriavidus necator* 545 es una bacteria ampliamente conocida por su capacidad de acumular intracelularmente estos compuestos a partir de grasas animales y vegetales². Este trabajo representa la primera producción de polihidroxibutirato a partir de AOUC en cultivos de alta densidad celular con este microorganismo a escala de biorreactor de laboratorio. En una prueba de concepto en matraz agitado, esta bacteria produjo 8.1 g/l de biomasa total a partir de 10 g/l de AOUC, con un contenido de PHA del 76.9% en peso. Los ensayos en fedbatch en biorreactor de 2 l, alimentando las fuentes de C y N por pulsos, alcanzaron 56.6 g/l de biomasa y 45.3 g PHA/l, con productividades de 0.79 y 0.63 g/(l·h), respectivamente. Estos resultados demuestran el potencial uso del AOUC como sustrato carbonado económico para este bioproceso, de cara a una producción de PHA a escala industrial.

Referencias:

- [1] International Olive Council, ICO, (2023). Economic and Promotion Unit – Economic Research and Statistics Department.
[2] Ruiz, A. y cols., (2019). *J. Biotechnol*, 306, 915.

Financiación:

MCIN/AEI, referencia EQC2021-006941-P.

O16

TÉCNICAS DE ENCAPSULACIÓN MICROBIANA PARA EL CONTROL DE POBLACIONES MICROBIANAS EN CO-CULTIVOS

Amaro da Cruz, Alba*; García Román, Miguel; Moya Ramírez, Ignacio

Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, Granada, España

*albaamaro@ugr.es

El principal reto que afronta la bioindustria es el uso eficiente, centralizado y a gran escala de subproductos agroindustriales como materia prima. La heterogeneidad de estos subproductos dificulta el aprovechamiento integral de todas sus fracciones, en particular cuando se trata de residuos lignocelulósicos (RL). Este desafío se puede abordar mediante co-cultivos de diversos microorganismos. Esta estrategia permite la división de tareas entre los miembros de un consorcio microbiano, lo que le otorga, por ejemplo, la capacidad de expandir el espectro de fuentes de carbono que puede consumir en una misma operación. De esta manera, se pueden diseñar consorcios de microorganismos capaces de aprovechar las principales fracciones de carbono de cualquier RL y convertirlas en productos bioquímicos de alto valor añadido. Sin embargo, la complejidad de los consorcios microbianos y la falta de control sobre las poblaciones de las especies que los componen pueden limitar sus aplicaciones.

Con la intención de poder controlar la distribución de poblaciones en co-cultivos, estamos desarrollando co-cultivos espacialmente organizados (CCEO) como método de control simple y eficaz de las poblaciones. Estos CCEO se basan en la encapsulación en hidrogeles de alginato de al menos un componente del consorcio. Para lograr la encapsulación de los microorganismos seleccionados (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas putida*, *Yarrowia lipolytica* y *Kluyveromyces marxianus*) se probaron diversos materiales de recubrimiento del alginato y se ha optimizado el número de capas de estos. Además, hemos estudiado su efecto en la viabilidad y crecimiento celular y en la localización de los microorganismos dentro de las esferas de hidrogel.

El protocolo que hemos desarrollado nos permite encapsular estos cuatro microorganismos de manera eficiente, sin detección de escape microbiano durante al menos 24 h y manteniendo la viabilidad celular dentro de las cápsulas.

Referencias/Financiación:

Esta investigación ha sido financiada por el proyecto TED2021-131194 A-I00 del MCIN/AEI/<https://doi.org/10.13039/501100011033> y los fondos EU NextGenerationEU/ PRTR

SESION V: Biotecnología de Alimentos

I10

PROBIÓTICOS: DEL LABORATORIO AL CONSUMIDOR

Rodríguez Gómez, Juan Miguel*

Dpto. Nutrición y Ciencia de los Alimentos, Universidad Complutense de Madrid, España

*jmrodrig@ucm.com

Durante las primeras décadas del siglo XX, los primeros probióticos comerciales se elaboraban en farmacias y se vendían bajo prescripción médica para prevenir o aliviar trastornos gastrointestinales, incluyendo las temibles fiebres tifoideas. Las compañías de la época tuvieron una intensa relación con los círculos médicos, en un momento en el que ese sector estaba vivamente interesado por los efectos terapéuticos del yogur. Este hecho contribuyó decisivamente al prestigio de esos productos. Posteriormente, el descubrimiento de los antibióticos y su uso generalizado para el tratamiento de las enfermedades infecciosas hizo que decayera el interés por los probióticos. Sin embargo, la creciente preocupación por la proliferación de bacterias resistentes a los antibióticos posibilitó un nuevo auge de los probióticos durante el último cuarto del siglo pasado. Desde entonces se han logrado avances científicos y clínicos que han permitido el desarrollo y comercialización de diversos productos debidamente contrastados. Paralelamente, también ha aumentado la demanda de probióticos por parte de unos consumidores cada vez más conscientes de la estrecha relación entre la microbiota y la salud. Desafortunadamente, en algunos casos se ha aprovechado esta coyuntura para aplicar el término “probiótico” a productos que no encajan en este concepto y/o cuyos presuntos beneficios carecen de evidencias. Este mal uso, intencionado o no, ha propiciado el escepticismo sobre la utilidad real de los probióticos entre un elevado porcentaje de profesionales sanitarios. La preocupación por esta deriva propició que, entre 2001 y 2002, una comisión de expertos de la FAO y la OMS estableciera unas directrices con los requerimientos mínimos necesarios para que a un producto se le pudiera otorgar el apelativo de probiótico, incluyendo un correcto etiquetado. Una apuesta decidida por la mejora de los estándares de seguridad, eficacia y calidad fortalecerá la credibilidad de los probióticos y fomentará la comercialización de productos de alta calidad.

Referencias:

Jackson SA et al. Improving End-User Trust in the Quality of Commercial Probiotic Products. *Front Microbiol.* 2019;10:739.

Mozota M, Rodríguez JM. Probióticos: ¿por qué es importante la calidad? *An Microbiota Probióticos Prebióticos.* 2021;2:95-9.

Suez Jet al. The pros, cons, and many unknowns of probiotics. *Nat Med.* 2019;25:716-729.

I11

POSTBIÓTICOS COMO MODULADORES DEL MICROBIOMA PARA EL FUTURO

Ramón Vidal, Daniel^{1,2*}¹ADM-Biopolis, Valencia, España; ²Universidad Cardenal Herrera CEU, Valencia, España

*Daniel.RamonVidal@adm.com; Daniel.RamonVidal@uchceu.es

Un postbiótico es una preparación de microorganismos inanimados y/o sus componentes que confiere un beneficio para la salud del huésped (ISAPP, 2021). A diferencia de los probióticos, ejercen su función cuando están muertos. Este hecho plantea dos cuestiones. Por un lado, una aparente paradoja científica de cual es la razón por la que un organismo muerto sigue siendo funcional. Evidentemente, estará ligada a que la molécula responsable de la funcionalidad del microorganismo original no se haya visto afectada por el tratamiento de inactivación. Por otro, genera una gran oportunidad tecnológica, ya que pueden añadirse a matrices agroalimentarias que posteriormente sufran un proceso de esterilización industrial sin perder su funcionalidad. Este hecho está disparando el desarrollo e implementación comercial de este tipo de productos. A lo largo de esta presentación describiremos la situación actual de la investigación en postbióticos y comentaremos los pasos críticos para escalar su uso del laboratorio al mercado. Lo ilustraremos con algunos ejemplos de postbióticos desarrollados en nuestro laboratorio que ya están en el mercado.

O17

EDICIÓN GENÉTICA CON CRISPR-CAS9 EN *ASPERGILLUS NIGER* PARA EL DESARROLLO DE MUTANTES EN LA PRODUCCIÓN DE OTA

Gómez-Albarrán, Carolina^{1*}; Gago, Sara²; Gil-Serna, Jéssica¹; Valero, Clara²; Van Rhijn, Norman²; Vázquez, Covadonga¹; Bromley, Michael²; Patiño, Belén¹

¹Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España; ²Manchester Fungal Infection Group, Faculty of Biology, Medicine and Health, The University of Manchester, Manchester, Reino Unido

*caroli13@ucm.es

Aspergillus niger es un hongo filamentoso capaz de producir ocratoxina A (OTA), un metabolito secundario tóxico que representa un grave riesgo para la seguridad alimentaria. La síntesis de OTA está regulada por un conjunto de genes estructurales que codifican enzimas como la halogenasa. Las técnicas de edición genética como CRISPR/Cas9 permiten mejorar el conocimiento sobre la función y regulación de estos genes reduciendo los problemas asociados a la dificultad de inducir la recombinación homóloga en algunos hongos. Este trabajo pretende desarrollar una metodología basada en CRISPR/Cas9 dirigida al gen que codifica la halogenasa con el fin de generar mutantes no productores de OTA en cepas de *Aspergillus niger*.

En primer lugar, se diseñaron dos crRNA al inicio y final del gen de la halogenasa, así como cebadores para preparar la plantilla de reparación que contiene un casete que incorpora un gen de resistencia a higromicina. La formación y transformación de los protoplastos se realizó a partir del protocolo de PEG-CaCl₂ según lo descrito por Van Rhijn et al. (2020), utilizando un complejo ribonucleoproteico exógeno. La selección de mutantes se basó en el crecimiento de colonias en medio selectivo con higromicina. En ambas cepas, se observó el crecimiento de colonias resistentes a higromicina, y se calculó una tasa de eficacia del 2%. La validación de los transformantes por PCR confirmó la incorporación del casete de higromicina (1650 pb) en algunos de los transformantes. Además, los resultados en la secuenciación mostraron mutantes con un único corte en la guía, y mutantes que presentaban cortes en ambas guías. En cuanto a la producción de OTA, los mutantes obtenidos producían un 97% menos.

Este trabajo es el primero en utilizar con éxito el complejo ribonucleoproteico exógeno de la tecnología CRISPR/Cas9 para silenciar algún gen del clúster de producción de OTA en *Aspergillus niger*.

Referencias/Financiación:

Van Rhijn et al. (2020) Fungal Genetics and Biology 145: 103479.

Trabajo financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación de España (PID 2022-1368030B-I00). C. Gómez-Albarrán cuenta con el apoyo de un contrato FPI PRE 2019-087768.

O18

IMPORTANCIA DE LA NUTRICIÓN Y LAS CONDICIONES FÍSICOQUÍMICAS DE CULTIVO DE *LACHANCEA THERMOTOLERANS* PARA LA ACIDIFICACIÓN BIOLÓGICA DE VINOS

Vicente, Javier^{1*}; de Frutos, Iván¹; Navascués, Eva^{2,3}; Benito, Santiago²; Marquina, Domingo¹; Santos, Antonio¹

¹Dpto Genética, Fisiología y Microbiología, Unidad de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España; ²Dpto Química y Tecnología de los Alimentos, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España; ³Pago de Carraovejas, S.L.U., 47300 Peñafiel, Valladolid, España

*javievic@ucm.es

La fermentación del vino es un proceso complejo en que se encuentran involucradas diversas especies de levaduras. Actualmente, el sector vitivinícola enfrenta distintos desafíos debidos al cambio climático puesto que causa una elevación en la concentración de azúcares y reduce la cantidad de ácidos orgánicos esenciales para la acidez del vino. La levadura *Lachancea thermotolerans* es una alternativa prometedora, ya que durante la fermentación produce ácido láctico con un consumo importante cantidad de azúcares. En este trabajo evaluamos la influencia de distintos factores nutricionales y fisicoquímicos en la producción de ácido láctico por *L. thermotolerans*. Los ensayos muestran que la producción de ácido láctico está vinculada, no solo a la cepa utilizada, sino también a la adición de distintas enmiendas nutricionales. En mostos con pH elevado estas cepas mejoran eficientemente la acidez, siendo una prometedora alternativa de aplicación industrial. También es especialmente relevante el efecto del nitrógeno y las vitaminas, subrayando la necesidad de una nutrición específica para esta levadura en base a estos dos factores. Considerando los resultados, el empleo de mostos con condiciones alteradas por el cambio climático no solo favorecerían el empleo de esta levadura, sino que potenciaría la producción de ácido láctico, mejorando la eficiencia en la fermentación y el control de la acidez. La verificación de estos datos a escala industrial empleando una cepa seleccionada, en mostos con parámetros alterados y corrección del contenido de nitrógeno, demuestra que el factor limitante para su aplicación industrial es la dosis de inóculo y el momento de inoculación. El proceso de acidificación biológica está favorecido por concentraciones de inóculo más altas y a tiempos cortos de fermentación. El empleo de esta levadura a las densidades de inóculo apropiadas, atendiendo a las condiciones fisicoquímicas de los mostos de partida, y a través de la adición de nutrientes específicos, permite la corrección del déficit de acidez a valores adecuados.

Referencias/Financiación:

Estudio financiado a través de los proyectos LowpHWine (CDTI-CIEN, IDI-20210391) y VigSegClim (AEI, PID2020-119008RB-I00). Javier Vicente disfruta de un contrato predoctoral de la Universidad Complutense de Madrid (CT58/21-CT59/21).

019

BACTERIÓFAGOS COMO ESTRATEGIA DE BIOCONTROL DE BACTERIAS EN VINOS DE JEREZ

Florido-Barba, Antonio^{1,2*}; Díaz Nieto, José¹; Cantoral-Fernández, Jesús Manuel¹; Cordero-Bueso, Gustavo¹

¹Laboratorio de Microbiología, Departamento de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública, Puerto Real, Cádiz, España; ²Bodegas Fundador, Jerez de la Frontera, Cádiz, España

*antonio.florido@uca.es

Los vinos sometidos a crianza biológica de la D.O. Jerez-Xérès-Sherry y Manzanilla de Sanlúcar de Barrameda siguen un sistema dinámico de criaderas y soleras que se trasiegan cada cierto tiempo mediante “sacas” y “rocíos”. Se ha de conseguir por una parte la homogenización tras el rocío de todo el vino contenido en la bota y por otra el no alterar el velo de flor que cubre la superficie del vino de crianza biológica ni las levaduras autolisadas que se van acumulando en el fondo de la bota a lo largo de los años y que reciben el nombre de “cabezuelas”.

Debido al paulatino aumento de las temperaturas y de veranos más largos, el velo de flor se debilita más y se incrementa más la cantidad de cabezuelas. Este aumento hace, además que se estén dando casos de proliferación de bacterias acéticas en vinos de Jerez, encontrándose principalmente en las cabezuelas. Este hecho hace que la acidez volátil en estos vinos esté superando valores que pueden suponer un deterioro de su calidad.

Los bacteriófagos se han utilizado durante mucho tiempo para estudiar las interacciones entre bacterias y virus, así como alternativa a bactericidas en medicina y la industria agroalimentaria. El objetivo principal de este trabajo fue aislar y caracterizar bacteriófagos por técnicas de virología clásica y biología molecular a partir de efluentes de bodegas, capaces de impedir el desarrollo bacterias acéticas en las cabezuelas de botas de vinos Finos y en consecuencia evitar la pérdida de la calidad de vinos de la D.O. Jerez-Xérès-Sherry y Manzanilla de Sanlúcar de Barrameda. Se encontraron bacteriófagos capaces de eliminar las bacterias acéticas de las cabezuelas, así como lácticas del vino a escala de laboratorio. Futuros experimentos a escala industrial son necesarios para corroborar los resultados obtenidos en el laboratorio.

Referencias:

Cordero-Bueso, G., Moraga, J., Ríos-Carrasco, M., Ruiz-Muñoz, M., & Cantoral, J. M. (2020). Bacteriophages as an up-and-coming alternative to the use of sulfur dioxide in winemaking. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2931.

020

PRODUCCIÓN DE HIDROLIZADOS PROTEICOS UTILIZANDO PROTEASA NEUTRA DE *MICROCOCCLUS* SP. PC7

Intiquilla, Arturo^{1*}; Bautista, César¹; Arredondo-Núñez, Annsy¹; Brandelli, Adriano²; Jiménez-Aliaga, Karim¹; Zavaleta, Amparo Iris¹

¹Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú; ²Laboratory of Nanobiotechnology and Applied Microbiology, Department of Food Science, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

*aintiquillaq@unmsm.edu.pe

Las proteasas neutras son de gran utilidad en la industria alimentaria por su capacidad de producir hidrolizados proteicos con propiedades sensoriales aceptables^{1,2}. Cepas del género *Micrococcus* han sido aisladas de diversos ambientes y presentan potenciales aplicaciones en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética³. En este trabajo se purificó parcialmente una proteasa halotolerante neutra producida por *Micrococcus* sp. PC7, para obtener hidrolizados proteicos de diferentes leguminosas. La proteasa PC7 se purificó mediante filtración de flujo cruzado y mostró una actividad específica de 867 U.mg⁻¹. Los análisis de SDS-PAGE y zimograma de la proteasa revelaron una estructura dimerica y un peso molecular de ~130 kDa. Los óptimos de pH y temperatura fueron 7,5 y 40 °C, respectivamente. La actividad se incrementó en presencia de Cu⁺² (1,7 veces) y acetonitrilo (1,4 veces) y se mantuvo frente a tensioactivos como Triton X-100, Tween 20 y Tween 80. En relación con la estabilidad térmica, la proteasa retuvo aproximadamente el 50% de su actividad enzimática a 40 °C y el 80% a 25 °C, durante 12 h. La proteasa hidrolizó las proteínas de *Lupinus mutabilis*, *Phaseolus lunatus* y *Erythrina edulis*, liberando péptidos con capacidad antioxidante de 203, 180 y 174 µmol ET/g proteína, respectivamente. Nuestros resultados, resaltan el potencial de esta proteasa neutra en la obtención de hidrolizados funcionales de leguminosas y su aplicación prospectiva en la industria alimentaria¹.

Financiación:

Proyecto contrato N° PE501078969-2022-PROCIENCIA, Perú

Referencias:

1. Razzaq, A.; Shamsi, S.; Ali, A.; Ali, Q.; Sajjad, M.; Malik, A.; Ashraf, M. Microbial Proteases Applications. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2019**, 7, doi:10.3389/fbioe.2019.00110.
2. Yu, P.; Wang, X.; Huang, X.; Ren, Q.; Yan, T. Purification and Characterization of a Propanol-Tolerant Neutral Protease from Bacillus Sp. ZG20. *Prep Biochem Biotechnol* **2019**, 49, 718–726, doi:10.1080/10826068.2019.1605526.
3. Hou, E.; Xia, T.; Zhang, Z.; Mao, X. Purification and Characterization of an Alkaline Protease from Micrococcus Sp. Isolated from the South China Sea. *J. Ocean Univ. China* 2017, 16, 319–325, doi:10.1007/s11802-017-3207-x.



CONFERENCIA DE CLAUSURA

CONFERENCIA DE CLAUSURA

DESCIFRANDO LOS SECRETOS DEL VINO: ANÁLISIS MULTIÓMICO Y MODELADO DEL METABOLISMO DE LEVADURAS DEL GÉNERO *SACCHAROMYCES*

Querol, Amparo^{1*}; Minebois, Romain¹; Albillos, Sonia¹; Contreras, Alba¹; Ramírez-Aroca, Lainy¹; Troitiño-Jordedo, Diego²; Rodríguez-Moimenta, Artai²; Balsa-Canto, Eva²; Barrio, Eladio^{1,3}

¹Food Biotechnology Department (IATA-CSIC), Paterna, Spain; ²Biosistemas e Ingeniería de Bioprocesos, IIM-CSIC, Vigo, Spain, ³Genetics Department (University of Valencia), Valencia, Spain

*aquerol@iata.csic.es

Saccharomyces cerevisiae, es la especie de levadura más utilizada en procesos fermentativos industriales. Su capacidad de fermentar en concentraciones elevadas de azúcares, tolerar concentraciones altas de etanol y soportar la adición de sulfitos, son algunos de los factores que explican su éxito en fermentaciones. El metabolismo fermentativo de *S. cerevisiae* en condiciones enológicas se conoce bien, sin embargo, poco sabemos sobre el metabolismo de las especies *S. uvarum* y *S. kudriavzevii*, quienes han suscitado recientemente el interés del sector vitivinícola por sus buenas propiedades fermentativas a bajas temperaturas, reducción del contenido en etanol en los vinos, incremento del contenido en glicerol y una alta complejidad aromática, propiedades que pueden contribuir a paliar los problemas asociados con el cambio climático en el sector. Este trabajo pretende ampliar nuestros conocimientos sobre el metabolismo fermentativo¹ y diferencias moleculares de *S. uvarum* y *S. kudriavzevii* y cepas de *S. cerevisiae* de distintos orígenes en condiciones enológicas². Para ello, hemos analizado la dinámica de los metabolomas y transcriptomas de cepas representativas de estas especies a diferentes temperaturas de fermentación³. También, hemos desarrollado un modelo metabólico a escala cinética y genómica^{4,5} que, junto a un análisis de balance de flujos, nos ha permitido cuantificar los flujos a través del metabolismo del carbono y del nitrógeno de levaduras en cultivo batch; así como el desarrollo de gemelos digitales (DT), técnicas de monitorización y control predictivo para ayudar a los enólogos a conseguir una producción más responsable con el medio ambiente. Por último, se mostrarán ejemplos del uso de estas especies en la industria⁶.

Referencias:

(1) Minebois et al. Environ Microbiol. 2021 Jun;23(6):3059-3076; (2) Albillos-Arenal et al. Microb Biotechnol. 2023 Sep;16(9):1858-1871; (3) Minebois et al. Environ Microbiol. 2020 Sep;22(9):3700-3721; (4) Henriques et al. mSystems. 2021 Aug 31;6 (4):e0026021; (5) Henriques et al. Microbiol Spectr. 2023 Jun 15;11(3):e0351922; (6) Lairón-Peris et al. Front Bioeng Biotechnol. 2020 Mar 3;8:129

Financiación:

PID2021-126380OB-C3; PLCE2021-007827; AGROALNEXT/2022/021 CEX2021-001189-S



RESÚMENES DE PÓSTERES

P1

IDENTIFICACIÓN DE NUEVAS ENZIMAS PARA LA DEGRADACIÓN DE TEREFTALATO DE POLIETILENO

Chamizo-Ampudia, Alejandro^{1,2*}; Pérez-Villa, Omar¹; Crugeiras María¹; Salazar, Daniel¹; Revilla, José Antonio¹; Garrido-Chamorro, Sonia^{1,2}; Vasco-Cárdenas, María Fernanda¹; García-Alonso, Sonia¹; Barreiro, Carlos^{1,2}; Luengo, José María¹; R. Olivera, Elías^{1,2}

¹Departamento de Biología Molecular, Área de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de León, León, España; ²Instituto de Biología Molecular, Genómica y Proteómica (INBIOMIC), Universidad de León, León, España

*achaa@unileon.es

El tereftalato de polietileno (PET) es uno de los plásticos de base petroquímica más utilizados globalmente. Sin embargo, la gestión de los residuos de PET sigue siendo un reto debido a su fuerte resistencia a la degradación. Recientemente, *Piscinibacter sakaiensis* ha demostrado la capacidad de descomponer completamente el PET en sus componentes básicos, el etilén glicol y el tereftalato, utilizándolos como fuente de energía y carbono. A pesar de este avance, su capacidad de degradación enzimática no es actualmente suficiente para su uso directo en procesos de eliminación de residuos de PET a nivel industrial.

El objetivo principal de este estudio es la búsqueda exhaustiva en colecciones de microorganismos y aislados ambientales, para encontrar cepas que muestren resistencia a condiciones extremas, que podrían facilitar su uso en la degradación de PET a nivel industrial. Por lo tanto, el foco principal ha sido la identificación de las actividades de degradación de PET u oligómeros derivados de éste en estas cepas mediante el análisis de la disminución del oligómero bis-(2-hidroxietil) tereftalato (BHET) en los medios de cultivo. Esto ha permitido la identificación de microorganismos con la capacidad de biotransformar BHET en sus constituyentes, como *Rhodococcus* sp. HE24-12 y *Gordonia* sp. HE24-4J. Se ha analizado el secretoma de estos microorganismos para identificar posibles esterasas u otras actividades potencialmente útiles para la biotransformación de BHET. Los resultados obtenidos revelan la existencia de enzimas capaces de degradar el BHET, y posiblemente el PET, en estos microorganismos. Se plantea la posibilidad de que estas enzimas sean más eficaces que las de *P. sakaiensis*, siendo además susceptibles de ser mejoradas mediante mutagenesis dirigida.

Financiación:

Ayuda TED2021-132593B-I00 del proyecto ABERPLAS (Biotechnological alternatives for the elimination of petrochemical plastic waste. Transition to a sustainable ecological system) financiado por MCIN/AEI/ 10.13039/501100011033 y por la "Unión Europea NextGenerationEU/PRTR".

P2

PRODUCCIÓN HETERÓLOGA DE 2,3-BUTANODIOL EN *ESCHERICHIA COLI*

Cano Sánchez, Irene¹; De La Torre, Isabel¹; Acedos, Miguel G.²; Cestero, Juan José¹; Barriuso, Jorge¹; García, José Luis^{1*}

¹Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España; ²Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas, Madrid, España

*jlgarcia@cib.csic.es

Los microorganismos juegan un papel relevante en la producción biotecnológica de productos de alto valor añadido debido a su versatilidad metabólica para sintetizarlos a partir de fuentes de carbono simples y renovables. Es por ello que ofrecen una alternativa sostenible a la síntesis química tradicional de ciertos productos como es el caso del 2,3-butanodiol (2,3-BDO). Este compuesto que presenta 3 esteroisómeros diferentes, siendo dos de ellos ópticamente activos, tiene múltiples aplicaciones, entre otras sirve como precursor del 1,3-butadieno usado en la producción de caucho sintético y también es empleado como monómero de poliésteres plásticos biodegradables. Especies bacterianas de los géneros *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Bacillus* y *Clostridium* se han descrito como productoras naturales de 2,3-BDO pero debido en algunos casos a su patogenicidad y en otros al bajo rendimiento, se ha propuesto el diseño de microorganismos recombinantes para la producción heteróloga de 2,3-BDO, que permitan escalar industrialmente este bioproceso en condiciones más seguras y eficientes. En este trabajo se ha estudiado la optimización de la producción de 2,3-BDO usando como biofactoría la bacteria *E. coli*, en el cual se han clonado distintas versiones de los genes *budABC* necesarios para la biosíntesis de 2,3-BDO. Se ha estudiado el efecto que tienen en la producción la expresión de genes obtenidos de un productor natural o sintetizados y optimizados, la fuerza de los promotores empleados para expresarlos, así como la fuente de carbono utilizada en la fermentación.

Financiación:

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto europeo CO2SMOS: Advanced chemicals production from biogenic CO2 emissions for circular bio-based industries. H2020-EU. Grant Agreement 101000790.

P3

OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN RECOMBINANTE EN *ESCHERICHIA COLI* DE LA ENZIMA N-ACETIL GLUCOSAMINA OXIDASA EN UN SISTEMA LIBRE DE ANTIBIÓTICOS

Guerra-Mas, Gerard*; Fredes, Yerko; Dimitri, Iván; Romero, Óscar; Guillén, Marina; González, Gloria y Casablanca, Antoni

Departamento de Ingeniería Química, Biológica y Ambiental, Universidad Autónoma de Barcelona, Bellaterra, España

*gerard.guerra@uab.cat

Las enzimas oxidorreductasas ofrecen soluciones prometedoras para mejorar la sostenibilidad de procesos productivos industriales y de productos de gran consumo. Las oxidorreductasas pueden reemplazar a agentes oxidantes tóxicos y peligrosos, revalorizar residuos y añadir nuevas funcionalidades a productos ya existentes mejorando la calidad, la apariencia y la durabilidad.

El trabajo desarrollado, se enmarca en el proyecto OXIPRO, concretamente en el diseño de un proceso más sostenible aplicable a la industria textil en el tratamiento de las fibras naturales del algodón para la confección de tejido. La enzima producida, la N-acetil glucosamina oxidasa, es capaz de oxidar carbohidratos presentes en las aguas residuales durante el tratamiento del algodón produciendo peróxido de hidrógeno. La optimización de la reacción y su implementación a escala industrial minimizaría la cantidad de peróxido de hidrógeno que es actualmente necesario añadir al proceso para el blanqueamiento del algodón. Como parte del proyecto se ha trabajado en la optimización de la producción de la enzima en un cultivo de alta densidad celular mediante un sistema de producción de proteína recombinante libre de antibióticos con una cepa de *E. coli* propia del grupo de investigación. Con el objetivo de intensificar el proceso enzimático, se ha fusionado la enzima de interés a un *cellulose binding module* (o CBM) para permitir su purificación e inmovilización en un solo paso utilizando un soporte de bajo coste como es la celulosa¹. En este caso, la fusión de la N-acetil glucosamina oxidasa a una CBM ha demostrado ser una mejor alternativa a la cola de histidinas ya que permite una purificación más selectiva, eliminando las catalasas producidas durante la fermentación, las cuales reducen la eficiencia del bioblanqueamiento ya que metabolizan el peróxido de hidrógeno generado por la N-acetil glucosamina oxidasa, reduciendo así la concentración final del agente blanqueante.

Referencias:

1. Benito, M., Román, R., Ortiz, G. *et al.* Cloning, expression, and one-step purification/immobilization of two carbohydrate-binding module-tagged alcohol dehydrogenases. *J Biol Eng* 16, 16 (2022). <https://doi.org/10.1186/s13036-022-00295-8>

Financiación:

European Union's Horizon 2020 Research and Innovation programme under Grant Agreement n°101000607 (OXIPRO).

AGAUR, Generalitat de Catalunya, 2021, SGR 00143

P4

ANÁLISIS *IN SILICO* DE LAS AA9-LPMOS ENCONTRADAS EN TRANSCRIPTOMAS DE AGARICOMICETOS: ENFOQUE EN *PLEUROTUS OSTREATUS*

Jiménez, Idoia^{1*}; Castanera, Raúl^{1,2}; Roscales, Gabriel¹; Garde, Edurne¹; Chuina Tomazeli, Emilia¹; Pisabarro, Antonio G.¹; Honda, Yoichi³; Lipzen, Anna⁴; Lail, Kathleen⁴; Bauer, Diane⁴; Barry, Kerrie⁴; Grigoriev, Igor V.^{4,5} y Ramírez, Lucía¹

¹Institute for Multidisciplinary Research in Applied Biology (IMAB), Public University of Navarre (UPNA), Pamplona, Spain; ²Centre for Research in Agricultural Genomics CSIC-IRTA-UAB-UB, Barcelona, Spain; ³Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kyoto, Japan; ⁴DOE Joint Genome Institute, Berkeley, CA, USA, ⁵Department of Plant and Microbial Biology, University of California Berkeley, Berkeley, CA, USA

*idoia.jimenez@unavarra.es

La biomasa lignocelulósica, un recurso renovable que supera los 180 mil millones de toneladas anuales, requiere de mecanismos eficientes de degradación para la producción de biocombustibles. Los hongos de pudrición blanca (WRF) y pudrición parda (BRF) desempeñan un papel crucial en este proceso al albergar Monooxigenasas de Polisacáridos Líticos (LPMOs, clasificadas como proteínas auxiliares AA9 en el catálogo de enzimas activas sobre carbohidratos, CAZy) que facilitan la descomposición de la lignocelulosa mediante la escisión oxidativa. Aunque las LPMOs predominan en los WRF, se encuentran también en otros taxones fúngicos, sugiriendo funciones más amplias.

Estudiamos los genes AA9-LPMO transcritos en diferentes WRF y BRF cultivados en medios mínimos suplementados con glucosa o madera, destacando la notable expansión de esta familia en el WRF *P. ostreatus* con 29 genes LPMO en su genoma. Estructuralmente, las LPMOs exhiben una característica configuración de β-sándwich con un sitio de unión al cobre, esencial para la oxidación de la celulosa. Dependiendo de su regioselectividad, pueden ser oxidantes del C1, C4 o C1/C4 de la celulosa. La interacción con reductores externos como la celobiosa deshidrogenasa (CDH) mejora la accesibilidad al sustrato y la co-secreción de CDHs y AA9 subraya la complejidad enzimática en la degradación de la biomasa. Estudios genómicos muestran ocurrencias diferenciales de genes AA9 y CDH, sugiriendo adaptaciones influenciadas por la ecología fúngica. La expansión de la familia AA9 plantea interrogantes sobre su relevancia funcional y especificidad de sustrato. La identificación de transposones en genomas de WRF destaca su impacto en la evolución fúngica, mientras que los análisis de transcriptomas de AA9 LPMOs en *P. ostreatus* ofrecen perspectivas sobre su importancia evolutiva. Este estudio destaca los roles multifacéticos de las AA9 LPMOs en la biología y biotecnología fúngicas, allanando el camino para la producción sostenible de biocombustibles y avances en biorrefinería.

P5

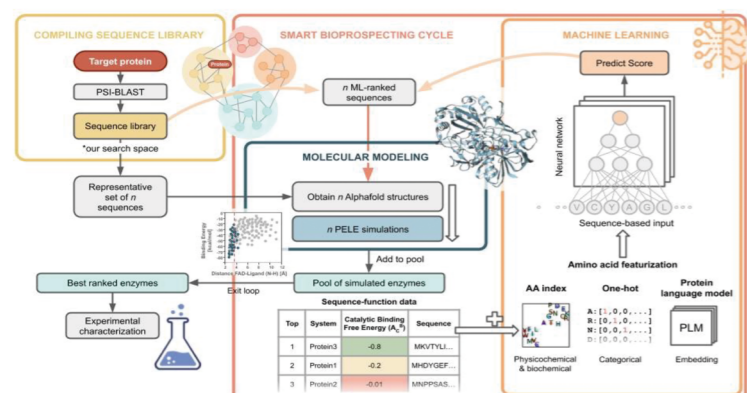
ALGORITMOS DE INTELIGENCIA ARTIFICIAL PARA BIOPROSPECCIÓN ENZIMÁTICA COMPUTACIONAL

Martínez, Mireia^{1*}; Floor, Martin¹; Muñoz, Rubén¹; Carro, Juan²; Martínez, Ángel T.²; Ruiz-Dueñas, Francisco Javier²; Victor Guallar¹

¹Barcelona SuperComputing Center - Centro Nacional de Supercomputación, Departamento de Life Sciences Barcelona, España; ²Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España

*mireia.martinez1@bsc.es

Para avanzar en biocatálisis, es fundamental encontrar enzimas con actividad adecuada para las aplicaciones deseadas. Los métodos tradicionales para buscar enzimas para reacciones específicas son costosos, lentos y poco exitosos. Por lo tanto, es esencial el desarrollo de técnicas que faciliten el descubrimiento de nuevas enzimas dentro de una superfamilia de proteínas con mecanismos catalíticos compatibles. Las tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS) han revolucionado este campo al proporcionar acceso a grandes bases de datos de secuencias de proteínas naturales. La estrategia de bioprospección *in silico* emplea técnicas computacionales para cribar el vasto conjunto de secuencias enzimáticas como una opción previa y más económica a su caracterización experimental directa. Este proceso implica establecer una adecuada relación estructura-actividad para el sistema enzimático objetivo, para así identificar los mejores candidatos. Este estudio presenta una nueva estrategia de bioprospección *in silico* que emplea algoritmos de inteligencia artificial para aprender y acelerar el mapeo entre la secuencia proteica y su actividad a partir de datos obtenidos de cientos de simulaciones Monte Carlo que exploran los modos de unión del complejo enzima-sustrato (Esquema 1). Varios algoritmos de inteligencia artificial fueron entrenados para predecir métricas catalíticas a partir de estos datos, con el objetivo de descubrir nuevas variantes enzimáticas aun no caracterizadas. Los modelos lograron correlaciones significativas con los datos de simulación y buenas predicciones para clasificar las mejores enzimas simuladas.



Esquema 1. Perspectiva general de la estructura del algoritmo de inteligencia artificial.

Financiación:

Proyecto PLEC2021-007690 financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033 y por la Unión Europea NextGenerationEU/PRTR y Proyecto ROBUSTOO, financiado por la Unión Europea bajo el Acuerdo de Subvención No 101135119

P6

DISTRIBUCIÓN, FILOGENIA Y CLASIFICACIÓN DE OXIDASAS MULTICOBRE EN HONGOS BASIDIOMICETOS

Molpeceres, Gonzalo^{*}; Aza, Pablo; Camarero, Susana

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España

*gonzalo.molpeceres@cib.csic.es

Las oxidasas multicobre (MCO, del inglés multicopper oxidases) conforman una amplia familia de enzimas ampliamente distribuidas en la naturaleza, donde desempeñan diversas funciones. Todas las MCOs catalizan la oxidación de un sustrato reductor acoplada a la reducción de oxígeno molecular a dos moléculas de agua. Aunque conservan una estructura tridimensional similar, la identidad de secuencia aminoacídica entre ellas no es alta, con excepción de cuatro regiones conservadas que contienen los residuos que coordinan los cuatro cobres catalíticos. Tradicionalmente esta superfamilia de enzimas incluye a las lacasas (EC 1.10.3.2), ascorbato oxidasa (EC 1.10.3.3) y ferroxidasas (EC 1.16.3.1), aunque en los últimos años se han identificado nuevos tipos de enzimas con características diferentes. La baja homología de secuencia y la existencia de actividades catalíticas superpuestas entre los distintos grupos de MCOs dificulta la clasificación del creciente número de secuencias disponibles en las bases de datos. En este trabajo estudiamos su distribución y proponemos una clasificación actualizada de las MCOs presentes en la división Basidiomycota, la cual incluye a los hongos capaces de degradar completamente la biomasa vegetal. Definimos ocho grupos de MCOs basados en sus relaciones filogenéticas y en la presencia de motivos conservados (a nivel de secuencia o estructura) que son característicos de los distintos grupos.

Financiación:

Proyectos GENOBIOREF (BIO2017-86559-R, MINECO/FEDER), LIG2PLAST (PID2021-126384OB-I00 financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033/ y por FEDER/UE) y PIE202320E018 (CSIC). G. Molpeceres agradece a la fundación Tatiana Pérez de Guzmán el Bueno por su beca predoctoral.

P7

PRODUCCIÓN DE BIOPLÁSTICO A PARTIR DE PET CON LA BACTERIA *COMAMONAS TESTOSTERONI*

Molpeceres García, Francisco Javier*; García-Miró, Alejandro; Sanz, David; Prieto, Alicia; Barriuso, Jorge

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España

*javier.molpeceres@cib.csic.es

El tereftalato de polietileno (PET) es uno de los plásticos más empleados del mundo, con el agravante de que, en la mayoría de las ocasiones, es de un solo uso, por lo que supone un grave problema medioambiental. Convencionalmente, el PET se recicla mediante técnicas fisicoquímicas que reducen su vida útil, generando con el tiempo un residuo inservible. Ante este problema, las aproximaciones biotecnológicas, basadas en el empleo de microorganismos y sus enzimas, surgen como una alternativa más sostenible. Se han descrito diversas enzimas microbianas capaces de despolimerizar el PET hasta sus monómeros fundamentales, siendo paradigmáticas la PETasa y la MHETasa de la bacteria *Ideonella sakaiensis*. La PETasa despolimeriza las cadenas de PET, dando lugar a Mono(2-hidroxietil)-tereftalato (MHET), el cual es hidrolizado por la MHE-Tasa, quedando finalmente TPA y EG.

La bacteria *Comamonas testosteroni* es capaz de crecer utilizando el TPA como única fuente de carbono y energía. Además, tiene la capacidad de formar polihidroxibutirato (PHB) a partir del TPA, un biopolímero muy apreciado en la industria por sus propiedades similares al polipropileno, pero con la ventaja de ser biodegradable. En nuestro grupo hemos empleado a *Comamonas testosteroni* como chasis sintético para la expresión heteróloga de una PETasa y una MHETasa recombinantes, de forma que la bacteria puede despolimerizar el PET y crecer a partir de sus monómeros, además de producir PHB. De este modo, planteamos una estrategia de economía circular para un reciclado alternativo del PET.

Financiación:

Esta investigación ha sido financiada por los proyectos MICODE (MCIN/AEI, PID2020-114210RB-I00) y DEMO (MCIN/AEI/“NextGenerationEU”/PRTR, TED2021-130096B-I00).

P8

REPRODUCING THE CENTRAL DOGMA OF MOLECULAR BIOLOGY AT THE SINGLE-MOLECULE LEVEL FOR ULTRAHIGH-THROUGHPUT METAGENOMIC LIBRARY SCREENING

Pérez-Arnaiz, Patricia^{1,2}; Blas, Laura^{1,2*}; Lorente, Álvaro^{1,2}; Bravo, Jorge^{1,2}; Finnigan, James³; Charnock, Simon³; Hidalgo, Aurelio^{1,2}

¹Department of Molecular Biology, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, Spain; ²Center of Molecular Biology “Severo Ochoa” (UAM-CSIC), Madrid, Spain; ³Prozomix Ltd, Northumberland, United Kingdom

*laura.blas@uam.es

The microbial diversity represents an unfathomable source of enzymes for the bioeconomy, but only a small fraction can be cultivated. Sampling the natural microbial diversity, screening, identifying, and isolating the relevant genes is cumbersome, expensive and results in a heavy environmental burden, low yields, high costs and long times to market, if we opt for function-based, information-agnostic methods as a gateway to new diversity that could not be found otherwise.

In the EU-funded project BlueTools, we have been developing technology to overcome the limitations for the study of microbial communities and their “ecological use”. Our methods for enzyme discovery in the natural diversity make use of cell-free extracts (in vitro) for recombinant expression from a single DNA molecule encapsulated in a micrometric water-in-oil droplet. Using ketoreductases (KREDs) as model enzymes, we have reproduced the central dogma of molecular biology in droplets at the single-molecule level and addressed some challenges in terms of assay sensitivity and DNA recovery after droplet sorting.

Access to genetic resources (soil garden, Torrejón de Ardoz, Madrid) used for metagenomic library construction was granted under agreement ESNC107 (ABSCH-IRCC-ES-258964-1). This work has received funding from the European Union’s Horizon Europe Research and Innovation Programme under Grant Agreement 101081957. Views and opinions expressed are however those of the author(s) only and do not necessarily reflect those of the European Union or European Research Executive Agency. Neither the European Union nor the granting authority can be held responsible for them.

P9

HARNESSING HOST-DIRECTED miRNAs TO COMBAT STAPHYLOCOCCUS AUREUS INTRACELLULAR INFECTIONS

Castañera, Pablo*; Llano, Jesús; Lorente, Blanca; Álvarez, Helena; Fernández, Sergio; López, Álvaro; Javadi, Farzaneh; Mourenza, Álvaro; Mateos, Luis M.; Letek, Michal

Departamento de Biología Molecular, Área de Microbiología, Universidad de León, León, Spain

*pcase@unileon.es

Staphylococcus aureus, a facultative intracellular pathogen, presents a formidable challenge in clinical settings due to its ability to thrive within host cells, evading antibiotics and immune surveillance. Its intracellular lifestyle hampers antibiotic efficacy and shields it from immune responses, complicating eradication efforts. This necessitates innovative therapeutic strategies targeting *S. aureus*, given its capacity to infect professional phagocytes and disrupt phagosomal membranes, facilitating dissemination to secondary focus of infection. Recent strides in antimicrobial therapy spotlight the potential of host-directed RNA-based anti-infectives as pivotal components of combinatorial treatment regimens. Distinguished by their unique mechanism of action, these innovative therapeutics offer a promising avenue for overcoming resistance mechanisms. Notably, human microRNAs (miRNAs) have emerged as crucial players in antimicrobial defense, exerting profound effects by targeting essential host genes involved in infection progression. While challenges persist in delivering miRNAs to target cells, recent advancements utilizing protective carriers like exosomes or nanoparticles demonstrate significant potential in enhancing their therapeutic efficacy by shielding them from degradation in the bloodstream. Our study focused on exploring miRNAs potential in hindering *S. aureus* intracellular survival. A-549 lung epithelial cells underwent pre-treatment with a comprehensive miRNA library, comprising 2.798 synthetic and double-stranded RNA molecules mimicking human miRNAs, before *S. aureus* USA300 infection. Preliminary results show promising outcomes, indicating the efficacy of select miRNA mimics. Although further research is crucial to fully understand the underlying mechanisms, these initial findings highlight the potential of miRNA-based therapies as adjunctive treatments alongside conventional antibiotherapy to combat *S. aureus* infections within host cells. This approach offers hope in the battle against multidrug-resistant superbugs.

Referencias/Financiación:

We gratefully acknowledge the Junta de Castilla y León (JCyL), Spain, for funding our research (grant LE044P20). Special thanks to the University of León (ULE) for supporting A.L.G.'s fellowship, and to JCyL for B.L.T.'s predoctoral fellowship. J.L.V. and H.A.F. were recipients of the Beca de Colaboración from the Spanish Ministry of Education, with J.L.V. also securing an FPU fellowship (FPU2022-00432). P.C.E. received a PhD fellowship from ULE, while A.M. was supported by a Margarita Salas postdoctoral fellowship. Lastly, M.L. received a Beatriz Galindo grant (Ref. BEAGAL18/00068 - BGP18/00033).

P10

ENGINEERING *LEISHMANIA MEXICANA* NUCLEOSIDE 2'-DEOXYRIBOSYLTRANSFERASE ACTIVITY TOWARD ARABINONUCLEOSIDES THROUGH AN *IN VIVO* SELECTION SYSTEM

Cecchini, Davide A.^{1,2*}; Acosta, Javier³; Saiz-Álvarez P., Laura^{1,2}; Ortega, Carmen^{1,2}; Kaminski, Pierre A.⁴; Fernández-Lucas, Jesús^{3,5,6}; Hidalgo, Aurelio^{1,2}

¹Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (UAM-CSIC), Madrid, Spain; ²Department of Molecular Biology Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, Spain; ³Applied Biotechnology Group, Universidad Europea de Madrid, Madrid, Spain; ⁴Biologie des Bactéries Pathogènes à Gram-Positif, Institut Pasteur, Paris, France; ⁵Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Biology, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain; ⁶Grupo de Investigación en Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de la Costa, Barranquilla, Colombia

*davide.cecchini@uam.es

2'-deoxyribosyltransferases (NDTs), are enzymes that participates in the nucleoside salvage pathway, where they are responsible for the transfer of the 2'-deoxyribose moiety between nucleobases. Even though, in recent years, these enzymes have emerged as promising and eco-friendly catalyst for the synthesis of different 2'-deoxynucleoside analogues, their limited activity towards substrates featuring modifications at the 2'-C and 3'-C positions of the ribose moiety significantly restrict their potential application in the pharmaceutical industry.

Enzyme engineering, achieved through epPCR or semi-rational design, can be a powerful tool to modify the specificity and/or activity of an enzyme towards non-natural substrates. However, this technology to be successfully relies on ultra-high throughput assays, able to identify even low represented improved variants. In this regard, *in vivo* selection, with its ability to analyse millions of variants, are one of the most powerful methods available.

In this study, by combining an *in vivo* selection system based on engineered *Escherichia coli* PAK6 strain, auxotrophic for guanine and unable to use guanine nucleosides as source of guanine¹, and enzyme engineering achieved through semi-rational design, we were able to improve the transferase activity of the *Leishmania mexicana* PDT toward arabinose nucleosides². In particular, we report the discovery of two variants, that exhibit an enhanced activity of 13.5- and 30-fold on the synthesis of Vidarabine compared to the wild-type enzyme.

Referencias y financiación:

[1] Kaminski, PA. J Biol Chem. 2002 Apr 26;277(17):14400-7

[2] Crespo N, et al. Appl Microbiol Biotechnol. 2017 Oct;101(19):7187-7200

This work has received funding from the Spanish Ministry of Science (Grants PID2020-117025RB-I00, RED2022-134755-T) and Comunidad de Madrid (REACT-M COVTRAVI). The CBMSO is funded by "Centre of Excellence Severo Ochoa" Grant CEX2021-001154-S from MCIN/AEI/10.13039/501100011033 and receives institutional support by Fundación Ramón Areces.

P11

ESTUDIO PROTEÓMICO Y FENOTÍPICO DEL PAPEL DEL GEN *bfr* EN EL METABOLISMO SECUNDARIO DE *STREPTOMYCES COELICOLOR*

García Martín, Javier*; Santamaría Sánchez, Ramón I.; Díaz Martínez, Margarita

Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG)/Departamento de Microbiología y Genética, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)/Universidad de Salamanca (USAL), Salamanca, España

*gmjavier9@usal.es

En *Streptomyces coelicolor*, organismo modelo para el estudio del género *Streptomyces*, la producción de antibióticos está controlada por múltiples señales y proteínas que conforman una compleja red de regulación¹. Comprender esta red de regulación es crucial para optimizar la producción de nuevos antibióticos². Varios de estos sistemas de regulación en *S. coelicolor* controlan el gen *SCO2113/bfr*^{3,4}, que codifica una bacterioferritina, una proteína de almacenamiento de hierro⁵. Debido a esta relación, en este trabajo hemos caracterizado el efecto que tiene la delección de *bfr* en el metabolismo secundario de *S. coelicolor*. Para ello, hemos realizado una proteómica cuantitativa en el medio rico LB⁶ a los 3 y 4 días de cultivo, y hemos analizado cómo varía la producción de antibióticos entre el mutante de delección Δbfr y la cepa silvestre M145 mediante ensayos fenotípicos y cuantitativos. El mutante Δbfr posee menor producción de tres antibióticos pigmentados: actinorrodina (ACT, azul), undecilprodigiosina (RED, rojo) y coelomicinas (yCPKs, amarillas). Esto se corresponde con una menor cantidad de proteínas de síntesis de ACT y de yCPKs; no obstante, tres proteínas de síntesis de RED son más abundantes en el mutante a los 3 días, y una proteína del clúster biosintético de función desconocida, RedS (SCO5585), es más abundante en ambos días. Por otro lado, Δbfr produce mayor cantidad de antibiótico dependiente de calcio (CDA) y, así, posee mayor cantidad de proteínas para su síntesis.

También hemos observado una menor cantidad de proteínas en el mutante de un clúster biosintético críptico para la síntesis de un deoxiazúcar⁷. Todos estos datos demuestran la influencia que tiene la bacterioferritina de *S. coelicolor* como factor adicional en la red de regulación para la producción de antibióticos.

Referencias/Financiación:

Financiación: PID2022-140962OB-I00 (Ministerio de Ciencia y Universidades)

1. Sánchez de la Nieta, R. et al. (2022). <https://doi.org/10.3390/ijms232315085>
2. Miethke, M. et al. (2021). <https://doi.org/10.1038/s41570-021-00313-1>
3. Rico, S. et al. (2014). <https://doi.org/10.1128/AEM.03378-13>
4. Antoraz, S. et al. (2017). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02444>
5. Bradley, J. M., et al. (2020). <https://doi.org/10.1074/jbc.REV120.007746>
6. Sambrook, J., Fritsch, E. R., & Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd ed.). Cold Spring Harbor.
7. Świątek-Połatyńska, M. A., et al. (2015). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122479>

P12

METABOLITE DIVERSITY AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES BY MEMBERS OF THE GENUS *ACTINOPHYTOCOLA*

González, Ignacio*; Quizhpe Romero, Mercy E.; Martos, Bernabé; Sánchez, Pilar; Serrano, Rachel; Castillo, Estrella; De La Cruz, Mercedes; Tormo, José; Oves-Costales, Daniel and Genilloud, Olga

Fundación MEDINA, Centro de Excelencia en Investigación de Medicamentos Innovadores en Andalucía, Parque Tecnológico Ciencias de la Salud, Granada, Spain

*ignacio.gonzalez@medinaandalucia.es

Antimicrobials have been used intensively in the treatment of infectious diseases caused by human pathogens and nowadays, many of these microorganisms have developed resistance to these antimicrobials (AMR), making their treatment more difficult. The mechanisms of AMR spread rapidly, which is why it has become a major threat to global public health.

Natural products, also called “secondary metabolites,” are low-molecular-weight organic molecules produced by living organisms. During last century, natural products of microbial origin have been one of the main sources to obtain molecules with antimicrobial activity. In fact, actinomycetes have demonstrated their ability to produce secondary metabolites characterized by a wide variety of bioactivities, which have multiple applications in various fields, like the pharmaceutical industry, agriculture, etc.

Actinophytocola is a member of the family *Pseudonocardiaceae*. The present work has studied 35 strains of the genus *Actinophytocola*, that were isolated from samples collected in various ecological niches around the world. The analysis involved the study of the metabolites produced by the strains and their antimicrobial activities.

To carry out this study, the diversity of the strains of this genus was examined, through a phylogenetic analysis. Besides, the capacity to produce bioactive compounds was evaluated through screening tests against different pathogens, including bacterial and fungal human pathogens, as well as bacterial and fungal phytopathogens. In addition, the production of secondary metabolites of the fermentation extracts was also analyzed by Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry (LC-MS).

Our results show that 28 out of the 35 strains studied, produced compounds with activity against human pathogens and 31 do so against phytopathogens. The results obtained demonstrate the great capacity of this genus of actinomycetes to produce secondary metabolites of interest, as well as the importance of this field of research for the discovery of new molecules to treat antimicrobial resistant pathogens.

P13

OPTIMIZATION OF A MICROFLUIDIC-BASED ASSAY FOR THE METAGENOMIC SCREENING OF N-ACETYLNEURAMINIC ACID ALDOLASE

Martinez, John¹; Lorente, Álvaro^{1*}; Fessner, Wolf-Dieter²; Charnock, Simon³; Hidalgo, Aurelio¹

¹Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (UAM-CSIC), Madrid, Spain; ²Technische Universität Darmstadt, Germany; ³Prozomix Ltd. Haltwhistle, UK

*alvaro.lorente@uam.es

N-acetylneuraminic acid (Neu5Ac) is a nine-carbon α -keto acid with several possible residue modifications and whose known derivatives are metabolically active molecules that participate in cell communication and recognition processes. Due to its structural and functional diversity, there is a growing need for the discovery of novel catalysts that participate in the synthesis of Neu5Ac derivatives to produce pharmaceutical and nutritional compounds. Neu5Ac aldolase performs the aldol condensation of N-acetylmannosamine and pyruvate into Neu5Ac in a reversible manner. Conventional activity-based screening of metagenomes for enzymes requires considerable use of resources and time. Therefore, it is imperative to develop (ultra)high-throughput (UHTP) methods for a faster, more efficient, and affordable catalyst discovery in a timeframe compatible with industrial bioprocess development^{1,2}. To this end, in this study, we have developed a droplet-based screening assay for the discovery of Neu5Ac aldolases in the natural microbial diversity. This method consists of the encapsulation of a single library clone per droplet, together with a developing cascade reaction composed of a lactate dehydrogenase (LDH) and a ketoreductase (KRED)³. Therefore, in the presence of an active clone, a fluorescent signal is formed, and the positive droplet can be detected and sorted using either FACS or fluorescence-assisted, on-chip sorting. The assay was developed by stepwise backwards assembly of the developing cascade in microtiter plate and droplet format. Then, the sensitivity of the assay was tested with a mock library and DNA was recovered by PCR or by direct transformation in *Escherichia coli* DH10B.

References and acknowledgements:

[1] Y. V. Sheludko and W.-D. Fessner, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2020. doi: 10.1016/j.sbi.2020.05.003.

[2] P. Jacques et al., *Bioprocess Biosyst. Eng.*, 2017. doi: 10.1007/s00449-016-1690-x.

[3] Y. C. Thai, et al, *Bioorganic Med. Chem.*, 2018, doi: 10.1016/j.bmc.2017.05.024.

The current work has received funding from the European Union's Horizon 2020 Horizon Europe Research and Innovation Programmes under Grant Agreement number 956631 and 101081957 respectively.

P14

EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIPROLIFERATIVO DE UNA LACASA BACTERIANA SOBRE CÉLULAS TUMORALES

Molina Guijarro, José Manuel*; Acevedo Molina, Lucía; Domínguez Ruiz, Gabriela; Rodríguez Bullido, Juana; Gegúndez Cámara, María Isabel; Hernández Cutuli, Manuel

Dpto. de Biomedicina y Biotecnología, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, España

*josemanuel.molina@uah.es

El cáncer es un amplio conjunto de enfermedades para las que existe una elevada necesidad de nuevas terapias. Entre las opciones que merecen ser exploradas destaca la utilización de enzimas como estrategia terapéutica¹. Las enzimas pueden tener un efecto directo sobre moléculas necesarias para el desarrollo de los tumores; y también un efecto indirecto, transformando fármacos en especies moleculares activas frente a las células tumorales². Entre las posibilidades existentes se ha propuesto la utilización de enzimas de tipo lacasa debido a su gran versatilidad catalítica y elevada capacidad oxidativa, lo que les permite ser utilizadas para este fin de forma directa o mediante compuestos mediadores que expanden su potencial oxidativo^{3,4}.

El objetivo general del trabajo fue estudiar la capacidad de la lacasa bacteriana SilA de *Streptomyces ipomoeae* para producir la muerte de células tumorales in vitro. Esta enzima resulta interesante para esta aplicación por su estabilidad y actividad a pH fisiológico⁵. Para ello se testó su efecto sobre líneas celulares tumorales procedentes de distintos tejidos, evaluando su acción directa y a través de mediadores. Entre estos últimos se ensayaron compuestos clásicos relacionados con la molécula de lignina y otros de naturaleza flavonoide con aplicación terapéutica en otras patologías. El efecto se determinó cuantificando la inhibición del crecimiento o la muerte celular debido al tratamiento. Se pudo comprobar que la combinación de la lacasa con mediadores era capaz de provocar la muerte de las células tumorales. Para conocer el mecanismo de acción de esta combinación, se estudió la capacidad de producir estrés oxidativo en las células mediante la utilización de sondas fluorescentes sensibles al estado redox celular. También se caracterizó el proceso de muerte evaluando la capacidad de la combinación lacasa-mediador para producir apoptosis.

Referencias:

1. Baldo BA. 2015. *BioDrugs* 29:31-55.

2. Mooney R. et al. 2017. *Advanced Drug Delivery Reviews* 118:35-51.

3. Sondhi S. et al. 2021. *International Journal of Biological Macromolecules* 170:232-238.

4. Zhou Y. et al. 2022. *Colloids and surfaces, B, Biointerfaces* 220:112853.

5. Molina-Guijarro JM et al. 2009. *International Microbiology* 12:13-21.

P15

INGENIERÍA METABÓLICA DE *BACILLUS SUBTILIS* PARA LA PRODUCCIÓN EFICIENTE Y ESTABLE DE C₃₀ CAROTENOIDES

Picart, Pere*; Filluelo, Oriana; Ferrando, Jordi

Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación. Departamento de Sanidad, Salud y Medio Ambiente, Sección Microbiología, Universidad de Barcelona, Barcelona, España

*perepicart@ub.edu

Los terpenoides son compuestos naturales con más de 70.000 estructuras químicas diferentes que ofrecen aplicaciones muy interesantes en el campo de la industria farmacéutica, cosmética, alimentaria, o como biocombustibles. Su extracción, en su mayoría de plantas, o su síntesis química puede resultar técnicamente complicada, obteniéndose rendimientos bajos o moderados. En cambio, su producción biotecnológica mediante cepas microbianas ofrece una alternativa sostenible y respetuosa con el medio ambiente, pudiéndose obtener rendimientos elevados en condiciones de proceso suaves. *Bacillus subtilis*, un microorganismo generalmente reconocido como seguro, es uno de los mayores emisores de isopreno (el representante más pequeño de los terpenoides) entre las bacterias, convirtiéndose así en un huésped microbiano ideal para su utilización como fábrica celular de terpenoides. En este estudio, hemos investigado su potencial de aplicación como huésped heterólogo para producir diaponeurosporeno (DPN), un C₃₀ carotenoide amarillo con alta actividad antioxidante y estimulador del sistema inmune. Para ello, los genes crtM (deshidroescualeno sintasa) y crtN (deshidroescualeno desaturasa) de *Staphylococcus aureus* fueron sobreexpresados mediante su inserción en múltiples copias en el cromosoma de *B. subtilis*. Posteriormente, se incrementó la concentración del precursor farnesil difosfato (FPP, sustrato de las enzimas CrtMN), mediante la sobreexpresión de la enzima farnesil difosfato sintasa de *Bacillus megaterium* y la delección del gen codificante para la farnesil difosfato fosfatasa, una enzima responsable del consumo no deseado de FPP. La combinación consecutiva de todas estas modificaciones resultó en un aumento gradual en la producción de DPN, hasta obtener una cepa eficiente, segura y estable de *B. subtilis* que de forma endógena produce el carotenoide amarillo, libre de plásmidos y marcadores de selección de antibióticos. Anticipamos que esta cepa servirá de punto de partida para aumentar su producción mediante ingeniería metabólica y optimización del proceso fermentativo, con el objetivo de desarrollar un proceso de bioproducción a escala comercial.

Referencia:

Filluelo O, Ferrando J, Picart P. Metabolic engineering of *Bacillus subtilis* toward the efficient and stable production of C₃₀-carotenoids. *AMB Express*. 2023 Apr 29; 13(1):38.

Financiación:

Trabajo financiado por "Pla de Doctorats Industrials del Departament de Recerca i Universitats de la Generalitat de Catalunya" con el apoyo de "Gestió d'Ajuts Universitaris de Recerca" con beca número 2021 DI 77 otorgada a Jordi Ferrando Núñez.

P16

SCREENING GUIADO POR ACTIVIDAD EN EXUDADOS FÚNGICOS, UTILIZANDO COMO MODELO A *OMPHALOTUS OLEARIUS*

Ruiz-Umaña, Jusdin^{1*}; Pérez, Gumersinda¹; Simón Oihane¹; Calvo, Isabel²; Pisabarro, Gerardo¹; Ramírez, Lucía¹

¹Institute for Multidisciplinary Research in Applied Biology (IMAB), Universidad Pública de Navarra (UPNA), Pamplona, España; ²Departamento de Tecnología y Química Farmacéutica. Universidad de Navarra (UNAV), Pamplona, España

*jusdin.ruiz@unavarra.es

La gutación fúngica es un fenómeno caracterizado por la exudación activa de agua y sustancias disueltas, principalmente metabolitos secundarios "SM" y proteínas, esenciales para adaptación y supervivencia del hongo en su entorno. En el laboratorio la producción de una cantidad variable de estos exudados depende de la composición del medio de cultivo y la temperatura de incubación, entre otros. En la industria el estudio y producción de exudados y sus SM de basidiomicetos no se ha desarrollado tanto como en ascomicetos. Atendiendo esta situación, el estudio se enmarca en el *screening* guiado por actividad de los exudados producidos a partir de aislados de basidiomicetos recolectados en los bosques navarros. Para ello, en una primera fase se construyó un protocolo de aislamiento, optimización del cultivo y búsqueda de actividad antioxidante, antimicrobiana y larvicida, utilizando exudados obtenidos in vitro a partir de cultivos de *Omphalotus olearius* en agar Sabouraud y agar YEPD (extracto de levadura, peptona y dextrosa) y agar SMY (sacarosa, extracto de malta y extracto de levadura). Estos ensayos preliminares muestran que, los exudados producidos en los medios agar Sabouraud y agar YEPD presentan actividad antioxidante. Por su parte, los exudados obtenidos en agar SMY (sacarosa, extracto de malta y extracto de levadura) inhiben el crecimiento de cepas de *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *Bacillus subtilis* y *Micrococcus luteus*. Además, se observó que el exudado en SMY ralentizan el desarrollo del ciclo biológico de *Spodoptera littoralis* disminuyendo más del 50% del peso de las larvas (día 14) y de las crisálidas (día 19). Estos resultados marcan un inicio potencialmente prometedor, abriendo la opción de ampliar el número de basidiomicetos aislados y caracterizar las moléculas, presentes en los exudados, desde los puntos de vista funcional, molecular y genético.

P17

LOS GENES SCO0954, SCO1758, SCO4439 Y SCO4440 PARTICIPAN EN LA FORMACIÓN DE CÉLULAS DEFICIENTES DE PARED EN *STREPTOMYCES COELICOLOR*

Alonso-Fernández, Sergio*; Fernández-García, Gemma; Gutiérrez-del-Río, Ignacio; Lombó, Felipe y Manteca, Ángel

Área de Microbiología, Departamento de Biología Funcional, IUOPA, ISPA, Facultad de Medicina, Universidad de Oviedo, Oviedo, España

*alonsosergio@uniovi.es

Streptomyces es un género de bacterias de especial relevancia biotecnológica al producir dos tercios de los metabolitos secundarios clínicamente relevantes, especialmente antibióticos. Se caracteriza por presentar un ciclo de vida complejo con procesos de crecimiento micelial y diferenciación morfológica, coordinados con procesos fisiológicos como ciclos de muerte celular programada (MCP) y la activación del metabolismo secundario. Bajo estrés osmótico, *Streptomyces* es también capaz de formar células deficientes de pared (células S y formas L) cuya regulación es prácticamente desconocida¹.

En este trabajo descubrimos que las proteínas SCO0954 (N-acetiltransferasa con dominio YncA), SCO1758 (GTPasa con dominio EngA), SCO4439 (D-alanil-D-alanina carboxipeptidasa) y SCO4440 (proteína similar a GOLPH3) participan en la formación de células deficientes de pared en *Streptomyces coelicolor* a través de la modulación del *cross-linking* y de los niveles de metionina oxidada en el peptidoglicano, además de influir en la resistencia a glicopéptidos. Es la primera vez que se encuentran células deficientes de pared inducidas por estrés osmótico en *Streptomyces coelicolor* y la primera vez que la reorganización del peptidoglicano se correlaciona con la formación de células S y formas L en estreptomicetos, contribuyendo a expandir el conocimiento actual sobre la formación de células deficientes de pared en bacterias.

Referencias:

1. Ramijan K, et al. Stress-induced formation of cell wall-deficient cells in filamentous actinomycetes. *Nat Commun* 9, 5164 (2018).

Financiación:

“Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades / Agencia Estatal de Investigación / Fondo Europeo de Desarrollo Regional” (PID2021-122911OB-I00); “Consejería de Empleo, Industria y Turismo del Principado de Asturias” (SV-PA-21-AYUD/2021/51399). Sergio Alonso-Fernández ha sido financiado por una ayuda predoctoral del programa «Severo Ochoa» (PA-20-PF-BP19-006) de la Consejería de Ciencia, Innovación y Universidad del Principado de Asturias.

P18

MICROORGANISMOS AMBIENTALES COMO DEGRADADORES DE TERMOPLÁSTICOS EPOXÍDICOS

Garrido-Chamorro, Sonia^{1,2}; García-Alonso, Sonia¹; Vasco-Cárdenas, María F.^{1,2}; Ibáñez, Ana³; Carballo-Fernández, Diana¹; Cendón-Álvarez, Marta¹; Chamizo-Ampudia, Alejandro^{1,2}; Olivera, Elías R.^{1,2}; Barreiro, Carlos^{1,2*}

¹Área de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Biología Molecular, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, León, España; ²Instituto de Biología Molecular, Genómica y Proteómica (INBIOMIC), Universidad de León, León, España; ³Instituto de Investigación de la Viña y el Vino, Escuela de Ingeniería Agraria, Universidad de León, León, España

*c.barreiro@unileon.es

El reciclado de materiales plásticos, como los termoplásticos epoxídicos, representa un desafío significativo y una tendencia emergente en el ámbito de la microbiología industrial y la biotecnología microbiana. Estos compuestos son ampliamente utilizados en sectores como la aviación, la automoción y la construcción debido a su notable ligereza y resistencia. Sin embargo, la estructura reticular de dichos compuestos epoxídicos, derivada de la combinación de las resinas epoxi y las fibras de refuerzo, representa un obstáculo considerable para su degradación, llevándolos tradicionalmente a la incineración o su acumulación en vertederos como método de reciclaje. Recientemente, el estudio de microorganismos ambientales con diferentes capacidades degradativas de compuestos recalcitrantes ha abierto nuevas perspectivas en la degradación de diferentes complejos poliméricos. Como ejemplo, destacan las bacterias capaces de descomponer el tereftalato de polietileno (PET). Así, también se han descrito unas pocas especies de los géneros *Rhodococcus* y *Pseudomonas* que muestran cierta capacidad de metabolizar las resinas epoxídicas al utilizarlas como fuente de carbono. Dentro de este escenario de Economía Circular, el proyecto ESTELLA (nº: 101058371), financiado por la Unión Europea dentro del Programa *Horizon Europe*, se centra en la degradación, reutilización y reciclaje de materiales epoxídicos desde una perspectiva biotecnológica. El proyecto se dedica a la identificación y caracterización de microorganismos ambientales capaces de degradar los compuestos integrantes de los termoplásticos epoxídicos. Así, mediante el empleo de técnicas avanzadas de muestreo ambiental optimizadas en nuestro grupo¹, los métodos de identificación microbiana mediante espectrometría de masa, la optimización de condiciones de cultivo, y el escalado de los procesos productivos, se abordó la selección de los candidatos microbianos más prometedores. Este enfoque representa un avance significativo en el campo de la biotecnología microbiana, ofreciendo soluciones innovadoras para el reciclaje de materiales epoxídicos, y contribuyendo al desarrollo de una economía más circular y sostenible.

Financiación y referencia:

Proyecto ESTELLA (Design of bio-based thermoset polymer with recycling capability by dynamic bonds for bio-composite manufacturing) (proyecto nº: 101058371) financiado por la Unión Europea a través del Programa Horizon Europe (convocatoria: HORIZON-CL4-2021-RESILIENCE-01-11). <https://estellaproject.eu/>

1.Velasco-Rodríguez O, et al. Microorganisms, 2022. doi:10.3390/microorganisms10061249.

P19

SCREENING DE HONGOS DEGRADADORES DE POLÍMEROS PLÁSTICOS

González, Juan P.; Bejarano-Muñoz, Lara*; Méndez-Líter, Juan A.; Prieto, Alicia; Barriuso, Jorge
 Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España

*lara.bejarano@cib.csic.es

Los plásticos son utilizados en todo tipo de aplicaciones industriales debido a su bajo coste de producción, su estabilidad estructural y su durabilidad. Los métodos de eliminación de los plásticos convencionales son el desecho en vertedero, la incineración y el reciclaje mecánico (poco eficiente). Sin embargo, la mala gestión de estos residuos provoca su acumulación en el medio ambiente, causando problemas de contaminación. Como alternativa sostenible, se propone la biodegradación del plástico, definido como el proceso por el cual un organismo o sus enzimas descompone los polímeros en pequeñas moléculas metabolizables.

En este trabajo se ha realizado un *screening* de quince hongos saprófitos de la madera para la degradación de tres tipos de plásticos: polietileno (PE), ácido poliláctico (PLA) y tereftalato de polietileno (PET).

En primer lugar, los hongos se cultivaron en matraces, en medio rico en presencia de diferentes inductores para la producción de crudos enzimáticos con actividades susceptibles de degradar los plásticos. Posteriormente, se prepararon placas de agar con emulsiones de los distintos plásticos en disolventes orgánicos. Y finalmente, se realizó el *screening* de degradación en medio sólido mediante dos vías: (1) *in vivo*, cultivando los hongos directamente en las placas con los plásticos; (2) *in vitro*, testando los crudos enzimáticos obtenidos en las placas con los plásticos. En ambos casos, se monitorizó la aparición de halos de degradación. De los quince hongos testados en el *screening*, cuatro de ellos mostraron actividades prometedoras para la degradación de plásticos.

Financiación:

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto MICODE: Consorcios microbianos para la degradación de plásticos convencionales (PID2020-114210RB-I00 MCIN/AEI) y DEMO: Degradación de poliésteres plásticos y valorización de sus monómeros (TED2021-130096B-I00, MCIN/AEI/“NextGenerationEU”/PRTR).

P20

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIÓFAGOS COMO MÉTODO DE BIOCONTROL DE BACTERIAS FITOPATÓGENAS

Bernal Soro, Antonio^{1,2*}; Lucas-Elío, Patricia¹; Sánchez-Amat, Antonio¹

¹Departamento de Genética y Microbiología, Universidad de Murcia, Murcia; ²Mundeco Laboratorios, Agronova Biotech, Fortuna, Murcia

*abernal@mundeco.es

La optimización del rendimiento de los cultivos es un desafío agronómico significativo, influenciado por factores como enfermedades y plagas, que pueden ocasionar pérdidas globales estimadas en torno al 10% de la producción¹. Entre los patógenos, las bacterias fitopatógenas representan una preocupación considerable, con más de 200 especies identificadas, incluyendo a *Erwinia amylovora*, causante del fuego bacteriano en frutales². Las estrategias convencionales de control, basadas en prácticas agrícolas (cuarentena e incineración de cultivos afectados) y químicos, han demostrado ser insuficientes para combatir de manera efectiva esta enfermedad y se están desarrollando estrategias alternativas incluyendo el uso de bacteriófagos³.

Nuestro estudio explora el uso de bacteriófagos como agentes de biocontrol, ofreciendo una alternativa prometedora para la agricultura ecológica. Mediante el aislamiento de fagos de muestras ambientales, principalmente aguas residuales y de riego, disponemos de una colección con más de 20 fagos activos frente a bacterias fitopatógenas, incluyendo 4 fagos específicos contra *Erwinia amylovora*, entre los que se encuentran tanto myovirus como podovirus. Estos fagos poseen un amplio rango de acción contra diversas cepas de la bacteria, incluyendo cepas silvestres aisladas de frutales enfermos y cepas de referencia (CECT 222).

Referencias

- 1 Flood, J. The importance of plant health to food security. *Food Security* 2, 215-231, doi:10.1007/s12571-010-0072-5 (2010).
- 2 Mansfield, J. et al. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* 13, 614-629, doi:https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x (2012).
- 3 Buttner, C. et al. Bacteriophages and Bacterial Plant Diseases. *Front Microbiol* 8, 34, doi:10.3389/fmicb.2017.00034 (2017).

Financiación:

Este proyecto de investigación se encuentra enmarcado dentro del proyecto CDTI IDI-20200837 “Aislamiento y caracterización de bacteriófagos como método de biocontrol de patógenos bacterianos en agricultura”.

P21

RECOMBINANT PRODUCTION OF BOVINE SERUM ALBUMIN (BSA) IN YEAST: OPTIMIZATION AND ENHANCED BLOCKING CAPACITY IN IMMUNOASSAYS

Bosch, Sandra*; García, Ana; de las Rivas, Matilde

Levprot Bioscience, Calatayud, Zaragoza, Spain

*sbosch@levprot.com

At Levprot Bioscience we have developed an approach to the production of Bovine Serum Albumin (BSA) using recombinant methods in yeast, eliminating the need for animal-based sources. By optimizing the expression strain, production and downstream processes, we have achieved significant advancements both in yield and functionality of recombinant BSA (rBSA).

Traditionally sourced from animal sera, BSA is a critical component in various biological assays and experiments. However, concerns regarding animal welfare and batch-to-batch variability have prompted the exploration of alternative production methods. Through genetic engineering and precision fermentation techniques, we have successfully developed a sustainable and scalable method for rBSA production in yeast.

Our research demonstrates not only the feasibility of recombinant BSA production but also its superior performance compared to conventionally sourced BSA. The optimized production process yields high quantities of pure BSA, ensuring consistency and reliability in experimental outcomes. Furthermore, our recombinant BSA exhibits enhanced blocking capacity in immunoassays, improving the accuracy and sensitivity of detection methods.

By presenting our findings, we aim to advocate for the adoption of recombinant BSA as a viable alternative to animal-derived sources. This innovative approach not only aligns with ethical considerations but also offers practical advantages in terms of scalability, reproducibility, and performance in immunoassays. We believe that embracing recombinant production methods represents a significant step forward in the field of protein production and biotechnology.

P22

DISEÑO DE ACINETOBACTER BAYLYI COMO CHASIS BACTERIANO PARA EL RECICLAJE BIOLÓGICO DE ÉSTERES DE FTALATO

Calonge-García, Alba*; Pereyra-Camacho, Marco A.; Pardo, Isabel

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España

*alba.calonge@cib.csic.es

La contaminación causada por plásticos es un problema medioambiental creciente. Es el caso de los poliésteres y diésteres de los tres isómeros de ftalato: el tereftalato (TPA), componente mayoritario del plástico PET; el isoftalato (IPA), empleado como co-monómero en el PET; y el ortoftalato (OPA), comúnmente encontrado como diéster en plastificantes. Estos son difícilmente degradables y potenciales alteradores endocrinos¹. Nuestro objetivo es modificar genéticamente la bacteria *Acinetobacter baylyi* para obtener un biosensor celular que permita la detección *in vivo* de los isómeros de ftalato y el cribado de hidrolasas activas frente a distintos poliésteres y diésteres de ftalatos, con la futura meta de deconstruir y bioconvertir simultáneamente estos materiales. Un paso limitante para estas aplicaciones es el transporte de ftalatos a través de la membrana. Empleando un biosensor fluorescente para TPA descrito previamente², demostramos las aplicaciones de esta herramienta en *A. baylyi* optimizando el transporte de este compuesto. En primer lugar, obtuvimos mutantes de transportadores nativos capaces de importar de manera inespecífica TPA, delecionando a la vez sus supuestos represores². Empleando el biosensor, identificamos el mutante capaz de importar TPA de manera más eficiente, que fue seleccionado como plataforma de cribado de distintas PETasas^{3,4,5}. Gracias a esta herramienta, comprobamos que la expresión del gen nativo de la PETasa de *Ideonella sakaiensis*⁶ superó a aquellos con codones optimizados, sugiriendo que las tasas traduccionales subóptimas favorecen el correcto plegamiento y/o secreción de la enzima. A raíz de estos resultados, desarrollamos nuevos biosensores para IPA y OPA basados en un reportero fluorescente y factores de transcripción de *Comamonas* sp. E6, bacteria que cataboliza ftalatos nativamente⁷. Estos biosensores serán empleados para evaluar *in vivo* el transporte de IPA y OPA en *A. baylyi* y caracterizar nuevas hidrolasas. Estos avances permitirán la obtención de un chasis microbiano para la valorización de residuos plásticos.

Financiación/Referencias:

Este trabajo está financiado por el CSIC y la Fundación Reina Sofía, en colaboración con la Fundación Primafrío, bajo el acuerdo nº 20210510; MCIN/AEI/10.13039/50110001103 y la Unión Europea "NextGenerationEU/PRTR" bajo el proyecto nº TED2021-130850A-I00; y la (CAM) bajo el contrato nº 2022-T1/BIO-23939. IP agradece a la CAM el contrato "Atracción de Talento". ACG agradece al CSIC la beca JAE Intro y al Ministerio de Ciencia y Universidades la beca de Formación de Profesorado Universitario (FPU).

1. Annamalai, J and Namasivayam, V. (2015). *Environ Int.* 76:78-97. doi: 10.1016/j.envint.2014.12.006; 2. Pardo, I., et al. (2020). *Metab. Eng.* 62, 260-274. doi: 10.1016/j.ymben.2020.09.009; 3. Bell, E. L., et al. (2022). *Nat. Catal.* 5, 673-681. doi: 10.1038/s41929-022-00821-3; 4. Liu, Y., et al. (2022). *Sci. Total Environ.* 834, 154947. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.154947; 5. Lu, H., et al. (2022). *Nature.* 604, 662-667. doi: 10.1038/s41586-022-04599-z; 6. Yoshida, S., et al. (2016). *Science.* 351(6278), 1196-1199. doi: 10.1126/science.aad6359; 7. Shimodaira, J., et al. (2015). *Genome Announc.* 3(3), e00032-13. doi: 10.1128/genomeA.00643-15

P23

REDISEÑANDO EL METABOLISMO DE *ACINETOBACTER BAYLYI* PARA LA PRODUCCIÓN DE NUEVOS BIOPOLÍMEROS A PARTIR DE RESIDUOS PLÁSTICOS

Capel, Susana*; Pardo, Isabel

Departamento de Biotecnología Microbiana y de Plantas, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España

*susana.capel@cib.csic.es

El modelo actual de consumo lineal de plásticos derivados del petróleo ha creado un problema ambiental a nivel mundial, lo que ha impulsado un creciente interés en el uso de nuevos biopolímeros sostenibles generados a partir de fuentes renovables. *Acinetobacter baylyi* ADP1 es una bacteria que acumula de manera natural ésteres de cera (EC) como compuesto de reserva de carbono, que están estrechamente relacionados con el metabolismo de ácidos grasos (AG). Estos compuestos son de gran interés para la obtención de ácidos dicarboxílicos de cadena larga (LDCAs), recientemente utilizados para desarrollar polímeros sostenibles con propiedades similares al polietileno¹. Aprovechando el versátil metabolismo de *A. baylyi*, nuestro objetivo es revalorizar monómeros derivados de la despolimerización oxidativa de plásticos convencionales², transformándolos en bioplásticos químicamente reciclables basados en EC/LDCAs. Sin embargo, para ello es necesario aumentar la producción natural de estos compuestos. En este estudio, hemos generado distintos mutantes para incrementar la producción AG y EC. Estos mutantes han sido evaluados mediante un biosensor luminiscente que monitoriza en tiempo real la producción de EC³. Con esta herramienta, hemos identificado mutantes capaces de incrementar la producción de EC sin comprometer el crecimiento en monómeros derivados de la despolimerización oxidativa de plásticos. Además, mediante estudios de transcriptómica, hemos identificado nuevos genes candidatos como *fadE* (acil-CoA deshidrogenasa), cuya delección podría aumentar la acumulación de AG. Finalmente, hemos identificado genes candidatos para llevar a cabo la ω -oxidación de AG en *A. baylyi*, en concreto la alcohol deshidrogenasa y aldehído deshidrogenasa involucradas en la degradación de alcanos y la utilización de EC, que planeamos sobre-expresar junto con la alcano-monooxigenasa para la producción directa de LDCAs.

Referencias/Financiación:

1. Häußler, M. et al., (2021). Nature. 590, 423–427. doi: 10.1038/s41586-020-03149-9.
2. Sullivan, K. P. et al. (2022) Science, 378(6616), 207-211. doi:10.1126/science.aba4626
3. Santala, S. et al., (2011) Microb Cell Factories, 10(1), 1-8. doi: 10.1186/1475-2859-10-75

Este trabajo está financiado por el CSIC y la Fundación Reina Sofía, en colaboración con la Fundación Primafrío, bajo el acuerdo nº 20210510; MCIN/AEI/10.13039/50110001103 y la Unión Europea "NextGenerationEU/PRTR" bajo el proyecto TED2021-130850A-I00; y la Comunidad Autónoma de Madrid (CAM) bajo el proyecto 2022-T1/BIO-23939. S.C. e I.P. agradecen a la CAM sendos contratos de Personal Investigador Predoctoral en Formación y de Atracción de Talento.

P24

RELACIÓN ENTRE PSICROFILIA Y XEROTOLERANCIA EN *EXIGUOBACTERIUM*

Castillo, María^{1*}; Navarro Llorens, Juana María²; García, José Luis^{1,3}

¹Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España; ²Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España; ³Instituto de Biología Integrativa de Sistemas (I²SYSBIO) (UV-CSIC), Paterna (Valencia), España

*maria.castillo@cib.csic.es

El género *Exiguobacterium* abarca una gran variedad de especies con propiedades útiles para el desarrollo de aplicaciones biotecnológicas. Estas bacterias Gram-positivas se encuentran en hábitats extremos, desde glaciares hasta suelos tropicales, y por eso muestran una notable capacidad para resistir diferentes tipos de estrés abiótico. *Exiguobacterium* sp. Helios fue aislado como resultado de la bioprospección de la microbiota en un nicho extremo, en concreto, de un panel solar en España¹. Los resultados experimentales muestran que tanto esta bacteria como su especie más cercana, *E. sibiricum* aislado del permafrost siberiano², presentan una alta tolerancia a la desecación, entre otras poliextremofilias, como la capacidad de crecer a bajas temperaturas. El cambio morfológico que experimentan las células de *Exiguobacterium* sp. Helios desde una forma bacilar en la fase exponencial de crecimiento a una forma cocoidea con una envoltura celular engrosada en la fase estacionaria de crecimiento sugiere que este fenotipo puede contribuir a su xerotolerancia. El objetivo del presente estudio ha sido por una parte determinar si las células de *Exiguobacterium* cultivadas a 4°C consiguen una mayor tolerancia a la desecación que aquellas cultivadas a 30°C, y por otra parte determinar mediante técnicas de microscopía si estas diferencias están relacionadas con los cambios morfológicos. La resistencia a la desecación o xerotolerancia de las células en su forma vegetativa (no esporuladas) no solo plantea interesantes interrogantes sobre los mecanismos moleculares implicados en esta tolerancia, sino que desde el punto de vista de su aplicación es de gran interés para la industria agroalimentaria.

Referencias/Financiación:

1. Castillo, M., et al. Microorganisms, 2021. Doi: 10.3390/microorganisms9122455
2. Rodrigues, D. F., et al. BMC Genomics, 2008. Doi: 10.1186/1471-2164-9-547

La investigación ha sido financiada por la beca de Formación del Personal Investigador del Programa Estatal de Promoción del Talento y su Empleabilidad en I+D+i (PRE2019-087933), y por los proyectos BIO2015-66960-C3-1-R, BIO2016-79736-R y PID2019-110612RB-I00 del Ministerio de Economía y Competitividad de España, RTI2018-095584-B-C41-42-43-44 del Ministerio de Ciencia e Innovación de España, y por la beca CSIC 2017 2 01 015.

P25

BIOPRODUCTOS DE INTERÉS COSMÉTICO EN CIANOBACTERIAS ENDOLÍTICAS DEL DESIERTO DE ATACAMA

Cirés, Samuel^{1*}; Casero, María Cristina¹; Wörmer, Lars²; Quesada, Antonio¹; Velázquez, David¹

¹Dpto. Biología, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España; ²MARUM – Center for Marine Environmental Sciences, University of Bremen, Bremen, Germany

*samuel.cires@uam.es

Las cianobacterias producen gran diversidad de compuestos con interés biotecnológico. Sin embargo, el potencial de las cianobacterias de ambientes extremos no ha sido explorado en profundidad debido al desafío que supone su aislamiento y crecimiento en cultivo. El desierto de Atacama, a pesar de ser uno de los ambientes más inhóspitos del planeta, alberga comunidades microbianas endolíticas, en el interior de las rocas, donde las cianobacterias constituyen el principal productor primario. Este trabajo explora el potencial biotecnológico de cianobacterias endolíticas del desierto de Atacama centrándose en sus exopolisacáridos (EPS) y lípidos polares (LP). El estudio se realizó en cepas de los géneros *Chroococciopsis*, *Gloeocapsopsis*, *Gloeocapsa* y *Pseudoacaryochloris*, la mayoría originarias de sustratos líticos no salinos, cultivadas en condiciones no salinas y de salinidad moderada (hasta 20g NaCl L⁻¹). Los EPS y LP se caracterizaron en una cuantitativa y cualitativa (μ FTIR y LC-MS), y se determinó su potencial antiinflamatorio relacionado con la inhibición de la actividad elastasa. Así mismo se obtuvieron datos ómicos incluyendo tanto la secuenciación del genoma completo como análisis de RNA-Seq en respuesta al estrés salino. La mayoría de las cepas fueron capaces de crecer en condiciones de hasta 20g NaCl L⁻¹, con un efecto positivo de la salinidad en la producción de EPS (hasta 3 veces la cantidad obtenida sin NaCl) y sus metabolitos mostraron una destacable capacidad de inhibir la actividad de la enzima elastasa. En conjunto, estos hallazgos señalan a las cianobacterias del desierto de Atacama, dada su tolerancia a la salinidad y su potencial antiinflamatorio, como un candidato para su cultivo con fines biotecnológicos interesante en sectores como la industria cosmética o la biomedicina.

Financiación:

El proyecto LIPEPSTREM (SI3/PJI/2021-00461) ha sido financiado por la Comunidad de Madrid y la Universidad Autónoma de Madrid. M.C. Casero es receptora de un contrato Juan de la Cierva financiado por MCIN/AEI (FJC2020-044126-I) y fondos Next Generation de la UE.

P26

ESTUDIO DE LA BIODEGRADACIÓN EN CONDICIONES DE COMPOSTAJE DE PELÍCULAS ELABORADAS CON PLA Y NANOPARTÍCULAS DE MXENOS (Ti₃C₂T_x) O CU₂(OH)₃NO₃

Domínguez, Gabriela^{1*}; Santos, Xiomara²; Martín, Olga²; Molina, José Manuel¹; Hernández, Manuel¹; Fajardo, Carmen¹

¹Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, España; ²Universidad Carlos III de Madrid, Leganés, España

*gabriela.dominguez@uah.es

Atendiendo a la necesidad de alargar la vida útil de los alimentos y evitar problemas de contaminación microbiana, y en línea con la creciente conciencia social sobre el impacto ambiental que generan los residuos plásticos, nuestros grupos de investigación han desarrollado películas plásticas utilizando el biopolímero PLA como matriz, incluyendo nanopartículas de MXenos (Ti₃C₂T_x) o trihidroxinitrato de cobre (II) (CuHS) con probada actividad antibacteriana, para su potencial aplicación en la industria del envasado de alimentos^{1,2}. A pesar de que el PLA es considerado un polímero biodegradable, las propiedades biocidas de los *composites* elaborados podrían influenciar el proceso de degradación. Así, para evaluar la sostenibilidad ambiental de las nuevas películas funcionales, en este trabajo se ha analizado su grado de desintegración en condiciones que simulan un proceso de compostaje aeróbico intensivo¹. Películas de PLA, PLA-5% MXenos y PLA-1% CuHS se introdujeron (0.5% p/p) en reactores de compostaje durante 45 días en condiciones controladas de temperatura, aireación y humedad relativa. A distintos tiempos, las muestras fueron caracterizadas mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), y se determinaron las propiedades térmicas y mecánicas mediante análisis Termogravimétrico (TGA), Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) y Análisis Mecánico Dinámico (DMTA). Por último, se determinó el pH, carbono orgánico total, nitrógeno total, masa seca y sólidos volátiles durante el proceso de compostaje. Los resultados mostraron que, después de 30 días, se registró un grado de desintegración superior al 90 % en todas las películas ensayadas. Asimismo, no se detectaron diferencias significativas entre las muestras en los parámetros físico-químicos determinados, poniendo de manifiesto que la adición de nanopartículas no afectó a la compostabilidad de la matriz polimérica. Estos resultados avalarían el uso de los nuevos materiales desarrollados como una prometedora alternativa para sustituir los plásticos de origen petroquímico, más sostenible y respetuosa con el medio ambiente.

Referencias/Financiación:

1. Santos, X.; et al. *Polymers*, 2024. doi: 10.3390/polym15071661
2. Santos, X.; et al. *Membranes*, 2022. doi: 10.3390/membranes12111146.
3. UNE-EN ISO 20200. (2016). Determinación del grado de desintegración de materiales plásticos bajo condiciones de compostaje simuladas en un ensayo de laboratorio. AENOR, marzo de 2016. Este trabajo ha sido financiado con el Proyecto MICINN. Ref: TED2021-131847B-C22.

P27

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA 4-HIDROXIFENILACETATO 1-MONOOXIGENASA, EL PROTOTIPO DE UNA NUEVA FAMILIA DE FLAVÍN MONOOXIGENASAS

Espada, Pablo*; Alonso-Fernandes, Elena; de Dios, Enrique; Valencia, Ana; Durante-Rodríguez, Gonzalo; Díaz, Eduardo

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España

*pablo.espada@cib.csic.es / pablo.espada222@gmail.com

El 4-hidroxifenilacetato (4-HPA) es un compuesto aromático generado durante la degradación de ciertos aminoácidos como la tirosina, la despolimerización de la lignina o la producción de aceite de oliva¹, lo que la convierte en una molécula de un interés biotecnológico considerable. La ruta de degradación aerobia del 4-HPA más estudiada es aquella que oxida el 4-HPA a homoprotocatecuato (3,4-dihidroxifenilacetato) mediante una 4-HPA 3-monooxigenasa de dos componentes (ruta hpa). En otras bacterias se ha descrito una ruta alternativa (ruta hmg) en la que una actividad monooxigenasa convierte el 4-HPA en el compuesto central homogentisato (2,5-dihidroxifenilacetato)². Sin embargo, los genes responsables de la actividad 4-HPA 1-monooxigenasa son desconocidos hasta la fecha. En este trabajo se presenta, por primera vez, la identificación y caracterización, mediante análisis bioquímicos y genéticos, de la enzima HmgHZY involucrada en la oxidación inicial del 4-HPA a homogentisato en la beta-proteobacteria *Aromatoleum* sp. CIB³. Estudios tanto *in vitro* como *in vivo* revelaron que HmgHZY requiere oxígeno y NADPH para la hidroxilación en posición 1 del anillo bencénico del 4-HPA y el subsiguiente *NIH shift* del grupo alquilo para finalmente producir homogentisato. Además, se han identificado ortólogos de los genes *hmgHZY* en una amplia variedad de genomas, lo que sugiere que la ruta hmg está ampliamente distribuida en bacterias. La 4-HPA monooxigenasa caracterizada (HmgHZY) constituye el primer miembro de una nueva familia de flavín monooxigenasas de compuestos aromáticos que llevan a cabo un *NIH shift* durante la reacción de monooxigenación. La expresión heteróloga de los genes *hmgHZY* en *Escherichia coli* o *Pseudomonas putida* permite plantear el desarrollo de biocatalizadores de interés biotecnológico para la producción de pigmentos (piomelaninas) derivados de la oxidación del homogentisato. Además, la sobreexpresión de *hmgHZY* en *Aromatoleum* sp. CIB constituye una posible estrategia para mejorar la producción de bioplásticos como el polihidroxibutirato (PHB) usando 4-HPA como sustrato.

Referencias y financiación:

1. Crawford DL, et al. *Appl Environ Microbiol.* 1983. doi: 10.1128/aem.45.3.898-904.1983
2. Mohamed Mel-S, et al. *Arch Microbiol.* 2002. doi: 10.1007/s00203-002-0438-y
3. Martín-Moldes Z, et al. *Syst Appl Microbiol.* 2015. doi: 10.1016/j.syapm.2015.07.002

Financiado por PID2019-110612RB-I00 y PID2022-142540OB-I00

P28

PRODUCCIÓN DE β -CAROTENO USANDO UNA CEPA MODIFICADA DE *YARROWIA LIPOLYTICA* CULTIVADA EN MEDIOS DERIVADOS DE RESIDUOS BIOLÓGICOS DE PODA Y PAPEL

Gallego-García, María^{1,2*}; Moreno, Antonio David¹; Ballesteros, Ignacio¹; Ledesma-Amaro, Rodrigo³; Negro, María José¹

¹CIEMAT, Madrid, España; ²Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, España; ³Imperial College London, Londres, Reino Unido

*maria.gallego@ciemat.es

En todo proceso biotecnológico se persigue la co-producción de varios compuestos de interés o la producción de compuestos de alto valor añadido, además de explotar materias primas económicas, para hacer factible el escalado a nivel industrial. Trabajar con microorganismos genéticamente modificados es crucial para lograr una producción óptima de bio-productos para hacer frente a la demanda del mercado. En este trabajo, se ha estudiado la levadura oleaginosa *Yarrowia lipolytica* S114, previamente modificada para producir β -caroteno en el Departamento de Bioingeniería del Imperial College London, utilizando medios de cultivo derivados de residuos biológicos. Entre las materias primas renovables se han estudiado los residuos lignocelulósicos derivados de la poda urbana y los residuos de papel rechazados en la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos. *Y. lipolytica* fue cultivada en la fracción líquida resultante de la hidrólisis enzimática de la poda urbana pretratada por explosión de vapor (PUM) y residuos de papel pretratados a 120°C con ácido sulfúrico (RPM). Este estudio se centró en evaluar si los medios derivados de estos residuos son adecuados para el crecimiento de levaduras y la síntesis de β -caroteno. Las células se cultivaron en modo discontinuo a 30°C, pH6, con agitación variable (500-1500 rpm) para mantener una concentración de oxígeno disuelto superior al 20 % v/v de saturación de aire. Tras el tiempo de cultivo, se extrajo el β -caroteno intracelular y se cuantificó espectrofotométricamente. Se alcanzaron concentraciones por encima de 2-3 g/L de β -caroteno. Estas materias primas derivadas de residuos y la producción de β -caroteno lograda por esta levadura hacen del proceso una opción atractiva para el concepto de biorrefinería.

Financiación:

MCIN/AEI/(10.13039/501100011033) financia el proyecto PID2020-119403RB-C22 (BIOMIO+CAR).

P29

BIOPLÁSTICOS DE USO AGRÍCOLA FUNCIONALIZADOS CON DERIVADOS LÁCTEOS ANTIFÚNGICOS

García-Alonso, Sonia^{1*}; Vasco-Cárdenas, María F.^{1,2}; Garrido-Chamorro, Sonia^{1,2}; Ibáñez, Ana³; Cendón-Álvarez, Marta¹; Carballo-Fernández, Diana¹; Pérez-Gutiérrez, Sara¹; Chamizo-Ampudia, Alejandro^{1,2}; Olivera, Elías R.^{1,2}; Barreiro, Carlos^{1,2}

¹Área Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, León, España; ²Instituto de Biología Molecular, Genómica y Proteómica (INBIOMIC), Universidad de León, León, España; ³Instituto de Investigación de la Viña y el Vino, Escuela de Ingeniería Agraria, Universidad de León, León, España

*sgara@unileon.es

El uso de bioplásticos en la agricultura, especialmente en técnicas como el *mulching*, se presenta como una oportunidad para mitigar los efectos medioambientales asociados con los plásticos convencionales. Aunque el coste inicial de estos bioplásticos puede ser más alta en comparación con los métodos tradicionales, el retorno a largo plazo, mediante la reducción en la necesidad del uso de fitosanitarios químicos, lo que facilitaría el enriquecimiento de la microbiota del suelo, podría compensar estos costes. La incorporación de residuos de diferentes actividades industriales con bajo coste y actividad antifúngica descrita en la literatura, como el suero láctico o sus componentes (p. ej.: lactoferrina), podría mejorar la sostenibilidad de estos materiales. Lo que supone un desafío en la agricultura. En este marco se desarrolla el proyecto BioPAC (Ref. TED2021-131864B-C21), dentro del cual, uno de sus objetivos es estudiar mediante bioensayos la actividad de la lactoferrina y el suero láctico como posibles antifúngicos. Para ello, se han utilizado diferentes concentraciones de ambos compuestos y condiciones de análisis frente a varios hongos fitopatógenos. La investigación busca encontrar la concentración óptima de lactoferrina y/o suero láctico que maximice su capacidad antifúngica. Para realizar estos bioensayos, se suplementaron medios complejos con diferentes concentraciones de las sustancias a analizar, creciendo posteriormente los hongos patógenos tanto en estas condiciones (tratado), como en sus condiciones óptimas de crecimiento (control). La comparación del diámetro del crecimiento micelial y el cálculo del porcentaje de inhibición permiten estimar el efecto de la adición de la sustancia al medio. Con esta investigación, se busca encontrar una sustancia de origen natural con capacidad antifúngica que permita controlar los fitopatógenos más comunes, evitando o reduciendo así el uso de los actuales productos de origen químico que presentan un alto efecto perjudicial para el medio ambiente.

Financiación:

Este trabajo se ha desarrollado dentro del Proyecto BioPAC (*Development of bioactive and lifespan-controlled bioplastics*) (nº ref. TED2021-131864B-C21) financiado por MCIN (Ministerio de Ciencia e Innovación) / AEI (Agencia Estatal de Investigación) / 10.13039/501100011033 (*Digital Object Identifier*) por la Unión Europea NextGenerationEU / PRTR (Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia).

P30

AISLADOS AMBIENTALES DEL GÉNERO *PSEUDOMONAS* COMO HERRAMIENTA PARA LA BIODEGRADACIÓN DE TERMOPLÁSTICOS EPOXÍDICOS

Garrido-Chamorro, Sonia^{1,2*}; García-Alonso, Sonia¹; Vasco-Cárdenas, María F.^{1,2}; Ibáñez, Ana³; Carballo-Fernández, Diana¹; Cendón-Álvarez, Marta¹; Chamizo-Ampudia, Alejandro^{1,2}; R. Olivera, Elías^{1,2}; Barreiro, Carlos^{1,2}

¹Área de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Biología Molecular, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, León, España; ²Instituto de Biología Molecular, Genómica y Proteómica (INBIOMIC), Universidad de León, León, España; ³Instituto de Investigación de la Viña y el Vino, Escuela de Ingeniería Agraria, Universidad de León, León, España

*sgarc@unileon.es

En la vanguardia de la biotecnología y la microbiología aplicada, el proyecto ESTELLA (nº101058371), financiado por el Programa *Horizon Europe*, se centra en la búsqueda de soluciones biológicas para el reciclaje de termoplásticos compuestos de resinas epoxídicas. Estos materiales, fundamentales en la industria por su resistencia y ligereza, suponen un desafío ambiental significativo debido a su compleja degradación. Tradicionalmente, la gestión de estos compuestos ha implicado su acumulación o incineración, prácticas insostenibles dentro del concepto de Bioeconomía Circular. En este contexto, el reciente aislamiento de una cepa del género *Pseudomonas*, capaz de sobrevivir durante largos periodos de tiempo utilizando únicamente las resinas epoxídicas como única fuente de carbono, ofrece una alternativa ecológica prometedora a los métodos convencionales de reciclaje. Esta cepa no solo serviría como herramienta para futuros desarrollos biotecnológicos de aplicación industrial, sino que también representa un avance significativo en la gestión sostenible de residuos. La secuenciación y análisis bioinformático del genoma de la cepa aislada ha revelado un tamaño de 6,5 Mpb con un contenido de G+C del 61,87%, con 6.181 marcos de lectura abiertos anotados. Este análisis preliminar ha identificado la presencia de enzimas esenciales para la degradación de las resinas, tales como epoxidasas e hidrolasas, así como varios clústeres de metabolitos secundarios. La potencial implicación de estas enzimas en la ruptura de los complejos enlaces químicos de las resinas, junto con los metabolitos secundarios que podrían promover la adaptación y supervivencia de la bacteria, sugieren un mecanismo biológico altamente interesante. Actualmente, mediante técnicas proteómicas, se busca comprender cómo esta especie del género *Pseudomonas* logra degradar eficientemente estos termoplásticos recalcitrantes. Este enfoque proteómico tiene como objetivo elucidar los mecanismos moleculares que facilitan a la bacteria la capacidad de atacar y descomponer estos materiales, lo cual podría ser crucial para el desarrollo de estrategias de reciclaje más sostenibles y efectivas.

Agradecimientos:

Proyecto ESTELLA (*Design of bio-based thermoset polymer with recycling capability by dynamic bonds for bio-composite manufacturing*) (proyecto nº: 101058371) financiado por la Unión Europea a través del Programa *Horizon Europe* (convocatoria: HORIZON-CL4-2021-RESILIENCE-01-11).

<https://estellaproject.eu/>

P31

OPTIMISATION OF L-LYSINE PRODUCTION FROM TEXTILE WASTES BY *CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM*

Ginestá-Anzola, Anahí*; Blasco-Lavilla, Nuria; Pagán-Muñoz, Aránzazu; Fernández-Gutiérrez, David; Lara-Guillén, Andrés J.

Centro Tecnológico de la Energía y del Medio Ambiente, Cartagena, España

*anahi.ginesta@cetenma.es

The textile industry is one of the most polluting, being responsible for 5 % of the total waste worldwide. One possibility to improve textile waste management is the transformation of textile residues into products with added value when they can no longer be reused. Cotton is constituted of almost pure cellulose, a natural polymer that makes up the structural components of plants. Therefore, cotton textile residues are suitable to be hydrolysed into glucose and provide a carbon source to be used in biorefineries.

L-lysine is an essential amino acid that cannot be synthesised by mammals. It is used in food health care, feed additives and pharmaceutical preparations. L-lysine is often produced industrially by mutagenised or engineered strains of *Corynebacterium glutamicum*. This species can use glucose but not cellulose as a carbon source. Therefore, it is mandatory to hydrolyse cellulose-based residues to glucose monomers that can be transformed by *C. glutamicum* into L-lysine. Currently, cellulose from textile residues can be hydrolysed into glucose for L-lysine production using commercial cellulose cocktails. L-lysine-producing strains of *C. glutamicum* can be further engineered to include cellulase genes that would confer them the ability to hydrolyse cellulose and use it as a carbon source to produce the amino acid.

The aim of this work is to improve L-lysine obtention by *C. glutamicum* through the engineering of an L-lysine-producing strain to express cellulases that can hydrolyse cellulose from textile residues. By using this cellulose as a substrate, it would eliminate the need for an additional step in the process.

References/Funding:

Stanescu, M. D. (2021). State of the art of post-consumer textile waste upcycling to reach the zero waste milestone. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 28(12), 14253-14270.

Liu, J., Xu, J. Z., Rao, Z. M., & Zhang, W. G. (2022). Industrial production of L-lysine in *Corynebacterium glutamicum*: Progress and prospects. *Microbiol. Res.*, 262, 127101.

This work is being performed within the LISITEX project, funded by the Regional Development Agency (INFO) with the European Regional Development Fund (ERDF; 2023.08.CT01.000033).

P32

ESTUDIO DEL POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE COMPUESTOS NATURALES SOBRE *CLAVIBACTER MICHIGANENSIS* MEDIADO POR EL INCREMENTO DE ESTRÉS OXIDATIVO

Llano-Verdeja, Jesús*; Montero-Villacorta, Laura; Castañera-Estrada, Pablo; Lorente-Torres, Blanca; Álvarez-Ferrero, Helena; Fernández-Martínez, Sergio; Javadi-Marand, Farzaneh; López, Álvaro; Mourenza, Álvaro; Mateos, Luis; Letek, Michal

Área Microbiología, Departamento Biología Molecular, Universidad de León, León, España

*jesus.llano@unileon.es

La aparición de resistencias a antimicrobianos en bacterias patógenas ha provocado la necesidad de desarrollar estrategias complementarias o alternativas a las actuales. Una de las estrategias emergentes más interesantes es el uso de compuestos que generen estrés oxidativo como mecanismo de acción. El mantenimiento de la homeostasis redox es esencial para la supervivencia de los organismos vivos. La ruptura de este equilibrio en favor de un ambiente oxidante es denominado *distress* y provoca alteraciones en diversas biomoléculas además de fallos en la señalización intracelular. Con el fin de identificar compuestos naturales que causaran estrés oxidativo como mecanismo de acción, se generó un mutante de *Rhodococcus fascians* D188 carente de tres genes que codifican para microrredoxinas (*mrx*). Este mutante mostró diferencias en comparación con la cepa *wild type* en enfrentamientos a diferentes agentes oxidantes. Ambas cepas fueron utilizadas para identificar compuestos con actividad antimicrobiana que generasen estrés oxidativo dentro de una librería comercial de más de 3 000 compuestos naturales (MedChem). Una vez se verificó el potencial antimicrobiano en *R. fascians* de los compuestos identificados, se planteó la posibilidad de aplicarlos en otras actinobacterias fitopatógenas como *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Este trabajo muestra el potencial antimicrobiano de los compuestos naturales identificados tanto de forma individual como en combinación en busca de sinergias para elucidar estrategias sostenibles de control de actinobacterias fitopatógenas que puedan reemplazar en última instancia el uso de pesticidas convencionales.

Referencias/Financiación:

Agradecemos a la Junta de Castilla y León (JCyL) por financiar nuestra investigación con el proyecto LE044P20. P.C.E recibió una ayuda para realizar el doctorado de la Universidad de León (ULE); A.L.G. ha conseguido una beca de formación de la ULE; B.L.T. ha obtenido una beca predoctoral de la JCyL; J.L.V. y H.A.F. han conseguido Becas de Colaboración del Ministerio de Educación; J.L.V. una ayuda FPU del Ministerio de Universidades; A.M. una ayuda postdoctoral Margarita Salas y M.L. una ayuda Beatriz Galindo (Ref. BEAGAL18/00068 - BGP18/00033).

P33

ESTUDIO DEL POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE DOS CEPAS DE *STREPTOMYCES*

Lorenzo-Sánchez, María*; Díaz Martínez, Margarita; Santamaría Sánchez, Ramón I.

Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG) / Departamento de Microbiología y Genética, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)/Universidad de Salamanca (USAL), Salamanca, España

*marialschez@usal.es

En la actualidad uno de los principales problemas sanitarios es la resistencia a antimicrobianos. Una de las prioridades de la OMS es encontrar nuevos compuestos antibióticos y antifúngicos¹. Una de las fuentes principales de compuestos es el filo de los actinomicetos. Dentro de éste destaca el género *Streptomyces* por su alta capacidad de producción de compuestos bioactivos, hasta el 70-80% de los productos naturales con aplicaciones farmacológicas y agroquímicas².

En el presente trabajo se ha caracterizado la actividad antibiótica y antifúngica de dos cepas de *Streptomyces* procedentes de la colección de actinomicetos del laboratorio. Para ello se han realizado distintos bioensayos frente a varios microorganismos testigo representativos de distintos grupos: tanto bacterias, Gram positivas y Gram negativas, como hongos, entre los que destaca *Aspergillus fumigatus*, un patógeno de interés clínico que se encuentra entre los patógenos prioritarios para la OMS³. Estos estudios se han realizado con el fin de optimizar el medio de producción, la extracción de compuestos, así como la localización de éstos. Ambas cepas han demostrado tener una actividad antifúngica de interés.

Financiación:

PID2022-140962OB-I00

Referencias:

1. World Health Organization; 2022. <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240047655>
2. Donald et al. 2022. doi:10.3390/microbiolres13030031
3. WHO Fungal Priority Pathogens List to Guide Research, Development and Public Health Action. World Health Organization; 2022.

P34

UTILIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA PRODUCIDAS CON CULTIVOS DE LAS MICROALGAS *PARACHLORELLA SP.* Y *TETRATOSTICHOCOCCUS SP.* PARA LA DETECCIÓN DE METALES PESADOS Y LA DECOLORACIÓN DE COLORANTES

Pernas-Pleite, Carlos; Conejo-Martínez, Amparo M.; Abad, José P.; Marín, Irma*

Departamento de Biología Molecular, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España

*Irma.marin@uam.es

Se han obtenido nanopartículas de plata (AgNPs) de forma biogénica a partir de sobrenadantes de los cultivos de dos microalgas ácidotolerantes aisladas del estuario del Río Tinto (Huelva): *Parachlorella sp.* y *Tetratostichococcus sp.* Los medios de cultivo para estas microalgas fueron BG11 y una modificación sin cloruros de este BG11A, ambos ajustados inicialmente a pH 4 o 7. Para la síntesis de AgNPs se utilizaron sobrenadantes de cultivos en dos fases de crecimiento, temprana y tardía. Estas AgNPs se han caracterizado y estudiado sus posibles aplicaciones biotecnológicas como a) sensores de metales pesados en medios acuosos, mostrando distintas sensibilidades a los metales Cd, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn. Las AgNPs como sensores fueron especialmente sensibles a la presencia de Cu y Hg en relación con el resto de metales y b) decoloración de los colorantes azul índigo y verde bromocresol, como coadyuvante a tratamientos reductores y oxidantes, con NaBH₄ y K₂S₂O₈ respectivamente, a distintos pHs y tras varios tiempos de incubación. La decoloración del azul índigo se obtuvo únicamente en agua por procesos de oxidación con K₂S₂O₈ a partir de las 24 horas, mientras que el verde bromocresol se decoloró tanto en agua como a pH ácido. Todos los procesos de reducción con NaBH₄ produjeron decoloración, que fue inmediata únicamente contra el verde bromocresol en agua y en tampones alcalinos. Los procesos de decoloración fueron dependientes de la concentración de las AgNPs, observándose en general una mayor eficacia con las AgNPs producidas a partir de cultivos de *Parachlorella sp.* que con las generadas con los de *Tetratostichococcus sp.*, llegando en algunos casos a ser más eficientes que el AgNO₃.

Referencias:

Pernas-Pleite, C.; Conejo-Martínez, A.M.; Fernández Freire, P.; Hazen, M.J.; Marín, I.; Abad, J.P. Microalga Broths Synthesize Antibacterial and Non-Cytotoxic Silver Nanoparticles Showing Synergy with Antibiotics and Bacterial ROS Induction and Can Be Reused for Successive AgNP Batches. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24, 16183.

<https://doi.org/10.3390/ijms242216183>

Financiación:

Agencia Estatal de Investigación del Ministerio de Ciencia e Investigación. PID2022-136607NB-I00

P35

ESTUDIO DE LOS COMPUESTOS CON ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA PRODUCIDOS POR LA CEPA *STREPTOMYCES* RS231 Y SU APLICACIÓN EN EL CAMPO DE LA AGROBIOTECNOLOGÍA

Morán Cacho, Ramiro*; Díaz Martínez, Margarita; Santamaría Sánchez, Ramón I.

Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG) / Departamento de Microbiología y Genética, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) / Universidad de Salamanca (USAL), Salamanca, España

*ramiromorancacho@usal.es

Las bacterias pertenecientes al género *Streptomyces* presentan genomas de gran tamaño que les confiere la capacidad de generar una amplia variedad de metabolitos secundarios con actividades antibiótica, antifúngica o antitumoral, por nombrar algunas¹. Estas moléculas llevan años siendo objeto de interés por áreas como la medicina, la farmacología o la agricultura², que buscan en ellos nuevas herramientas con las que solucionar problemas y dificultades actuales y futuros.

En este trabajo se ha llevado a cabo una evaluación de la capacidad de la cepa *Streptomyces* RS231 para producir metabolitos antifúngicos que puedan usarse para combatir enfermedades fúngicas en cultivos de interés agroindustrial. Para ello, y como primera aproximación, se han realizado enfrentamientos en placa entre el actinomiceto y una colección de hongos causantes de distintas enfermedades en diversos hospedadores vegetales para evaluar si la presencia de la cepa de estudio inhibe el crecimiento de los hongos.

Paralelamente se han realizado una serie de experimentos con el extracto metanólico obtenido a partir de cultivos de la cepa de estudio para comprobar la presencia de los compuestos que puedan ser responsables de la actividad antifúngica observada, de cara a, por un lado, llevar a cabo en el futuro su aislamiento y caracterización y por el otro tratar de deducir el mecanismo de acción causante de la inhibición observada.

La cepa *Streptomyces* RS231 es capaz de inhibir el crecimiento de prácticamente la totalidad de los hongos fitopatógenos a los que se ha enfrentado. De la misma manera, el extracto metanólico obtenido de dicha cepa presenta un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de levaduras y otros hongos que es dependiente de la dosis de extracto empleada.

Los resultados obtenidos demuestran que la cepa *Streptomyces* RS231 tiene un gran potencial como estrategia de control de enfermedades fúngicas aplicadas en el ámbito de la agrobiotecnología.

Referencias:

1. Alam et al., 2022, doi: 10.3389/fmicb.2022.968053
2. Demain et al., 2014, doi: 10.1007/s10295-013-1325-z

Financiación:

PID2022 – 140962OB – I00 (Ministerio de Ciencia e Innovación)

P36

DESARROLLO Y DEMOSTRACIÓN DE UN SISTEMA DE PRODUCCIÓN BIOLÓGICA DE ÁCIDO SUCCÍNICO BASADO EN LOS RESIDUOS DE LA INDUSTRIA LÁCTEA

Pagán-Muñoz, Aranzazu*; Fernández-Gutiérrez, David; Paredes-Ortiz, Ana Isabel; Ginestá-Anzola, Anahí; Lara Guillén, Andrés J.

Centro Tecnológico de la Energía y del Medio Ambiente, Cartagena, España

*aranzazu.pagan@cetenma.es

El lactosuero es un subproducto de la industria láctea generado en la producción de queso (de media 9 L/kg de queso). Debido a su alta carga orgánica y a su alto contenido en fósforo y nitrógeno no puede verterse al medio sin tratamiento. Esto supone un problema tanto ambiental como económico para los productores de queso y otros productos lácteos. Existen diversas formas de tratar el lactosuero para valorizarlo, entre las que se incluyen la producción de ingredientes alimentarios, la obtención de biogás, la producción de fertilizantes, la obtención de sales y la producción de bioproductos mediante fermentación. Entre estos bioproductos tenemos los denominados *building blocks*, donde se encuentra el ácido succínico (AS), el cual presenta importantes oportunidades de mercado.

El objetivo de este trabajo es el desarrollo, optimización y validación experimental de un modelo de biorrefinería para la producción de bio-AS a partir de lactosuero, mediante el uso de una cepa bacteriana capaz de convertir eficientemente la lactosa en bio-AS.

Varios estudios han analizado la producción de bio-AS utilizando *Actinobacillus succinogenes*, principalmente por su potencial de utilizar distintas fuentes de residuos debido a su capacidad para fermentar diferentes moléculas de azúcares, incluyendo lactosa. Recientemente se han empezado a desarrollar herramientas para producir nuevas cepas de *A. succinogenes* con un metabolismo mejorado a la producción de AS. Con estos antecedentes, la innovación tecnológica propuesta en este trabajo se fundamenta en la generación de distintas cepas mutantes a partir de una cepa silvestre de *A. succinogenes*; capaz de consumir lactosa y transformarla en AS, valorando así el desarrollo de un modelo de biorrefinería para la producción de bio-AS basada en la valorización del lactosuero.

Referencias/Financiación:

Escanciano, I.A.; et al. *Fermentation*, 2022. doi: 10.3390/fermentation8080368

Nghiem, N. P., et al. *Fermentation*, 2017. doi: 10.3390/fermentation3020026

Este trabajo se realiza dentro del proyecto BIOSUCC, al amparo de las ayudas del INFO destinadas a la realización de actividades de I+D de carácter no económico, cofinanciadas por FEDER (exp: 2023.08.CT01.000031).

P37

MICROBIAL VALORIZATION OF HYDROTHERMAL LIQUEFACTION WASTEWATER

Pasero, Beatriz^{1a*}; Mendieta-Fernández, Marcos^{1a}; Sainz, Carlos²; Bautista, Luis Fernando²; Vicente, Gemma³; Maestro, Beatriz¹; García, José Luis^{1b}; Sanz, Jesús Miguel^{1b}

¹Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España; ²Department of Chemical and Environmental Technology, Universidad Rey Juan Carlos, Móstoles, Spain; ³Department of Chemical, Energy and Mechanical Technology, Universidad Rey Juan Carlos, Móstoles, Spain

^{a,b} Equally contributing authors

*beatriz.pasero@cib.csic.es

Within the concept of chasing for renewable sources for the production of biofuel and other industrial, high value-added chemicals, the use of anthropogenic waste as feedstock represents a solution to the problem of sustainable production and reduces the environmental and economic impact of waste disposal. Hydrothermal liquefaction (HTL) is an emerging physico-chemical procedure which involves the conversion, at high temperatures and pressures, of waste material into a bio-oil phase which may be further processed to be used as biofuel. Several by-products are obtained in this process: a gas fraction, mainly CO₂, a solid fraction or biochar and an aqueous fraction, which is often too toxic to be released to the environment. The main objective of this work is to valorise the hydrothermal liquefaction wastewater (HTWW) generated as by-product of HTL carried out on different raw materials, such as *Arthrospira platensis* biomass, cellulose, lignin, oils and conventional plastics. Characterization studies were carried out on the different HTWWs, which were subjected to enzymatic treatments with oxidoreductases. The enzymes decreased the toxicity of HTWW, allowing the growth of microorganisms such as *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida* and *Yarrowia lypolitica* in media containing up to 55% HTWW, therefore setting up the basis for the conversion of wastewater into valuable products such as polyhydroxyalkanoates (PHA), lipids or other compounds of industrial interest.

Funding:

TED2021-129747B-C22/AEI/10.13039/501100011033/Unión EuropeaNextGenerationEU/PRTR

P38

EXPLORING THE ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF SELENIUM NANOPARTICLES SYNTHESIZED BY VARIOUS SUBCELLULAR FRACTIONS OF *STENOTROPHOMONAS BENTONITICA* BII-R7: A MULTI-DISCIPLINARY APPROACH

Pérez Muelas, Eduardo^{1*}; Lazúen López, Guillermo¹; Van Lithaut, Aurélien²; Ruiz Fresneda, Miguel Ángel¹ and Larbi Merroun, Mohamed¹

¹Department of Microbiology, University of Granada, Granada, Spain; ²École d'Ingénieurs, Department of Biochemistry, Haute École Louvain en Hainaut (HELHa), Mons, Belgium

*Edupermue@ugr.es

Antimicrobial resistance poses a significant global issue resulting in more than two million deaths annually. This underscores the immediate necessity for innovative approaches to alleviate bacterial-related diseases. One novel potential avenue for exploration is the utilization of metallic nanoparticles (NPs), which could present a solution to combating antibiotic resistance. Conventional techniques for synthesizing NPs using physical and chemical methods are expensive, involving elevated temperatures or harsh chemicals, and produce hazardous waste. In this context, our research group has identified the *Stenotrophomonas bentonitica* BII-R7 strain, which exhibits tolerance to high concentrations of Se(IV) and Se(VI) by reducing them to Se(0) and forming selenium nanoparticles (SeNPs) with potential antimicrobial properties¹. The aim of this study was to characterize the selenium nanoparticles (SeNPs) synthesized by various cellular extracts (including cytoplasm, total membrane, inner membrane, outer membrane, etc.) isolated from *S. bentonitica* BII-R7 using a wide range of interdisciplinary techniques to assess their potential antimicrobial properties as well as the underlying cytotoxic mechanisms. For this purpose, different cellular fractions were isolated and exposed to 2mM Se(IV) following the procedures detailed in Sandrini *et al.*, (2014)². High-Angle Annular Dark-Field Scanning Transmission Electron Microscopy (HAADF-STEM), Selected Area Electron Diffraction (SAED) and ICP-MS analyses indicated that cytoplasm and total membrane cellular fractions were capable of reducing up to 99.3% of the initially added Se(IV) to amorphous spherical Se(0) nanoparticles within 168 hours of incubation. Furthermore, flow cytometry studies performed on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* exposed to 1 μM of cytoplasmically synthesized SeNPs showed a detrimental effect on *Staphylococcus aureus* viability. In conclusion, our studies demonstrate the ability of cellular phases to independently produce SeNPs and their potential antimicrobial activity against clinically relevant pathogenic bacteria.

Referencias:

1. Ruiz-Fresneda et al. (2023) ACS applied materials & interfaces, 15(25).
2. Sandrini et al. (2014) Bio-protocol, 4(21)

P39

UTILIZACIÓN DEL HUESO COMO BIOADSORBENTE BACTERIANO

Pozo-Gualda, Tamara^{1*}; Guerrero Jiménez, José Manuel¹; Rodríguez Navarro, Alejandro B.²; Jiménez-López, Concepción¹

¹Departamento de Microbiología, Universidad de Granada, Granada, España; ²Departamento de Mineralogía y Petrología, Universidad de Granada, Granada, España

*tamapg25@ugr.es

La contaminación del agua es un problema común que suele provocar enfermedades gastrointestinales a corto plazo. Una estrategia eficaz para abordar este problema consiste en formular métodos que utilicen materiales ecológicos caracterizados por una elevada capacidad de retención bacteriana. El hueso de pollo, un subproducto de la industria alimentaria, consiste principalmente en una fase inorgánica (apatita nanocristalina de carbonato cálcico) que mineraliza una matriz orgánica (principalmente colágeno de tipo I)¹. Al aumentar la temperatura sometiendo a los huesos a tratamientos térmicos, las características minerales y orgánicas cambian debido a la deshidratación, la eliminación de componentes orgánicos y la recristalización del mineral. Esto da lugar a un material con mayor reactividad superficial y microporosidad. Por ello que se plantea el reciclado de residuos óseos para facilitar la adsorción bacteriana en muestras acuosas. Los resultados de nuestra investigación demuestran que los huesos calcinados a 400°C y puestos en contacto con un cultivo bacteriano presentan una capacidad de adsorción significativa, lo que aporta pruebas del concepto de tecnología ecológica y sostenible que implica el reciclaje de residuos óseos para la adsorción de muestras acuosas².

Financiación:

Apoyo financiero a esta investigación por el Ministerio de Economía y Competitividad (PID2019-109294RB-I00, EC2019-005930-P, PDC2021-121135. 100), Instituto de Salud Carlos III (PI20-01658), FEDER/Junta de Andalucía (P20_00346, P20_00208) y Consejería de Conocimiento, Investigación y Universidad, Junta de Andalucía, España (A-FQM492-UGR20, B-BIO432-UGR20, B-CTS216-UGR20). Gracias también a grant TED2021-31855BI00 fundado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033.

Referencias:

- [1] A. Peigneux et al., *Ecotoxicology and Environmental Safety* 192 (2020) 110307.
[2] N. Dominguez-Gasca et al., *Eur. J. Mineral* 31.2 (2019) 209-216.

P40

INTERACCIONES EN EL CONSORCIO MICROBIANO FORMADO POR EL HONGO *OPHIOSTOMA PICEAE* Y LA BACTERIA *PSEUDOMONAS PUTIDA*

Pozo-Rodríguez, Ana^{1*}; Wick, Lukas Y.²; Martínez, María Jesús¹; Barriuso, Jorge¹

¹Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España; ²Helmholtz Centre for Environmental Research (UFZ), Leipzig, Alemania

*ana.pozo@cib.csic.es

El estudio de consorcios hongo-bacteria ha despertado gran interés para su aplicación en la valorización de residuos agro-industriales. Recientemente se ha demostrado que en el consorcio formado por el ascomiceto *Talaromyces amestolkiae* y la bacteria *Lactiplantibacillus plantarum*, el hongo hidroliza los polisacáridos de la biomasa vegetal y la bacteria utiliza los monómeros liberados para sintetizar ácido láctico¹. En otras interacciones hongo-bacteria, se ha descrito como las bacterias pueden usar las hifas de los hongos como "autopistas fúngicas" para desplazarse hacia zonas del suelo con una alta concentración de contaminantes². Sin embargo, estas interacciones no ocurren siempre, por lo que resulta muy interesante estudiar los mecanismos que puedan favorecer dichos procesos.

En este trabajo se han utilizado el ascomiceto dimórfico *Ophiostoma piceae*, capaz de producir hidrolasas con interés biotecnológico, y la bacteria versátil *Pseudomonas putida* KT2440, que sintetiza polihidroxicanoatos³. Resultados preliminares muestran como *O. piceae* secreta una sustancia que hace que su micelio sea más hidrofílico, facilitando así su interacción con *P. putida*. Experimentos de microscopía en microcosmos sugieren que la interacción entre *O. piceae* y *P. putida* no se da por una autopista fúngica, ya que la bacteria se adhiere a las hifas, sino que se forma un biofilm que permite el transporte de la bacteria a medida que el hongo crece. Este estudio propone nuevos mecanismos de interacción en los consorcios microbianos y servirá para optimizar el establecimiento de los mismos.

Referencias:

1. de Eugenio et al. (2023). *J. Fungi*. 9(3), 342.
2. Kohlmeier et al. (2005). *Environ. Sci. Technol.* 39(12)
3. Ruiz et al. (2021). *Environ. Microbiol.* 23(5)

Financiación:

Proyecto PID2020-114210RB-I00 (MCIN/AEI). Contrato FPU19/04192.

P41

GLUCONACETOBACTER DIAZOTROPHICUS Y SU POTENCIAL DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO EN TOMATE

Restrepo Franco, Gloria María^{1*}; Sánchez Toro, Óscar Julián²; Ceballos Aguirre, Nelson²

¹Universidad Católica de Manizales, Manizales, Colombia; ²Universidad de Caldas, Manizales, Colombia

*grestrepo@ucm.edu.co

La búsqueda de alternativas para una agricultura sostenible motiva la investigación y desarrollo de productos a partir de microorganismos. El objetivo fue recuperar la bacteria *Gluconacetobacter diazotrophicus*, para identificar aislamientos potenciales en el desarrollo de biofertilizantes. Se realizó: aislamiento, identificación y selección de *G. diazotrophicus* a partir de caña; caracterización por producción de compuestos indólicos, actividad nitrogenasa y solubilización de fosfatos; conservación; producción de un preparado líquido de la bacteria y comprobación de la promoción de crecimiento en tomate. Se obtuvieron dos aislamientos de *G. diazotrophicus* provenientes de raíz (GIBI025) y tallo de caña (GIBI029), con diferencias estadísticas significativas en la actividad nitrogenasa y la solubilización de fosfato tricálcico en contraste con la cepa patrón (PAL5). Una vez obtenido el preparado mediante fermentación sumergida, se aplicó en semillero de tomate donde la mejor interacción dosis_aplicación de fósforo, fue de 2,5 mL/L, con peso seco de 0,123 g/plántula versus el control con fósforo (0,065 g/plántula). En invernadero la interacción de los factores evidenció valores superiores a los alcanzados individualmente: 106 t/ha con aislamiento nativo con y sin fertilización, con diferencias estadísticas significativas con el testigo (46,8 t/ha) con aplicación de fósforo. Se obtuvieron dos aislamientos nativos de *G. diazotrophicus*, con potencial para el desarrollo de un biofertilizante.

Financiación:

El presente trabajo ha sido financiado por Universidad Católica de Manizales; Universidad de Caldas; Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación de Colombia.

P42

APLICACIÓN DE LA BIOLOGÍA SINTÉTICA PARA LA DEGRADACIÓN DE TEREFTALATO DE POLIETILENO (PET)

Olivera, Elías R.^{1,2*}; Chamizo-Ampudia, Alejandro^{1,2}; Crugeiras, María¹; Revilla, José Antonio¹; Salazar Daniel¹; Garrido-Chamorro, Sonia^{1,2}; Vasco-Cárdenas, María F.¹; García-Alonso, Sonia¹; Barreiro, Carlos^{1,2}; Luengo, José M.^{1,2}

¹Dpto. Biología Molecular, Área de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de León, León, España; ²Instituto de Biología Molecular, Genómica y Proteómica (INBIOMIC), Universidad de León, León, España

*erodo@unileon.es

El tereftalato de polietileno (PET) se encuentra entre los plásticos de origen petroquímico más utilizados a nivel mundial, aunque su elevada producción y su rápida eliminación tras su uso han propiciado su acumulación masiva como residuos en el medioambiente. Debido a su resistencia intrínseca a la degradación, la gestión de los residuos de PET es muy problemática. Hasta ahora sólo se han identificado unas pocas bacterias y hongos que puedan degradar parcialmente el PET en oligómeros o monómeros. En ese sentido, el modelo bacteriano de utilización de PET, *Piscinibacter sakaiensis* (anteriormente *Ideonella sakaiensis*), puede despolimerizar el PET a sus componentes básicos (etilenglicol y tereftalato) usándolos como fuentes de carbono y energía. El sistema de mineralización utilizado por *P. sakaiensis* se inicia con la utilización de dos enzimas: una PET hidrolasa y una MHETasa. En este sentido, la expresión de sus genes en los chasis biotecnológicos adecuados podría posibilitar el tratamiento, la eliminación y/o la revalorización en un sistema de economía circular de estos residuos plásticos.

En este sentido, se han sintetizado versiones de los genes de *P. sakaiensis* con una utilización de codones optimizada para su expresión en *Pseudomonas putida* U, *Rhodococcus* sp. HE24-12 (un aislado medioambiental que presenta pluriextremotolerancias) y *R. jostii* RHA1. Las versiones adaptadas para cada uno de esos chasis han sido clonadas en plásmidos replicativos en cada uno de ellos y, actualmente, se está llevando a cabo el diseño de promotores constitutivos para la expresión de dichos genes y de péptidos de secreción eficientes en cada cepa. Los resultados obtenidos hasta la fecha en cuanto a la utilización de BHET, tereftalato y etilenglicol en cada una de las cepas bacterianas estudiadas ha demostrado diferencias metabólicas y características distintivas, lo que indica una aplicación industrial altamente efectiva en varios enfoques teóricos.

Financiación:

Ayuda TED2021-132593B-I00 del proyecto ABERPLAS (Biotechnological alternatives for the elimination of petrochemical plastic waste. Transition to a sustainable ecological system) financiado por MCIN/AEI/ 10.13039/501100011033 y por la "Unión Europea NextGenerationEU/PRTR".

P43

EFFECTO DE DISTINTAS ESPECIES DE *STREPTOMYCES* SOBRE LA DIFERENCIACIÓN Y PRODUCCIÓN DE DK-XANTENOS DE *MYXOCOCCUS XANTHUS*

Santamaría, Ramón I^{1*}; Martínez-Carrasco, Ana¹; Tormo, José R.²; Martín, Jesús²; Genilloud, Olga²; Reyes, Fernando²; Díaz, Margarita¹

¹Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG) / Departamento de Microbiología y Genética, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) / Universidad de Salamanca (USAL), Salamanca, España; ²Fundación MEDINA, Centro de Excelencia en Investigación de Medicamentos Innovadores en Andalucía Granada, España

*santa@usal.es

El cocultivo de microorganismos es una estrategia usada para estudiar las interacciones microbianas en el laboratorio. Este enfoque facilita la identificación de nuevas señales y moléculas producidas por una especie que afectan el comportamiento de otras especies.

En este trabajo hemos estudiado los efectos de la interacción de nueve especies de *Streptomyces* (*S. albidoflavus*, *S. ambofaciens*, *S. argillaceus*, *S. griseus*, *S. lividans*, *S. olivaceus*, *S. parvulus*, *S. peucetius*, y *S. rochei*) con la bacteria depredadora *Myxococcus xanthus*. Cinco de las cepas de *Streptomyces* ensayadas (*S. albidoflavus*, *S. griseus*, *S. lividans*, *S. olivaceus* y *S. argillaceus*) inducen la formación de agrupamientos de *M. xanthus* en medios complejos (Casitone, Extracto de levadura (CYE) y Casitone Tris (CTT), medios en los que *M. xanthus* no forma estos agregados en condiciones de cultivo normales.

Un estudio en profundidad sobre las interacciones entre *S. griseus* y *M. xanthus* (la cepa de *Streptomyces* que produce el efecto más fuerte) ha permitido identificar dos sideróforos producidos por *S. griseus*, demetilenocardamina y nocardamina, responsables de este efecto de agrupamiento sobre *M. xanthus*. Experimentos utilizando nocardamina comercial pura y diferentes concentraciones de FeSO₄ muestran que el agotamiento del hierro es responsable del comportamiento de *M. xanthus*. Además, se observó que moléculas, menores de 3 kDa, producidas por *S. peucetius* pueden inducir la producción de DK-xantenos por *M. xanthus*, pero su identificación no ha sido posible hasta la fecha¹.

Referencias/Financiación:

1. Santamaría et al., Int. J. Mol. Sci. 2023, 24, 15659.

Financiación: PID2022-140962OB-I00 (Ministerio de Ciencia y Universidades)

P44

SELECCIÓN DE CEPAS DEL GÉNERO *BACILLUS* COMO DEGRADORAS DE BIOPLÁSTICOS DE USO AGRÍCOLA

Vasco-Cárdenas, María F.^{1,2*}; García-Alonso, Sonia¹; Garrido-Chamorro, Sonia^{1,2}; Ibáñez, Ana³; Cendón-Álvarez, Marta¹; Carballo-Fernández, Diana¹; Chamizo-Ampudia, Alejandro^{1,2}; Olivera, Elías R.^{1,2}; Barreiro, Carlos^{1,2}

¹Área Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, León, España; ²Instituto de Biología Molecular, Genómica y Proteómica (INBIOMIC), Universidad de León, León, España; ³Instituto de Investigación de la Viña y el Vino, Escuela de Ingeniería Agraria, Universidad de León, León, España

*mvascc@unileon.es

El uso extendido del film de *mulch* en la técnica agrícola del mantillo presenta grandes ventajas para el control de las malas hierbas y los fitopatógenos, así como en la conservación de la humedad del suelo. Sin embargo, esto mismo conlleva un alto impacto ambiental debido a la dificultad y al coste de retirar y reciclar estos materiales al final de cada temporada de cultivo debido a la presencia de restos vegetales y de suelo. Lo que, en muchas ocasiones, hace que no se recojan adecuadamente generándose una preocupante concentración de microplásticos secundarios en el suelo cuando el *mulch* no es fácilmente degradado. Por tanto, la demanda de plásticos de *mulch* biodegradables está en aumento, ya que ofrecen los mismos beneficios al cultivo sin el impacto ambiental asociado a los plásticos convencionales. Por ello, la adopción en la práctica agrícola de bioplásticos altamente biodegradables, o incluso auto-biodegradables, representa una solución prometedora frente a los desafíos ambientales que suponen los plásticos convencionales, la cual se alinea con los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la ONU.

En este contexto, el proyecto BioPAC (Ref. TED2021-131864B-C21) se enfoca en evaluar la actividad amilolítica de diversas especies del género *Bacillus* sp. que puedan ser utilizados en la degradación de termoplásticos de almidón con propiedades similares a los films de *mulch* tradicionalmente utilizados. Esta investigación busca desarrollar una alternativa sostenible que combine la eficacia agrícola de los mulches plásticos con una mayor compatibilidad ambiental, abriendo camino hacia prácticas agrícolas más sostenibles que contribuyan a la mitigación del cambio climático y a una transición hacia la economía circular.

Financiación:

Este trabajo se ha desarrollado dentro del Proyecto BioPAC (*Development of bioactive and lifespan-controlled bioplastics*) (nº ref. TED2021-131864B-C21) financiado por MCIN (Ministerio de Ciencia e Innovación) / AEI (Agencia Estatal de Investigación) / 10.13039/501100011033 (*Digital Object Identifier*) por la Unión Europea NextGenerationEU / PRTR (Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia).

P45

OXIDASAS MULTICOBRE CON ACTIVIDAD LACASA-FERROXIDASA: CLASIFICACIÓN Y ESTUDIO DE LOS DETERMINANTES DE LA ACTIVIDAD FERROXIDASA EN UN MIEMBRO DE *HETEROBASIDIUM ANNOSUM* S. L.

Aza, Pablo^{1*}; Molpeceres, Gonzalo¹; Vind, Jesper²; Camarero, Susana¹

¹Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España; ²Novozymes A/S, Kongens Lyngby, Dinamarca

*pabloaza@cib.csic.es

Las oxidasas multicobre (MCO) comparten una arquitectura molecular común y el uso de iones de cobre como cofactores para reducir O₂ a H₂O, pero muestran una alta heterogeneidad de secuencias y diversidad funcional. Muchos genes de MCOs son incorrectamente anotados como lacasas, el grupo más grande de MCOs y con el rango más amplio de aplicaciones biotecnológicas. El reciente análisis filogenético de 52 genomas fúngicos, pertenecientes a la clase Agaricomycetes, nos ha permitido establecer una nueva clasificación de MCOs, que se agrupan en diferentes clusters y que comparten ciertos motivos conservados en su secuencia y estructura teórica¹. Uno de estos grupos son las Laccasa-Ferroxidasas (LAC-FOXs), con características duales entre lacasas y ferroxidasas. Nuestro objetivo es definir mejor este grupo y los determinantes estructurales subyacentes a su actividad híbrida. En este trabajo realizamos un análisis filogenético de las LAC-FOXs de hongos basidiomicetos, que resultó en dos subgrupos. Esta división pareció estar correlacionada con la presencia o ausencia de algunos de los tres residuos ácidos responsables de oxidación del hierro en las ferroxidasas canónicas (Fet3p de *Saccharomyces cerevisiae*). Una la LAC-FOXs del hongo *Heterobasidium annosum* s. l. (HaLF) (proveniente del subgrupo menos estudiado) fue sintetizada, expresada heterológamente y caracterizada para evaluar su actividad catalítica². HaLF oxidó sustratos típicos de lacasas (fenoles, aril aminas y N-heterociclos), pero no Fe (II). La enzima fue sometida a mutagénesis dirigida para determinar los residuos clave que confieren actividad ferroxidasa. La variante mutada de HaLF, con la presencia de los tres residuos ácidos, exhibió actividad ferroxidasa eficiente, al mismo tiempo que mantuvo parcialmente la actividad oxidativa asociada a las lacasas *sensu stricto*.

Referencia:

- [1] Ruiz-Dueñas et al. *Molecular Biology and Evolution*, 2021, 38 (4): 1428–1446,20
 [2] Aza et al. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2023, 21:1041-1053

Financiación:

- [1] GENOBIORREF (BIO2017-86559-R), MINECO/FEDER
 [2] LIG2PLAST (PID2021-126384OB-I00 financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033/ y por FEDER/UE)
 [3] PTI-SusPlast+

P46

CARACTERIZACIÓN DE UNA NUEVA DESACETILASA DE QUITINA PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMOLÉCULAS DESACETILADAS

Barahona, Laura^{*}; Martínez-Ranz, María; Kidibule, Peter Elias; Fernández-Lobato, María

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM), Departamento Biología Molecular, UAM, Madrid, España

*laura.barahona@uam.es

La quitina es un polisacárido lineal compuesto por unidades de N-acetil-D-glucosamina (NAG), unidas mediante enlaces glicosídicos β-(1-4). Es el polímero más abundante después de la celulosa y se encuentra principalmente en los exoesqueletos de crustáceos y en las paredes celulares de hongos. El derivado desacetilado de la quitina se denomina quitosano y se caracteriza por un grado de desacetilación (DD) superior al 50%, biocompatibilidad y mayor solubilidad que la quitina, lo que permite su aplicación en biomedicina, agricultura y en la industria alimentaria. Los quitooligosacáridos (COS) son los productos de hidrólisis de la quitina y el quitosano y han reportado actividades antiinflamatorias, antioxidantes, prebióticas y antimicrobianas¹. Las propiedades bioactivas del quitosano y de los COS están determinadas por su grado de polimerización (DP), peso molecular, DD y patrón de acetilación (AP)².

En este trabajo, se ha llevado a cabo el clonaje y expresión heteróloga en *Pichia pastoris* de un gen que codifica una potencial desacetilasa de quitina (ChD). Como resultado, se ha obtenido una proteína de 33 kDa (ChDA) con actividad desacetilasa. Utilizando tri-N-acetyl-chitotriose (NAG3) como sustrato, la enzima presentó una actividad máxima a 40-50 °C, y pH 6,5-7,5. Debido a que las ChDs son metaloenzimas, se probó la actividad de ChDA en presencia de diferentes metales, siendo el cobalto el que más aumentaba su actividad. Mediante la cuantificación del ácido acético liberado, la enzima mostró actividad con COS DP ≥ 2, quitina coloidal y xilano acetilado, mientras que no se detectó actividad con peptidoglicano y ácido hialurónico. La enzima presentó su máxima actividad (0,17 μmol de ácido acético liberado) con hexa-N-acetyl-chitohexaose (2 mM) tras una hora de reacción. El estudio y caracterización de nuevas ChDs permitirá conocer mejor el modo de acción de estas enzimas y su utilización para la producción de derivados quitinolíticos con aplicaciones biotecnológicas.

Referencias:

1. Míguez, N et al. *Appl. Sci.* 2021, 11 (7), 3212. <https://doi.org/10.3390/app11073212>
 2. Bonin, M et al. *PLoS Biol.* 2024, 22 (1). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3002459>

Financiación:

El Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (Proyectos PID2019-105838RB-C31/32 y PID2022-136367OB-C31/C32) y la Agencia Estatal de Investigación (Proyectos PDC2022-133134-C21/22 y TED2021-129288B-C21/C22) han financiado este trabajo. También agradecemos a la Fundación Ramon Areces (XIX Convocatoria de Ayudas a la Investigación en Ciencias de la Vida y Materiales) por su ayuda institucional.

P47

ESTUDIO DE LA FORMACIÓN DE BIOFILMS MIXTOS CON MICROORGANISMOS DE INTERÉS INDUSTRIAL

Baquedano, Ignacio; Prieto, Alicia; Barriuso, Jorge*

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España

*jbarriuso@cib.csic.es

Los biofilms consisten en estructuras adheridas a una superficie viva o inerte, integradas por microorganismos que normalmente producen una matriz extracelular polimérica y que pueden comunicarse entre ellos. La formación del biofilm es un proceso que suscita mucho interés debido, sobre todo, a la resistencia que confiere a las células que lo integran frente a diversos estreses (temperatura, pH, antibióticos). Sin embargo, la formación de biofilms entre distintos microorganismos (biofilm mixtos) con potencial biotecnológico no ha sido tan estudiada.

En este trabajo se ha probado la capacidad de formación de biofilms en medio rico y presencia de oxígeno de distintas especies de hongos y bacterias con interés biotecnológico. Se han cuantificado los biofilms formados por estos microorganismos sobre superficies plásticas, tanto de manera individual como en consorcios, usando el método de tinción con cristal violeta y apoyándose en imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido (SEM). Los microorganismos utilizados han sido previamente descritos como degradadores de biomasa lignocelulósica (*Ophiostoma piceae*, *Talaromyces amestolkiae*) o como productores de compuestos con interés industrial (*Yarrowia lipolytica*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pseudomonas putida* o *Escherichia coli*). Igualmente se ha testado un microorganismo electrogénico, con capacidad de donar electrones a un electrodo (*Shewanella oneidensis*).

En algunos consorcios, especialmente en los formados por hongo filamentoso y bacteria, se ha observado que las interacciones entre ambos microorganismos potencian la formación de biofilm. Estos biofilms mixtos presentan un gran potencial en fermentaciones diseñadas para realizar en un solo paso distintos procesos, como biorremediación y/o de moléculas con interés biotecnológico, contribuyendo a fomentar la economía circular.

Financiación:

La financiación para la realización de este proyecto proviene del Consejo Europeo de Innovación (EIC) (HORIZON-EIC-2022-PATHFINDERCHALLENGES-01) bajo el acuerdo de financiación ID 101114746.

P48

EFFECTS OF INSOLUBLE SOLIDS AND LIGNOCELLULOSE-DERIVED INHIBITORS ON *KLUYVEROMYCES MARXIANUS* CECT 10875 ON FERMENTATION PERFORMANCE

Blanco, Manuel F.*; González, Alberto; Iglesias, Raquel; Oliva, José M.; Moreno, A. David

Advanced Biofuels and Bioproducts Unit, Department of Energy, CIEMAT, Madrid, Spain

*mf.blanco@ciemat.es

Kluyveromyces marxianus is a non-conventional yeast with promising applications in lignocellulosic-based bio-refineries for the production of biofuels and added-value products. This microorganism can grow and ferment at temperatures between 40–45 °C, being capable of assimilating a wide range of carbon sources. In contrast, fermentation of lignocellulosic-derived media is very challenging and the increase of *K. marxianus*' cell robustness to both soluble and insoluble inhibitors is required to make this yeast a potential candidate for the biotechnology industry. In this work, the tolerance of *K. marxianus* CECT 10875 against a synthetic mix of lignocellulosic-derived inhibitors (0–100% v/v), insoluble solids (0–60% w/w) and different temperatures (30 °C, 36 °C, and 42 °C) was studied. A Box-Behnken experimental design was employed to determine the influence of these stressors on yeast cells. The presence of 60% w/w of insoluble solids and 100% v/v of the inhibitors mix severely affects fermentation performance. 80% of the initial glucose concentration remained in the medium after 48 hours, while ethanol and cell concentration decreased from 20.3 to 3.0 g/L and 4.9 to 0.5 g/L, respectively, in comparison with the absence of inhibitors condition. At the same inhibitory concentration, the increase in temperature from 30 °C to 42 °C reduced biomass concentration by 20%. Glucose consumption and ethanol final concentration are not altered when temperature increases, indicating the thermotolerance potential of this mutant. The combination of both stressors additionally increases intracellular stress, with a 6-fold increment in ROS level when 50% v/v of inhibitors mix and 30% w/w of insoluble solids are present concerning the control condition. These results confirm the synergic effect of insoluble solids and lignocellulosic-derived inhibitors and set the basis to further study the cell response at the molecular level and elucidate the mechanisms involved in cell tolerance, which can be then targeted in the future to genetically engineer *K. marxianus*.

Funding:

This work has been partially funded by the European Union (NextGenerationEU) through the Project "Novel Hybrid Renewable Technologies" included in the Spanish Program "Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia".

P49

NUEVAS HIDROXIMETILFURFURAL OXIDASAS PARA AMPLIAR EL CATÁLOGO DE BIOCATALIZADORES EN LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO FURANDICARBOXÍLICO

Carro, Juan^{1*}; Ocampos, Isabel¹; Floor, Martin²; González-Fornell, José Manuel¹; Rincón-Sanz, Rodrigo A.¹; Muñoz, Rubén²; Martínez, Mireia²; Guallar, Victor²; Martínez, Ángel T.¹; Ruiz-Dueñas, Francisco Javier¹

¹Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España; ²Barcelona Supercomputing Center-Centro Nacional de Supercomputación, Barcelona, España

*jcarro@cib.csic.es

El ácido 2,5-furandicarboxílico (FDCA) constituye un precursor interesante para la industria de plásticos biobasados como sustituto del ácido tereftálico de origen fósil gracias a su capacidad para generar polímeros al condensarse con polioles. El FDCA se produce principalmente mediante tres pasos de oxidación a partir del 5-hidroximetilfurfural (HMF), un compuesto renovable que proviene de las hexosas de la biomasa vegetal. Generalmente, en la industria, la conversión de HMF en FDCA se produce mediante procedimientos termoquímicos que requieren altas temperaturas y catalizadores nocivos. Sin embargo, existe una familia de enzimas, llamadas hidroximetilfurfural oxidasas (HMFO), que catalizan las reacciones oxidativas de transformación del HMF en FDCA en condiciones suaves. Estos biocatalizadores aún no han sido implementados debido a que presentan varias limitaciones. Por un lado, su baja actividad sobre el último intermediario de la reacción, el ácido 5-formilfurancarboxílico (FFCA), ralentiza la conversión global del proceso. Por otro, apenas existen unas pocas HMFO disponibles, ya que hasta la fecha solo se han descrito cuatro enzimas salvajes y algunas variantes modificadas. Estos problemas se están tratando de solucionar mediante el descubrimiento y análisis de nuevas enzimas de tipo HMFO bacterianas con las que superar la limitación impuesta por la oxidación del FFCA a FDCA. Para ello, se han empleado distintas técnicas de bioprospección computacional que han permitido identificar una gran variedad de enzimas. Tras expresión heteróloga y caracterización de sus propiedades catalíticas se han obtenido HMFOs con actividad mejorada sobre el FFCA, alcanzándose un aumento de más de diez veces en la producción de FDCA a partir de FFCA comparado con las HMFO salvajes disponibles. Así, no solo se ha ampliado considerablemente el repertorio de enzimas de tipo HMFO, sino que también se ha mejorado el proceso enzimático en términos de productividad y rendimiento. Además, las nuevas enzimas constituyen puntos de partida de interés para la mejora posterior de sus propiedades operacionales mediante el empleo de técnicas de ingeniería de proteínas.

Financiación:

Proyecto PLEC2021-007690 financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033 y por la Unión Europea NextGenerationEU/PRTR; y Plataforma Temática Interdisciplinar Susplast, CSIC

P50

BIOPRODUCCIÓN DE SBR PARA LA INDUSTRIA DEL CALZADO

Castrillo-Puente, Roberto^{1,2*}; Martins, Carlos M¹; Reynés, Yvonne M¹; Berberana-Puy, Pablo¹

¹Universidad Europea de Madrid, Villaviciosa de Odón, España, ²Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España

*roberto.castrillo@cib.csic.es

En la búsqueda de alternativas sostenibles para la producción industrial, el caucho de estireno-butadieno (SBR) biobasado emerge como una opción prometedora. Este estudio explora la viabilidad de producir SBR utilizando ácido succínico derivado de biomasa lignocelulósica, específicamente de residuos de la industria de zumos de frutas, mediante el co-cultivo con *Actinobacillus succinogenes* y *Saccharomyces cerevisiae*, optimizados mediante ingeniería genética. La metodología propuesta incluye un pretratamiento de la biomasa lignocelulósica en el proceso de upstream para liberar azúcares fermentables, utilizando métodos como la hidrólisis ácida o enzimática; la fermentación de estos residuos para obtener succinato, que luego se convierte en butadieno y se polimeriza con estireno obtenido del bioetanol producido como subproducto. La fermentación mediante co-cultivo microbiano y sacarificación simultáneos (SSCF) se realiza en biorreactores anaeróbicos, controlando las condiciones para maximizar la producción de ácido succínico, que posteriormente se somete a varias etapas de purificación, incluyendo la filtración para remover biomasa, la precipitación para separar el succinato, y la cristalización para obtener succinato puro. Posteriormente, el succinato se convierte en butadieno a través de un proceso químico que implica deshidrogenación y catálisis, y se lleva a cabo la polimerización con estireno para formar el SBR en presencia de un iniciador de radicales libres, que induce la apertura de los dobles enlaces en los monómeros y permite su unión para formar cadenas poliméricas largas. La proporción de estireno y butadieno puede variar para ajustar las propiedades del material final, como su elasticidad y resistencia al desgaste. Finalmente, se procesa y moldea según las especificaciones requeridas, en este caso suelas de zapatos. El proceso biotecnológico descrito es innovador por el uso de residuos orgánicos y promete ser una solución eco-amigable con un menor impacto ambiental, aprovechando la economía circular y la valorización de residuos orgánicos para la producción sostenible de materiales industriales.

P51

PRODUCCIÓN DE POLI(3-HIDROXIBUTIRATO-4-HIDROXIBUTIRATO) MEDIANTE INGENIERÍA METABÓLICA EN *AZOHYDROMONAS LATA* DSM 1123

Chacón Guisado, Paula*; Sanz García, Eugenio; Ibero Caballero, Juan; Prieto, María Auxiliadora; García, José Luis; Galán, Beatriz

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España

*paula.chacon@cib.csic.es

Los polihidroxicanoatos (PHA) son polímeros sintetizados por un gran número de microorganismos en condiciones de desequilibrio nutricional. Dependiendo de su composición monomérica existen muchos tipos de PHAs que dan lugar a una gran variedad de materiales con propiedades diversas. Uno de los PHAs mejor estudiados es el poli-β-hidroxi-butilato (PHB), formado por monómeros de cadena corta de 3-hidroxi-butilato. Este material es, sin embargo, difícil de utilizar y procesar debido a sus propiedades térmicas y mecánicas. La incorporación de otros monómeros como el 4-hidroxi-butilato (4HB) al polímero, da lugar a la producción de copolímeros comercialmente más atractivos. Así, el poli(3-hidroxi-butilato-4-hidroxi-butilato) [P(3HB-4HB)] presenta propiedades interesantes debido a su elevada flexibilidad y menor cristalinidad¹. En el presente trabajo se utiliza la cepa productora de PHA *Azohydromonas lata* (anteriormente *Alcaligenes latus*), autótrofa facultativa, capaz de utilizar sacarosa como fuente de carbono y en la que se ha reportado la mayor productividad de acumulación de PHB hasta la fecha. Además, esta producción está asociada al crecimiento y no requiere limitación de nutrientes². El primer objetivo fue la obtención de P(3HB-4HB) en la cepa silvestre realizando cultivos en presencia de fuentes de carbono relacionadas como el 4-hidroxi-butilato sódico. Posteriormente, se empleó ingeniería genética en *A. lata* para optimizar la producción de P(3HB-4HB) a partir de azúcares. El uso de la herramienta Golden Standard MoClo³ permitió establecer una ruta metabólica que incluye los genes implicados en la degradación de succinato en *Clostridium kluyveri*. Se analizó la fracción molar de 4HB y 3HB obtenida con las cepas recombinantes desarrolladas. Nuestros resultados muestran que *A. lata* es un excelente candidato para abordar la producción eficiente de P(3HB-4HB). Asimismo, el éxito en la manipulación genética de *A. lata* facilita el camino para utilizarla como organismo modelo con el objetivo de lograr una producción eficiente de diferentes tipos de PHA en el futuro.

Referencias

1. Saito, Y., Nakamura, S., Hiramitsu, M., and Doi, Y. (1996). *Polym Int*, 39(3), 169-174.
2. Wang, F., and Lee, S. Y. (1997). *Appl environ microbiol*, 63(9), 3703-3706.
3. Blázquez B, et al. (2023) *Nucleic Acids Res*. 51(19):e98. doi: 10.1093/nar/gkad758.

Financiación:

Proyecto SynEco (TED2021-130689B-C32) financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y la Unión Europea NextGenerationEU/PRTR

P52

EVALUACIÓN DE DIFERENTES FACTORES NUTRICIONALES QUE AFECTAN LA PRODUCCIÓN DE RIBOFLAVINA POR LA LEVADURA *HYPHOPICHIA WANGNAMKHIAOENSIS*

Jiménez-Nava, Raziel Arturo^{1,2*}; Chávez-Camarillo, Griselda M^a.²; Cristiani-Urbina, Eliseo¹

¹Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Departamento de Ingeniería Bioquímica, Ciudad de México, México; ²Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Departamento de Microbiología, Ciudad de México, México

*rjimenezn@ipn.mx

Hyphopichia wangnamkhiaoensis es una levadura dimórfica, oleaginosa y amilolítica. Recientemente se reportó que esta levadura excreta un compuesto fluorescente cuando se cultiva en un biorreactor neumático, el cual se identificó como riboflavina (vitamina B₂). Sin embargo, hasta la fecha no hay reportes de la caracterización de la producción de esta vitamina empleando a *H. wangnamkhiaoensis*, por lo que en el presente trabajo se llevó a cabo el estudio cinético del efecto de diferentes factores nutricionales sobre el crecimiento y la biosíntesis de riboflavina por *H. wangnamkhiaoensis*. Con este propósito, se evaluó el efecto de diferentes fuentes de carbono, fuentes de nitrógeno, aminoácidos y vitaminas. Los experimentos cinéticos se llevaron a cabo mediante cultivos por lote en un reactor neumático tipo columna de burbujas, a 28 ± 1 °C durante 48 h. Se cuantificó el crecimiento celular, consumo de la fuente de carbono y la producción de riboflavina cada 3 h. Los resultados mostraron que la producción de riboflavina se favoreció cuando se utilizó glucosa (10 g/L), sulfato de amonio (4.30 g/L), glicina (15 mM) y biotina (0.02 mg/L). Con estos compuestos químicos se formuló y optimizó un medio de cultivo para la producción de riboflavina por *H. wangnamkhiaoensis*, en el que la máxima producción de la vitamina se alcanzó a las 21-24 h de incubación, el cual es un tiempo de cultivo significativamente menor al reportado para la producción de riboflavina por otros microorganismos.

Referencias:

- Chávez-Camarillo GM, Lopez-Nuñez PV, Jiménez-Nava RA, Aranda-García E, Cristiani-Urbina E (2022). Production of extracellular α-amylase by single-stage steady-state continuous cultures of *Candida wangnamkhiaoensis* in an airlift bioreactor. *PLoS ONE* 17(3): e0264734. DOI: 10.1371/journal.pone.0264734
- Jiménez-Nava RA, Zepeda-Vallejo LG, Santoyo-Tepole F, Chávez-Camarillo GM, Cristiani-Urbina E. (2023). RP-HPLC separation and ¹H NMR identification of a yellow fluorescent compound—riboflavin (vitamin B₂)—produced by the yeast *Hyphopichia wangnamkhiaoensis*. *Biomolecules* 13(9):1423. DOI: 10.3390/biom13091423

P53

PEROXIGENASAS FÚNGICAS EN LA PRODUCCIÓN DE EPÓXIDOS A PARTIR DE ACEITE VEGETAL: CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL, INGENIERÍA DE PROTEÍNAS Y OPTIMIZACIÓN DE PROCESOS

Linde, Dolores^{1*}; González-Benjumea, Alejandro²; Santillana, Elena¹; Ruiz-Dueñas, Francisco Javier¹; Romero, Antonio¹; Gutiérrez, Ana²; Martínez, Ángel T.¹

¹Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España; ²Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, CSIC, Sevilla, España

*lolalinde@cib.csic.es

Los aceites vegetales son una excelente fuente de materias primas renovables para la producción de compuestos químicos biobasados. Si además se emplean enzimas en lugar de catálisis química, el proceso de producción se vuelve más ecológico y, en el caso de la producción de epóxidos a través de reacciones de oxigenación, más selectivo. Las peroxigenasas inespecíficas (UPO) son oxidoreductasas fúngicas capaces de producir epóxidos de ácidos grasos insaturados. Las UPOs presentan la ventaja de ser enzimas secretadas (y por lo tanto más estables y fáciles de producir) que se activan con H₂O₂, frente a los citocromos P-450 presentes en el interior de todas las células vivas, que requieren una fuente de poder reductor para ser activadas por O₂. Aunque hay miles de secuencias codificantes de potenciales UPOs depositadas en bases de datos, solo unas decenas han sido estudiadas tras su expresión en el hongo productor o tras expresión heteróloga en otros microorganismos. Recientemente se ha expresado la UPO del ascomiceto *Collariella virescens* (syn. *Chaetomium virescens*) en *Escherichia coli* (rCviUPO)¹, lo que ha permitido abordar su mejora mediante el empleo de técnicas de ingeniería de proteínas, así como la optimización y escalado de las condiciones de reacción para la producción de epóxidos a partir de hidrolizado de aceite de girasol. Adicionalmente, se han realizado estudios estructura-función de rCviUPO y rMroUPO^{2,3} (la última proveniente del basidiomiceto *Marasmius rotula*), ambas obtenidas heterológicamente en *E. coli*. Las estructuras cristalográficas mostraron que las dos proteínas son dimericas y, mediante mutagénesis, se ha determinado que presentan patrones de dimerización diferentes.

Referencias:

- 1) Linde, D.; Olmedo, A.; González-Benjumea, A.; Renau, C.; Estévez, M.; Carro, J.; Fernández-Fueyo, E.; Gutiérrez, A.; Martínez, A.T. (2020) *Appl. Environ. Microbiol.* 86, e02899-19. doi: 10.1128/AEM.02899-19.
- 2) Carro, J.; González-Benjumea, A.; Fernández-Fueyo, E.; Aranda, C.; Guallar, V.; Gutiérrez, A.; Martínez, A.T. (2019) *ACS Catal.* 9, 6234-42. doi: 10.1021/acscatal.9b01454.
- 3) Municoy, M.; González-Benjumea, A.; Carro, J.; Aranda, C.; Linde, D.; Renau-Mínguez, C.; Ullrich, R.; Hofrichter, M.; Guallar, V.; Gutiérrez, A.; Martínez, A.T. (2020) *ACS Catal.* 10, 13584-95. doi: 10.1021/acscatal.0c03165.

Financiación:

- Proyecto SusBind: H2020-BBI-JU-2017-792063, financiado por "Bio-Based Industries Joint Undertaking" en el marco de Horizonte 2020 de la Unión Europea.
- Proyecto Oxylipids: TED2021-129264B-C31 financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033/ y por la Unión Europea NextGenerationEU/PRTR

P54

CARACTERIZACIÓN DE UNA NUEVA QUITINASA FÚNGICA Y SU APLICACIÓN EN LA VALORIZACIÓN DE DESECHOS MARINOS

Martínez-Ranz, María*; Kidibule, Peter; Barahona, Laura; Fernández-Lobato, María

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM), Departamento de Biología Molecular, UAM, Madrid, España

*mmranz@cbm.csic.es

La quitina es el polímero renovable más extendido en el ambiente acuático (el segundo en el ecosistema terrestre después de la celulosa), formando parte de paredes celulares fúngicas y exoesqueletos de invertebrados. Estructuralmente está organizada como microfibrillas cristalinas, compuestas por unidades de *N*-acetil-D-glucosamina unidas por enlaces β-1-4. La insolubilidad de este polímero limita su utilización comercial.

La valorización eficiente de la quitina a polímeros parcialmente desacetilados (quitosano) o a sus productos solubles de hidrólisis, los quitooligosacáridos (COS), puede realizarse utilizando enzimas activas sobre quitina, abordando así el complejo desafío de rentabilizar de forma sostenible los residuos quitinolíticos. La quitina y sus derivados carecen de toxicidad, y tienen un gran número de potenciales propiedades biológicas, entre otras muestran actividad anticancerígena, antioxidante o antibacteriana¹.

En este trabajo, una nueva quitinasa del hongo filamentoso *Absidia* sp. fue heterológicamente expresada. Esta proteína, de aproximadamente 65 kDa, fue analizada estructuralmente, y consta de un módulo de unión a carbohidratos y el dominio catalítico que caracteriza a la familia 18 de las glicosil hidrolasas (GH). La enzima mostró una actividad máxima en el intervalo de 47-57 °C y 4.7-5.7 unidades de pH, aumentando su actividad en casi dos veces al utilizar MnCl₂ en la reacción. La enzima produjo fundamentalmente quitobiosa a partir de materiales quitinolíticos. Además, hidrolizó COS con un grado de polimerización de 3-6. La caracterización y validación de nuevas enzimas que sean eficientes en el tratamiento de biomasa quitinolítica favorecería el procesamiento de estos polímeros recalcitrantes utilizando estrategias mucho más respetuosas con el medio ambiente que las ya tradicionales estrategias químicas.

Referencia:

[1] Hou, F., et al. *Food Chemistry*, 2023. doi: 10.1016/j.foodchem.2022.135336

Financiación:

Agradecemos al Ministerio de Ciencia e Innovación por la financiación recibida en los proyectos PID2019-105838RB-C32, TED2021-129288B-C22, PID2022-136367OB-C32, y a la Comunidad de Madrid por el Contrato del Programa Investigato (CAM-UAM) otorgado a María Martínez-Ranz.

P55

DESPOLIMERIZACIÓN DE POLISACÁRIDOS DE ALGAS USANDO ENZIMAS FÚNGICAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES DE 3ª GENERACIÓN

Acosta, Valentina; Méndez-Líter, Juan*; Barriuso, Jorge; Prieto, Alicia

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España

*jmendez@cib.csic.es

Las algas son un grupo heterogéneo de organismos fotosintéticos acuáticos que incluye formas multicelulares (macroalgas) y organismos unicelulares (microalgas). Las primeras se caracterizan por contener polisacáridos poco comunes; por ejemplo, las algas pardas contienen polisacáridos como laminarina, alginato o fucoídano, las algas rojas agar o carragenina, mientras que el ulvano es el principal polisacárido en la pared celular de las algas verdes¹. Las algas son populares en la industria debido a su capacidad para fijar CO₂, pero el aprovechamiento de su fracción polisacáridica presenta dificultades debido a su composición compleja y heterogénea. Como consecuencia, muchas compañías acumulan residuos de algas que podrían ser utilizados para colaborar con la economía circular².

Por su parte, los hongos saprófitos de la madera poseen una gran variedad de enzimas capaces de hidrolizar la biomasa lignocelulósica, pero su uso para la degradación de biomasa de algas hasta ahora está casi inexplorado.

En este estudio, se ha realizado un screening de hongos de interés biotecnológico para producir crudos enzimáticos capaces de degradar los polisacáridos presentes en macroalgas. Los hongos se crecieron en un medio mínimo con distintos inductores. Se realizó un seguimiento del cultivo valorando sus actividades enzimáticas en las diferentes condiciones. Tras incubarlos durante 10 días, los crudos enzimáticos se concentraron y se realizaron ensayos de degradación frente a diferentes polisacáridos de algas, valorándose el aumento de azúcares reductores en la reacción. Además, se detectaron los monosacáridos producidos usando cromatografía en capa fina.

Como resultados del trabajo, se ha comprobado que algunos de los hongos evaluados producen enzimas capaces de degradar los polisacáridos de algas utilizados como sustratos, y que podrían ser utilizadas en procesos biotecnológicos de valorización de biomasa.

Referencias:

1. Jin Li, Zhixiao He, Yumei Liang, Tao Peng, and Zhong Hu. Insights into Algal Polysaccharides: A Review of Their Structure, Depolymerases, and Metabolic Pathways. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2022 70 (6), 1749-1765
2. Drescher A, Kienberger M. A Systematic Review on Waste as Sustainable Feedstock for Bioactive Molecules—Extraction as Isolation Technology. *Processes*. 2022; 10(8):1668.

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto MICODE (MCIN/AEI, PID2020-114210RB-I00)

P56

ESCALADO, PRODUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE XILOOLIGOSACÁRIDOS ÁCIDOS MEDIANTE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

Míguez, Noa^{1,2*}; Fernández-Polo, David¹; Santos-Moriano, Paloma^{1,3}; Rodríguez-Colinas, Bárbara^{1,4}; Poveda, Ana⁵; Jiménez-Barbero, Jesús⁵; Ballesteros, Antonio O.¹; Plou, Francisco J.¹

¹Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, CSIC, Madrid, España; ²Universidad Autónoma de Madrid, España; ³Universidad Europea de Madrid, España; ⁴Universidad Francisco de Victoria, Madrid, España; ⁵CIC bioGUNE, Derio, Vizcaya, España

*noa.miguez@uam.es

El xilano, un heteropolisacárido compuesto por subunidades de xilosa, puede estar extensamente ramificado con varios monosacáridos y grupos laterales, como arabinosa, acetilo, ácido metil-glucurónico, ácido glucurónico y ácido ferúlico, dependiendo de su origen. La hidrólisis enzimática es el método preferido para descomponer el xilano debido a su rentabilidad y respeto al medio ambiente, aunque requiere la acción coordinada de múltiples hidrolasas, incluidas las endoxilasas y β -xilosidasas. Los xilooligosacáridos (XOS), oligosacáridos solubles compuestos por 2-10 unidades de xilosa, presentan una variedad de propiedades beneficiosas, incluidas las propiedades antioxidantes, antitumorales, antialérgicas, antiinflamatorias, antimicrobianas y prebióticas¹. Los XOS ácidos, conocidos como aldourónicos, contienen residuos de ácido urónico y se producen mediante hidrólisis del glucurono-xilano. Diversos estudios han demostrado que los XOS ácidos poseen bioactividades más fuertes en comparación con los XOS neutros, siendo las ramificaciones de ácido urónico cruciales para su bioactividad².

En este estudio, se desarrolló un proceso para la producción, escalado y caracterización de XOS ácidos, mediante la hidrólisis del xilano de madera de haya con el cóctel enzimático Depol 670L. Se emplearon cartuchos de cromatografía de intercambio aniónico para separar los XOS obtenidos en dos fracciones (ácidos y neutros), las cuales fueron seguidamente caracterizadas mediante HPAEC-PAD y espectrometría de masas (MALDI-TOF). Siguiendo esta metodología se consiguió producir una fracción ácida significativamente enriquecida en un solo compuesto, identificado como el trisacárido MeGlcA α -1, 2-Xyl β -1, 4-Xyl, mediante MALDI-TOF y RMN. Además, se evaluó su actividad antioxidante mediante el método de decoloración del radical ABTS⁺, mostrando mayor actividad que el xilano y los XOS neutros³.

Referencias:

1. A.A. Achary, S.G. Prapulla, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2010, doi: 10.1111/j.1541-4337.2010.00135.x
2. C. Valls, *et al.*, *Carbohydr. Polym.* 2018, doi: 10.1016/j.carbpol.2018.04.028
3. N. Miguez, *et al.*, *Biomass Conv. Bioref.* 2022, doi: 10.1007/s13399-022-03240-3.

Financiación:

Este trabajo fue financiado por los proyectos PID2019-105838RB-C31 "GLYCOENZ-PHARMA" del MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y PID2022-136367OB-C31 "GLYCOENZ-GREEN" del MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y FEDER, a Way of Making Europe. Noa Miguez está financiada por una beca postdoctoral Margarita Salas (CA1/RSUE/2021-00513) proporcionada por el Ministerio de Universidades de España y la Universidad Autónoma de Madrid (España).

P57

PAPEL DE LAS ENZIMAS PPX EN LA SÍNTESIS DE POLIFOSFATO EN *LACTICASEIBACILLUS PARACASEI*

Corrales, Daniela; Alcántara, Cristina; Zúñiga, Manuel; Monedero, Vicente*

Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), Paterna, Valencia, Spain

*btcmon@iata.csic.es

En bacterias del ácido láctico la producción del polímero lineal de fosfato polifosfato (poli-P), juega un papel importante a nivel probiótico, participando en el mantenimiento de la homeostasis intestinal. La enzima polifosfato quinasa (Ppk) es la responsable de la síntesis de poli-P, mientras que su degradación es llevada a cabo por la enzima exopolifosfatasa (Ppx). En la familia *Lactobacillaceae*, el gen que codifica Ppk está agrupado con dos genes que codifican exopolifosfatasa con diferente composición de dominios, con el orden génico *ppx1-ppk-ppx2*. *Lactobacillus paracasei* BL23 sintetiza y acumula poli-P en forma de gránulos intracelulares de manera transitoria, coincidiendo con la entrada en la fase estacionaria. Sorprendentemente, y al igual que una mutación en *ppk*, la eliminación del gen *ppx1* dio como resultado la incapacidad de acumular poli-P; mientras que la mutación de *ppx2* no tuvo ningún efecto en la síntesis. La expresión de *ppk* no varió en el mutante *ppx1* y la restauración de la síntesis de poli-P en esta cepa se obtuvo después de la expresión de *ppx1* en *trans*, excluyendo así efectos polares en la expresión de *ppk* como la causa de la ausencia de poli-P. Ppx1 carece de aminoácidos clave para la catálisis descritos en enzimas Ppx de otros microorganismos y, al contrario que Ppx2, el enzima purificado no mostró actividad exopolifosfatasa. Sin embargo, la construcción de una cepa de *L. paracasei* portadora de la mutación E112A en Ppx1, dio como resultado un incremento de más de 5 veces en la síntesis de poli-P. Nuestros datos muestran que la producción de poli-P en *L. paracasei* está estrictamente regulada. Además, estos resultados revelan un escenario inesperado y complejo para la contribución de las exopolifosfatasa a la síntesis de poli-P.

Financiación:

Trabajo parcialmente financiado por proyectos AGL2013-40657-R y RTI2018-098071-B-I00 (MCIU/AEI/10.13039/501100011033) y apoyado por la acreditación Severo Ochoa CEX2021-001189-S del MCIU.

P58

GLUCOSILACIÓN ENZIMÁTICA DEL FLAVONOIDE BAICALEÍNA CON ALTO RENDIMIENTO Y REGIOSELECTIVIDAD EMPLEANDO UN MUTANTE DE SACAROSA FOSFORILASA

Moreno, Mercedes^{1*}; González-Alfonso, José L.¹; Uceda-Domínguez, Carlos¹; Barahona, Laura²; Ballesteros, Antonio O.¹; Desmet, Tom³; Fernández-Lobato, María²; Plou, Francisco J.¹

¹Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, CSIC, Madrid, España; ²Centro de Biología Molecular Severo Ochoa UAM-CSIC, Madrid, España; ³Centro de Biología Sintética, Universidad de Gante, Gante, Bélgica

*mercexmorenox@gmail.com

Los polifenoles son compuestos que intervienen en diferentes procesos defensivos de las plantas ante situaciones de estrés. Además, tienen propiedades antioxidantes y, algunos de ellos, presentan actividad antimicrobiana, anticancerígena, antidiabética y/o antiinflamatoria. Debido a estas propiedades, la ingesta de polifenoles puede tener beneficios para la salud humana¹. La baicaleína es un polifenol presente en las raíces de *Oroxylum indicum* y de *Scutellaria baicalensis*. Este compuesto tiene propiedades antimicrobianas, neuroprotectoras, anticancerígenas y hepatoprotectoras, gracias a su capacidad antioxidante². Sin embargo, posee una baja biodisponibilidad. Una forma de mejorar la biodisponibilidad de los polifenoles es a través de su glucosilación. El mutante R134A de la sacarosa fosforilasa de *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* ha demostrado una gran eficiencia a la hora de glucosilar polifenoles de gran tamaño, proporcionando un alto rendimiento y una alta regioselectividad³. En este trabajo, la reacción de glucosilación de baicaleína se llevó a cabo a una concentración de 2.7 g/L del polifenol y 342 g/L de sacarosa como donador de glucosa. La formación de productos se confirmó por TLC y la cinética de la reacción se estudió por HPLC en fase reversa (Fig. 1). Además, por HPLC-MS se confirmó la formación del monoglucósido de baicaleína como producto mayoritario. La transglucosilación es muy rápida y la baicaleína desaparece prácticamente en 24 h. La purificación de los productos se llevó a cabo por cromatografía *flash*. El producto se caracterizará por Resonancia Magnética Nuclear para dilucidar la posición en la que se produce la glucosilación.

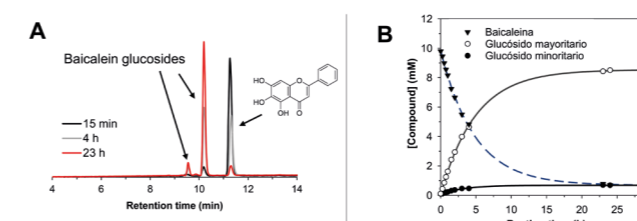


Figura 1. (A) Cromatogramas de la reacción de glicosilación de baicaleína obtenido a una longitud de onda de 269 nm a distintos tiempos. (B) Estudio cinético de la reacción partiendo de 2.7 g/L de baicaleína y 342 g/L de sacarosa.

Referencias/Financiación:

- (1) Stiller A *et al.* *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 8995. <https://doi.org/10.3390/IJMS22168995>.
 - (2) Hu Z *et al.* *Iran. J. Basic Med. Sci.* 2022, 25, 14. <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2022.60380.13381>.
 - (3) Gonzalez-Alfonso JL *et al.* *Adv. Synth. Catal.* 2021, 363, 3079–3089. <https://doi.org/10.1002/ADSC.202100201>.
- Este trabajo se ha financiado gracias a: (1) Proyecto PDC2022-133134-C21/C22 “ACYLGLUFLAV_APP” MCIN/AEI/10.13039/501100011033 de la “European Union NextGenerationEU/PRTR”; (2) Proyecto PID2019-105838RB-C31-C32 “GLYCOENZ-PHARMA” MCIN/AEI/10.13039/501100011033; (3) Proyecto PID2022-136367OB-C31-C32 “GLYCOENZ-GREEN” de MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y FEDER, a Way of Making Europe.

P59

PRODUCCIÓN Y PURIFICACIÓN DE LA CUTINASA DE *FUSARIUM SOLANI PISI* Y SU APLICACIÓN EN LA DESPOLIMERIZACIÓN DEL ÁCIDO POLILÁCTICO

Murguiondo, Carlos*; Barriuso, Jorge; Prieto, Alicia

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC; Madrid, España

*carlos.murguiondo@cib.csic.es

La acumulación de residuos plásticos de origen petroquímico, de difícil degradación, representa un grave problema medioambiental. Ante este panorama, los bioplásticos surgen como materiales alternativos, sostenibles y menos contaminantes. Entre ellos, destaca el ácido poliláctico (PLA), un poliéster alifático, siendo actualmente el bioplástico más producido en el mundo debido a su biocompatibilidad y termoplasticidad. La naturaleza quiral de su unidad monomérica, el ácido láctico, permite sintetizar PLAs con distintas propiedades que se emplean en la industria textil, de envases, médica y agrícola.

Sin embargo, la degradación microbiana del PLA en entornos naturales es lenta, y su despolimerización eficiente y sostenible sigue siendo un desafío crítico para su reciclaje. En este contexto, la catálisis enzimática es una herramienta prometedora para la hidrólisis de este polímero, ya que posibilita la recuperación del monómero y ofrece ventajas frente al reciclaje químico (condiciones de reacción más suaves y alta especificidad). Se ha descrito que algunas lipasas, esterasas, cutinasas y proteasas muestran actividad hidrolítica frente a PLA y, entre ellas, la cutinasa de *Fusarium solani pisi* (FsC) destaca por su eficacia en esta reacción.

En este estudio, se ha clonado FsC en la levadura *Pichia pastoris*, se ha purificado la enzima y se ha evaluado su eficacia en la hidrólisis de varios PLAs comerciales. Además, se han optimizado las condiciones de reacción. Los primeros resultados muestran que esta cutinasa es mucho más eficiente que la lipasa versátil de *Ophiostoma piceae* (OPE), producida previamente en nuestro laboratorio, y similar a la cutinasa comercial de *Humicola insolens*.

Financiación:

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto MICODE (MCIN/AEI, PID2020-114210RB-I00).

P60

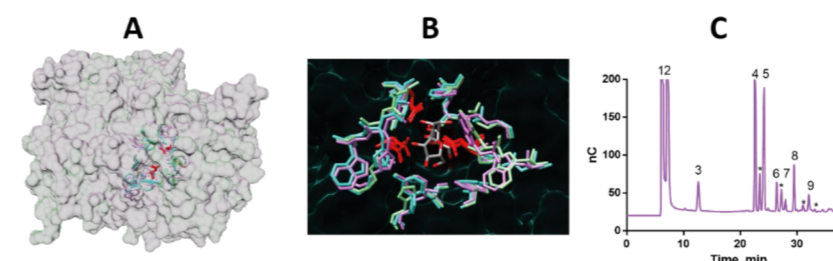
ANÁLISIS DE LA RELACIÓN ESTRUCTURA-FUNCIÓN DE UNA β -FRUCTOFURANOSIDASA FÚNGICA Y DE SU POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Narmontaite, Egle^{1*}; Plou, Francisco J.²; Fernández-Lobato, María¹

¹Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, (UAM-CSIC), Madrid, España; ²Instituto de Catálisis y Petroleoquímica (CSIC), Madrid, España

*egle.narmontaite@cbm.csic.es

Los alimentos funcionales, más allá de su valor nutritivo tradicional, actúan sobre determinadas dianas del organismo promoviendo un efecto positivo sobre el estado de salud general. Esto hace que el mercado de este tipo de alimentos siga permanentemente en alza, y en él, los oligosacáridos bioactivos adquieren relevancia frente a compuestos como las fibras dietéticas, los péptidos o los ácidos grasos insaturados, siendo los fructooligosacáridos (FOS) quizás los más conocidos por sus propiedades prebióticas. Los FOS muestran numerosos beneficios para la salud, entre ellos la mejora de la absorción intestinal de minerales, la disminución de los niveles séricos de colesterol, fosfolípidos y triglicéridos, o la reducción del riesgo de padecer cáncer de colon e incluso mejorar la salud mental¹. Las β -fructofuranosidas (EC 3.2.1.26) son glicosil hidrolasas estructuralmente incluidas en la familia GH32, y destacados productores de FOS. Estas enzimas contienen un dominio β -propeller catalítico N-terminal y un dominio con plegamiento tipo β -sandwich C-terminal². En este trabajo presentamos la caracterización de una nueva β -fructofuranosida fúngica (TAINV) productora de FOS de las 3 series conocidas (¹F, ⁶F y ⁶G). En él, se generó un modelo estructural de TAINV, utilizando AlphaFold2, que permitió la identificación de posibles posiciones implicadas en la actividad hidrolasa-transferasa de la enzima. En base a este análisis se obtuvieron numerosas variantes proteicas, por mutación puntual dirigida, y finalmente se evaluó su actividad hidrolasa-transferasa. Los resultados obtenidos proporcionan una mayor comprensión de la actividad que realizan las enzimas GH32 y en particular del potencial de TAINV como productor de FOS.



Modelo estructural de TAINV (A), y su bolsillo catalítico unido a una molécula de sacarosa (B),

Análisis de la actividad transferasa (C) de la enzima en sacarosa.

Referencias/Financiación:

1. Jiménez-Ortega, *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23, 14981.

2. Ramírez-Escudero, M *et al.*, *J. J. Biol. Chem.* 2016, 291, 6843–6857.

Proyectos PID2019-105838RB-C31/-C32, PID2022-136367OB-C31/C32 y PDC2022-133134C21/22, y a la Comunidad de Madrid por el contrato predoctoral con Ref. PIPF-2022/BIO-25376.

P61

BIOCATALIZADORES INDUSTRIALES ROBUSTOS CON ACTIVIDAD PEROXIGENASA, FENOL-OXIDASA O FURFURIL-OXIDASA PRODUCIDOS EN HUÉSPEDES BACTERIANOS Y FÚNGICOS

Pérez-Boada, Marta^{1*}; Martínez, Ángel T.¹; Ruiz-Dueñas, Francisco J.¹; Gutiérrez, Ana²; Guallar, Víctor³; Lecourt, Michael⁴; Glieder, Anton⁵; Heikkilä, Matti⁶; Lončar, Nikola⁷; Schürmann, Martin⁸; Bettiga, Maurizio⁹; Guillén, Marina¹⁰; Camarero, Susana¹

¹CIB-CSIC, ES; ²IRNAS-CSIC, ES; ³BSC, ES; ⁴FCBA, FR; ⁵bisy, AT; ⁶MetGen, FI; ⁷Gecco, NL; ⁸InnoSyn, NL; ⁹ITB, IT; ¹⁰UAB, ES

*mpboada@cib.csic.es

La biotecnología industrial es clave para mantener el liderazgo de Europa en el mercado bio-basado e impulsar su transición hacia una economía verde y circular. Para ello es necesario desarrollar tecnologías innovadoras como las planteadas en el proyecto europeo ROBUSTOO, coordinado por nuestro grupo del CIB Margarita Salas. El objetivo de ROBUSTOO es mostrar la aplicabilidad de tres familias de enzimas oxidativas (peroxigenasas inespecíficas, lacasas e hidroximetilfurfural oxidasas) en la producción innovadora y sostenible de productos químicos y materiales bio-basados. El potencial de estas enzimas como catalizadores industriales se ha constatado en proyectos anteriores del consorcio. En ROBUSTOO se abordará el desarrollo de enzimas más robustas y mejor adaptadas a las condiciones industriales, así como su producción a escala piloto. Las actividades comenzarán con la bioprospección de secuencias y el diseño computacional de enzimas (por el BSC). Simultáneamente se trabajará en el desarrollo de cepas microbianas para la producción industrial de enzimas y sus variantes obtenidas mediante ingeniería de proteínas, para después abordar la optimización y demostración a escala piloto de su aplicación en transformaciones enzimáticas seleccionadas, todo ello a realizar por parte de varias pymes biotecnológicas (Metgen, Gecco, bisy, e InnoSyn) y centros de investigación/tecnológicos (CIB e IRNAS del CSIC, Universidad Autónoma de Barcelona y el instituto FCBA). El trabajo concluirá con la evaluación tecno-económica y ambiental de las tecnologías desarrolladas, y la elaboración de planes de explotación comercial (Italbiotec). Las nuevas biotransformaciones a demostrar en ROBUSTOO representan soluciones biotecnológicas de vanguardia para: i) la conversión de ligninas industriales en componentes de materiales bio-basados, aumentando el valor comercial de los subproductos de lignina disponibles; ii) la producción de productos químicos difíciles de conseguir mediante síntesis química, a través de oxigenaciones enzimáticas regio/estéreo-selectivas de sustratos lipofílicos; y iii) la síntesis de componentes de plásticos bio-basados, como alternativa sostenible a la catálisis química y al uso de precursores derivados del petróleo.

Financiación:

Proyecto ROBUSTOO financiado por la Unión Europea bajo el acuerdo de subvención nº 101135119.

P62

EXPRESIÓN, CARACTERIZACIÓN Y OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE REACCIÓN DE HIDROXIMETILFURFURAL OXIDASAS SALVAJES PARA LA PRODUCCIÓN DE UN PRECURSOR DE PLÁSTICOS BIOBASADOS

Rincón-Sanz, Rodrigo A.^{1*}; Floor, Martin²; Guallar, Víctor²; Martínez, Ángel T.¹; Ruiz-Dueñas, Francisco Javier¹; Carro, Juan¹

¹Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España; ²Barcelona Supercomputing Center-Centro Nacional de Supercomputación, Barcelona, España

*rodrigo.rincon@cib.csic.es

La producción de bioplásticos de origen renovable constituye un reto presente y futuro. Para ello, el uso del ácido 2,5-furandicarboxílico (FDCA), obtenido a partir de la oxidación de 5-hidroximetilfurfural (HMF), como precursor del material plástico poli(etilénfurandicarboxilato) (PEF) parece una opción prometedora. El PEF presenta propiedades similares e incluso superiores al poli(etiléntereftalato) de origen fósil. Se han descrito métodos químicos y biocatalíticos para la completa oxidación del HMF procedente de las hexosas de la biomasa vegetal, incluyendo la utilización de las enzimas hidroximetilfurfural oxidasas (HMFOs) bacterianas. Estas catalizan las tres reacciones de oxidación necesarias para la transformación del HMF en FDCA, pasando por la formación de 2,5-diformilfurano (DFF) y del ácido 5-formilfurancarboxílico (FFCA) (HMF→DFF→FFCA→FDCA), bajo condiciones de temperaturas moderadas y en ambiente acuoso. Gracias a esto, las HMFOs se consideran una plataforma catalítica idónea frente a otros catalizadores. No obstante, las HMFOs son poco eficientes oxidando el FFCA, considerado el paso limitante de la reacción. En estudios previos se describió la HMFO de *Pseudomonas nitroreducens* como una enzima eficiente en la oxidación del FFCA¹. En el presente trabajo se han optimizado los parámetros cinéticos operacionales de la oxidación del FFCA por esta enzima, alcanzándose las mayores velocidades de conversión a pHs alcalinos, a los que además esta enzima es más estable. Como resultado de este estudio, ahora disponemos de una HMFO con mejores propiedades catalíticas que la HMFO de referencia producida por *Methylovorus* sp. MP688. Por otra parte, con objeto de superar el cuello de botella de la oxidación del FFCA y aumentar la producción de FDCA, se han producido dos nuevas HMFOs bacterianas. Tras su caracterización se ha comprobado que presentan parámetros catalíticos mejorados para la oxidación tanto del HMF como del FFCA en comparación con las HMFO anteriormente descritas.

Referencia y financiación:

1. Viñambres, M. et al. *Appl. Environ. Microbiol.* 2020. doi: 10.1128/AEM.00842-20

Financiación:

Proyecto PLEC2021-007690 financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033 y por la Unión Europea NextGenerationEU/PRTR; y Plataforma Temática Interdisciplinaria Susplast, CSIC

P63

NUEVAS SUBFAMILIAS DE MANGANESO PEROXIDASAS EN HONGOS LIGNOCELULOLÍTICOS

Sánchez-Ruiz, María Isabel*; Santillana, Elena; Linde, Dolores; Romero, Antonio; Martínez, Ángel T. y Ruiz-Dueñas, Francisco Javier

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CIB), CSIC, Madrid, España

*marisasr@hotmail.es

Los hongos de podredumbre blanca son los degradadores de lignina más eficientes que existen en la naturaleza. Para ello disponen de una maquinaria enzimática de naturaleza oxidativa que incluye peroxidasas de alto potencial redox^{1,2}. Entre ellas, las manganeso peroxidasas (MnPs) se caracterizan por su capacidad para despolimerizar la lignina parcialmente fenólica en reacciones mediadas por manganeso³. Debido a esta capacidad, se consideran herramientas de gran interés biotecnológico para el procesamiento industrial de la biomasa vegetal. Las MnPs se han clasificado en dos subfamilias en función de la longitud de su extremo C-terminal, una región que determina las propiedades catalíticas y de estabilidad de estas enzimas. Independientemente de la subfamilia a la que pertenecen, todas las MnPs caracterizadas hasta la fecha presentan un sitio de oxidación de manganeso formado por dos glutamatos y un aspartato. Sin embargo, en la naturaleza existe una mayor variedad de MnPs. Así, en un análisis genómico publicado recientemente, identificamos nuevas subfamilias de MnPs⁴ caracterizadas por poseer sitios de oxidación de manganeso diferentes a los de las MnPs clásicas. En el presente estudio confirmamos la secreción de MnPs de estas nuevas subfamilias en cultivos de los hongos *Agrocybe pediades* y *Cyathus striatus* al crecer sobre materiales lignocelulósicos. La expresión heteróloga en *Escherichia coli* de dos de estas enzimas y su posterior activación *in vitro* permitieron su caracterización a nivel funcional y estructural. Así, mediante estudios cinéticos se determinó su capacidad para oxidar Mn²⁺, y estudios cristalográficos y de mutagénesis dirigida fueron determinantes para identificar los residuos implicados en la unión de este catión. Por último, demostramos que ambas enzimas son capaces de oxidar compuestos fenólicos derivados de lignina y lignina polimérica, sugiriendo que pueden jugar un papel relevante en la transformación de la lignocelulosa por *A. pediades* y *C. striatus*.

Referencias:

1. Martínez A.T. *et al. Int. Microbiol.* (2005) 8:195-204
2. Kirk T.K. *et al. Annu. Rev. Microbiol.* (1987) 41:465-505
3. Hofrichter M. *et al. Enzyme Microb. Technol.* (2002) 30:454-66
4. Ruiz-Dueñas F.J. *et al. Mol. Biol. Evol.* (2021) 38:1428-46

Financiación:

Proyecto GENOBIOREF (BIO2017-86559-R); Proyecto LIG2PLAST, PID2021-126384OB-I00 financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033/ y por FEDER/UE; Proyectos PIE-202120E019 y PIE-202020E224 del CSIC; y Plataforma Temática Interdisciplinaria Susplast, CSIC.

P64

ESTUDIO DE LA DEGRADACIÓN DE POLÍMEROS PLÁSTICOS POR HONGOS LIGNINOLÍTICOS

Sevilla, Roberto*; Rincón-Sanz, Rodrigo A.; Molpeceres, Gonzalo; Ocampos, Isabel; Carral, Juan; Aza, Pablo; Ruiz-Dueñas, Francisco Javier; Camarero, Susana

Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC, Madrid, España

*roberto.sevilla@cib.csic.es

Los plásticos son esenciales en la economía global debido a su durabilidad y versatilidad en diversas aplicaciones. La producción mundial de plásticos superó en 2021 los 390 millones de toneladas (Plastics Europe 2022). Debido a esto, la acumulación de residuos plásticos se ha convertido en un grave problema medioambiental, con consecuencias perjudiciales para la cadena alimentaria. Desde 2016, se ha avanzado notablemente en la degradación de poliésteres, como el PET de las botellas de plástico, mediante bacterias que producen enzimas de tipo esterasa (Yoshida *et al.* 2016). Sin embargo, existen otros polímeros plásticos de tipo olefina que no son hidrolizables, o cuya degradación microbiana no ha sido descrita hasta la fecha.

El proyecto LIG2PLAST se enfoca en el estudio del potencial degradativo de hongos basidiomicetos descomponedores de la madera y otros materiales lignocelulósicos para abordar esta problemática. Estos hongos secretan una potente maquinaria oxidativa, compuesta de enzimas oxidorreductasas, responsable de la degradación de los componentes más recalcitrantes de la biomasa vegetal, el polímero de lignina y la celulosa cristalina. En este estudio aprovechamos el conocimiento generado por nuestro grupo de investigación sobre la biodegradación de la lignina, con el fin de evaluar el potencial de dichos hongos (y sus enzimas) para transformar plásticos no hidrolizables. Para ello determinamos el crecimiento de diez especies de hongos sobre películas de polietileno, poliestireno, y dos tipos de nylon en cultivos en placa. Mediante visualización directa y análisis por microscopía electrónica de barrido, observamos colonización fúngica en algunos casos. Posteriormente llevamos a cabo el cultivo líquido de dichos hongos en presencia de los plásticos. Tras dos meses de cultivo, los plásticos se analizaron por FTIR-ATR, observándose cambios significativos en la composición química de algunos de ellos tras el tratamiento fúngico.

Referencia:

Yoshida, S. *et al. Science* 2016, 351,1196-1199.

Financiación:

Proyecto LIG2PLAST, PID2021-126384OB-I00 financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033/ y por FEDER/UE; y Plataforma Temática Interdisciplinaria Susplast, CSIC.

P65

INVESTIGANDO EL ROL DE *TUP1* Y LA ANEUPLOIDÍA DEL CROMOSOMA III EN LA RESPUESTA AL ESTRÉS POR ETANOL EN *S. CEREVISIAE* A TRAVÉS DEL ANÁLISIS DE RNAseq

Albillos-Arenal, Sonia^{1*}; Barrio, Eladio^{1,2}; Querol, Amparo¹

¹Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), Paterna, España; ²Departamento de Genética, Universidad de Valencia, España

*sonia.albillos@iata.csic.es

El etanol es un factor estresante importante para las cepas de *Saccharomyces* durante la elaboración del vino, y la tolerancia al etanol es un rasgo complejo que se ha estudiado ampliamente¹. Se han descrito algunas rutas y genes involucrados, pero el mecanismo completo aún no se comprende. Una característica común observada en las cepas tolerantes al etanol es la aneuploidía en el cromosoma III 2. Para investigar el motivo de este aumento en el cromosoma III, se realizó un estudio de RNAseq utilizando una cepa de *S. cerevisiae* con tres copias del cromosoma III (2-200-2)³ y su derivado con una copia eliminada (2-200-2-S4)². Las cepas fueron sometidas a diferentes condiciones de etanol y se comparó la expresión de sus genes. Se enriqueció la biosíntesis de esteroides y el ciclo de Krebs, así como muchos genes implicados en la biosíntesis de metabolitos secundarios, aminoácidos y lípidos. Varios genes y procesos que afectan a la membrana presentaron diferentes niveles de expresión, incluidos transportadores como *HXT* y *PHO84*. Además, se vieron afectados el ciclo celular, las modificaciones del ADN y la degradación del ARN. El hallazgo más significativo del estudio fue que *TUP1*, fue un regulador común de la mayoría de los genes y rutas metabólicas que se sobreexpresaron en la cepa con aneuploidía. *TUP1* se encuentra en el cromosoma III y codifica un represor transcripcional que desempeña un papel crucial en diversos procesos celulares, incluida la respuesta al estrés, la regulación del ciclo celular y el metabolismo. En este estudio creamos mutantes de la cepa 2-200-2, eliminado copias de *TUP1*, y comprobamos la tolerancia al etanol. Los resultados obtenidos indicaron que el número de copias de *TUP1* es importante en la tolerancia al etanol y puede ser la causa de la duplicación del cromosoma III en cepas tolerantes a etanol.

Referencias/Financiación:

1. Arroyo-López, F. N., et al. *Yeast*, 2010. doi: 10.1002/yea.1809
2. Morard M, et al. *Front Genetics*, 2019. doi: 10.3389/fgene.2019.00082
3. Voordeckers, K. et al. *PLoS genetics*, 2015. doi: 10.1371/journal.pgen.1005635

S.A. contó con el apoyo de un contrato FPI del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (ref. PRE2019-088621). Este proyecto ha recibido financiación del gobierno español y de los proyectos FEDER-FEDER de la UE PID2021-126380OB-C31 y PID2021-126380OB-C33 de AQ y EB, respectivamente. Finalmente, IATA-CSIC recibió financiación del gobierno español, ref. MCIN/AEI/10.13039/501100011033, como Centro de Excelencia 'Severo Ochoa' (CEX2021-001189-S), con AQ como IP.

P66

EFFECTIVIDAD DEL PLASMA FRÍO EN LA REDUCCIÓN DE BIOFILMS FORMADOS POR *BACILLUS CEREUS*

Esteve, Consuelo^{1*}; Alda-Gómez, Javier¹; Nicolas, Irina¹; Rodrigo, Dolores²; Pina-Pérez, María Consuelo¹

¹Dpto. Microbiología y Ecología, Universitat de València, Valencia, España; ²Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), Paterna, España

*maria.esteve@uv.es

Bacillus cereus representa uno de los patógenos de mayor riesgo alimentario, responsable en Europa de aproximadamente el 20 % de los brotes por toxoinfección alimentaria que se producen anualmente¹, implicando productos como arroz, pasta, harinas, cereales infantiles, y preparados para lactantes. A nivel industrial, la capacidad de formación de biofilms por *B. cereus*, se ha descrito como uno de los principales factores responsables de la contaminación de alimentos en instalaciones de procesado, persistiendo a los tratamientos de desinfección, y pudiendo llegar finalmente al consumidor². La infección por *B. cereus* entero-patógeno se produce por la ingesta de esporas o células vegetativas, con la consiguiente producción de toxinas a nivel gastrointestinal (hemolisina BL (Hbl), enterotoxina no hemolítica (Nhe), proteína citotóxica K (CytK)). El presente estudio aborda (i) la evaluación de la efectividad del plasma frío generado mediante descargas de barrera dieléctrica (DBD-PF), en la destrucción de biofilms de *B. cereus* CECT 4387 y CECT 7259. Se aborda también (ii) el impacto de la tecnología DBD-PF en la reducción de la capacidad de formación de biofilms, por células de *B. cereus* previamente sometidas a tratamiento, y dañadas bajo diferentes condiciones. En los ensayos se utilizó un equipo DBD-PF (Diener Electronics SL) (IATA-CSIC), funcionando a vacío, con cámara de tratamiento cilíndrica de cuarzo, de 5L de capacidad, utilizando en la generación del plasma, oxígeno puro (O₂) como carrier gas. Se utilizaron placas Petri de borosilicato, como soporte al desarrollo de los biofilms bacterianos, utilizando medio Brain Heart Infusion Broth (BHIB) como caldo de cultivo. Los biofilms fueron sometidos a diferentes condiciones de tratamiento en el rango 100-300 W de potencia y tiempos de 0-7.5 min, y la integridad del biofilm formado (a 48h y 5 días) evaluada mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). Del mismo modo, células dañadas por DBD-PF fueron recuperadas e incubadas en condiciones óptimas para la formación de biofilms. Dichos biofilms fueron estudiados en su evolución a distintos tiempos. Los resultados revelan la efectividad del plasma frío a 300 W-7.5 min, tanto en la destrucción del biofilm pre-formado, como inhibiendo la capacidad de formación de biofilms por la población superviviente-dañada. Estos resultados son de gran relevancia en el desarrollo de nuevos equipos diseñados para el tratamiento de superficies en industria alimentaria.

Referencias y financiación:

1. Dietrich et al. The Food Poisoning Toxins of *Bacillus cereus*. <https://doi.org/10.3390/toxins13020098>
2. Lin et al. (2022). <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2022.100070>

Esta comunicación es parte del proyecto de I+D+i PID2020-116318RA-C33, financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033

P67

DESARROLLO DE NUEVAS PELÍCULAS PLÁSTICAS CON CAPACIDAD ANTIMICROBIANA: EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD SOBRE LA MICROBIOTA DE DISTINTOS ALIMENTOS

Santos, Xiomara¹; Domínguez, Gabriela²; Martín, Olga¹; Fajardo, Carmen²; Guillén, Francisco²; Pozuelo, Javier¹; Rodríguez, Juana^{2*}

¹Universidad Carlos III de Madrid, Leganés, España; ²Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, España

*juana.rodriguez@uah.es

La seguridad alimentaria en la cadena de suministro de alimentos es un objetivo prioritario para gobiernos e industrias de países desarrollados. La globalización ha diversificado la oferta de alimentos, pero también ha complicado la cadena de distribución, incrementándose el riesgo de contaminación microbiana. Una estrategia para obtener alimentos más seguros y alargar la vida útil de los mismos es desarrollar envases activos con propiedades antimicrobianas que eviten el crecimiento de microorganismos alterantes y patógenos en los alimentos. En este sentido, nuestros grupos de investigación han elaborado películas plásticas con actividad antimicrobiana, mediante la dispersión de nanopartículas de una sal de hidroxinitrato de cobre II ($\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{NO}_3$ [CuHS]) en una matriz polimérica biodegradable de ácido poliláctico (PLA).¹ En este trabajo se analizan las propiedades térmicas (mediante DSC y TGA) y mecánicas (mediante DMTA) de las películas plásticas elaboradas con PLA y [CuHS] al 1, 3 y 5% (PLA-CuHS); se determinó su actividad bactericida frente a la microbiota endógena de distintos alimentos, y la capacidad de migración al alimento del Cu^{2+} y su citotoxicidad frente a células HeLa. Las técnicas analíticas y microbiológicas utilizadas se describen en las referencias 1, 2. Los resultados de las propiedades térmicas y mecánicas de los plásticos activos desarrollados ponen de manifiesto que la incorporación de las partículas al PLA incrementa ligeramente la fragilidad de los films y disminuye la temperatura a la cual comienza la descomposición del material, sin que nada de ello limite su potencial aplicabilidad en la industria del envasado de alimentos. Se ha comprobado que las películas plásticas de PLA-CuHS al 1, 3 y 5% presentan actividad bactericida frente a la microbiota presente en todos los alimentos analizados. Además, los valores de migración de Cu^{2+} fueron siempre inferiores a los permitidos, si bien concentraciones de cobre del 3 y 5% resultaron citotóxicas.

Referencias y financiación:

1. Santos, X.; Rodríguez, J.; Guillén, F.; Pozuelo, J.; Molina-Guijarro, J.M.; Videira-Quintela, D.; Martín, O. (2024). *Polymers*, 15: 1661.
2. Santos, X.; Álvarez, M.; Videira-Quintela, D.; Mediero, A.; Rodríguez, J.; Guillén, F.; Pozuelo, J.; Martín, O. (2022). *Membranes*, 12: 1146.

Este trabajo ha sido financiado con el Proyecto MICINN. Ref: TED2021-131847B-C22.

P68

SCREENING DE NUEVAS CEPAS PRODUCTORAS DE ÁCIDO GAMMA-AMINOBUTÍRICO PARA ALIMENTOS FUNCIONALES

Calavia, Celia; Ortiz, Leticia; Garrido, María; Virto, Raquel; Fratebianchi, Dante*

Centro Nacional de Tecnología y Seguridad Alimentaria (CNTA), San Adrián (Navarra), España

*dfratebianchi@cnta.es

La industria alimentaria se encuentra constantemente en búsqueda de nuevos productos alimentarios que satisfagan la demanda de un perfil de consumidor cada vez más creciente y que a través de la alimentación demanda salud, entendida como un beneficio saludable que trasciende el valor nutricional propio del alimento. En este sentido, el ácido gamma-aminobutírico (GABA), un aminoácido no proteico, despierta interés por sus funciones fisiológicas y propiedades, tales como su capacidad antihipertensiva a nivel cardiovascular o su rol a nivel cerebral como neurotransmisor, en donde estudios han demostrado que desempeña un papel crucial en una variedad de funciones cerebrales, incluida la ansiedad, el sueño y la sensación de dolor, entre otras. El objetivo de este estudio fue seleccionar nuevas bacterias lácticas de grado alimentario capaces de producir GABA.

Se estudiaron 19 cepas de bacterias lácticas previamente aisladas por CNTA pertenecientes a la especie *Levilactobacillus brevis* y preseleccionadas por su potencial productor de GABA según bibliografía. Como control positivo se empleó la cepa *L. brevis* NBRC 12005. Primero se llevó a cabo un estudio semicuantitativo de determinación indirecta de capacidad de producción de GABA mediante incremento de pH tras incubación de la biomasa de cada una de las cepas en una mezcla de reacción conteniendo glutamato, preajustada al pH típicamente óptimo para la biotransformación de ácido glutámico en GABA. Posteriormente, con las 7 cepas escogidas según los resultados del primer estudio se llevaron a cabo fermentaciones individuales en caldo sintético suplementado con 21 g/L de glutamato y, tras 48 horas, entre otras variables se determinó por HPLC la concentración de GABA en el producto de fermentación. Cuatro de las 7 cepas produjeron más GABA (12,5-14,5 g/L) que la cepa control (9,7 g/L), por lo que podrían ser candidatas para su futuro uso en el desarrollo de productos alimentarios funcionales.

Financiación:

Este estudio se llevó a cabo gracias al financiamiento del Gobierno de Navarra a través del proyecto HIDROPEP (cod. expte. 0011-1411-2023-000030)

P69

CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA SUSCEPTIBILIDAD AL FAGO *KAYVIRUS RODI* DE DISTINTAS CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Jurado, Andrea*; López, Daniel; Rodríguez, Ana; Fernández, Lucía; García Pilar

Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC), Villaviciosa, Spain

*andrea.jurado@ipla.csic.es

Los bacteriófagos se presentan actualmente como una opción novedosa para combatir la contaminación con *Staphylococcus aureus* en el ámbito alimentario. En este trabajo se realizó un análisis genotípico y fenotípico de una colección de 18 cepas de *S. aureus* con distintos orígenes (clínico, leche de vacas con mastitis, industria láctea e industria cárnica) para tratar de identificar determinantes de susceptibilidad al fago *Kayvirus rodi*. Todas las cepas analizadas mostraron susceptibilidad aunque en distinto grado, siendo las de procedencia clínica las más resistentes. En cuanto a la caracterización genética, se identificó la presencia de sistemas de defensa antifagos en las distintas cepas (*Abi2*, restricción-modificación, AVAST, Thoeris, etc.), si bien es difícil establecer una correlación directa entre su posesión y la resistencia al fago sin estudios adicionales. También se estudió la presencia de genes implicados en la síntesis de la cápsula y de los ácidos teicoicos, ya que se sabe que ambos afectan a la adsorción de fagos que infectan *S. aureus*. En concreto, se identificó una correlación entre la presencia de un gen *tarM* intacto, implicado en la modificación de los ácidos teicoicos, y la producción de cápsula con la susceptibilidad al fago. Por otro lado, se determinó que el factor sigma alternativo SigB participa en la regulación de la resistencia a *K. rodi* en algunas cepas. Un análisis transcripcional mediante RNA-seq reveló diferencias significativas en la expresión de determinados genes implicados en la síntesis del peptidoglicano y de los ácidos teicoicos entre una cepa con SigB activo y otra que no lo tiene. No obstante, aún es necesario realizar nuevos experimentos que permitan confirmar cuál de estos cambios explica la diferente susceptibilidad al fago. Los datos obtenidos en el presente estudio serán de gran utilidad para identificar qué determinantes genéticos pueden afectar el éxito de este fago como agente antimicrobiano.

P70

IDENTIFICACIÓN DE GENES Y SNPS ASOCIADOS CON LA FERMENTACIÓN VÍNICA Y LA ADAPTACIÓN A LA LIMITACIÓN DE NITRÓGENO EN CEPAS SILVESTRES Y DOMESTICADAS DE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Martínez, Claudio^{1,2*}; Bastías, Camila²; Kessi-Pérez, Eduardo I.¹

¹Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile; ²Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile

*claudio.martinez@usach.cl

Deficiencias en fuentes de nitrógeno en el mosto de uva afectan la tasa de fermentación y la producción de biomasa de las levaduras, lo que se traduce en fermentaciones lentas o detenidas, resultando en pérdidas económicas considerables para la industria vitivinícola. En este trabajo, a partir de la población del proyecto de 1002 genomas de levaduras, el catálogo más completo de la variación genética en la especie y un recurso poderoso para estimar correlaciones genotipo-fenotipo, estudiamos la adaptación a la limitación de nitrógeno en cepas de levadura silvestres y domesticadas en el contexto de la fermentación vínica.

Determinamos que las distintas cepas de levadura tienen adaptaciones diferentes a la limitación de nitrógeno, corroborando sus trayectorias evolutivas particulares. Además, utilizando GWAS y CRISPR-Cas9, validamos que los genes *PNP1*, *RRT5* y *PDR12* están implicados en la fermentación vínica, donde *RRT5* y *PDR12* también están involucrados en la adaptación de la levadura a la limitación de nitrógeno. Por otro lado, validamos SNPs específicos en estos genes que conducen a diferencias en las capacidades fermentativas y su adaptación a la limitación de nitrógeno en experimentos en mostos sintéticos con cantidades suficientes y deficientes de nitrógeno.

Finalmente, con el objeto de conocer el efecto que tienen estos genes y SNPs validados sobre parámetros de crecimiento y fermentación en una cepa industrial, se construyeron mutantes de delección génica y puntuales para los genes y SNPs previamente identificados, esta vez en la cepa T73. Los resultados obtenidos permiten avanzar en la construcción de cepas mejor adaptadas a mostos deficientes en nitrógeno a través de mejoramiento genético dirigido a genes específicos.

Referencias/Financiación:

Kessi-Pérez, E. I. et al. 2023. Biol. Res. <https://doi.org/10.1186/s40659-023-00453-2>.

Fondecyt 1201104, ANID, Chile.

P71

INACTIVACIÓN DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* Y GENERACIÓN DE CÉLULAS SUB-LETALMENTE DAÑADAS EN EL TRATAMIENTO MEDIANTE DBD-PLASMA DE VEGETALES DESHIDRATADOS

Eced-Gutiérrez, Laura¹; Valdez-Narváez, María Inés²; Rodrigo, Dolores²; Quereda-Torres, Juan José³; Fernández-Escámez, Pablo⁴; Pina-Pérez, María Consuelo^{1*}

¹Dpto Microbiología y Ecología, Universitat de València, Burjassot, España; ²Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, CSIC, Paterna, España; ³Dpto Producción y Sanidad Animal, Salud Pública, Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos (PASAPTA), Universidad CEU Cardenal Herrera, Moncada, España; ⁴Dpto Ingeniería Agronómica, Universidad Politécnica de Cartagena, Cartagena, España

*maria.c.pina@uv.es

Listeria monocytogenes es uno de los principales patógenos alimentarios, agente causal de más de 2000 brotes anuales en la UE¹. Se trata de un patógeno oportunista, con graves consecuencias para colectivos determinados (ancianos, embarazadas, niños), muy amplia diseminación en el ambiente, gran variedad de productos alimentarios en los que se ha detectado (pescados, lácteos, carnes, entre otros), y con la capacidad de responder eficientemente a condiciones de estrés muy diversas (acidez, salinidad, temperatura, estrés oxidativo, etc)². En la búsqueda de tratamientos eficaces en la inactivación de *L. monocytogenes*, tanto en ambiente industrial como en el procesado de alimentos, el plasma frío emerge como tecnología novedosa, funcionando a temperatura ambiente, y con el diseño de equipos *tailor-made*. El presente estudio pretende evaluar, el potencial de la tecnología de plasma frío, aplicada en descarga de barrera dieléctrica (DBD-PF): (i) en la inactivación de *L. monocytogenes*, (ii) en la generación de células sub-letalmente dañadas que podrían representar un riesgo posterior, tanto evaluando la exposición directa de las células al plasma, como su exposición cuando se encuentran inmersas en una matriz alimentaria, en este caso vegetales deshidratados tipo snack. En los ensayos se utilizó un equipo DBD-PF (Diener Electronics SL) (IATA-CSIC), funcionando a vacío, con cámara de tratamiento cilíndrica de cuarzo, de 5L de capacidad, utilizando en la generación del plasma, oxígeno puro (O₂). Los resultados revelan niveles de inactivación de entre 1 y 5 ciclos log₁₀, para condiciones de tratamiento entre 100-300 W, 5-10 min, cuando las células fueron directamente expuestas al DBD-PF. Entre el 50 y el 98 % de las células expuestas resultaron sub-letalmente dañadas. El tratamiento de frutas deshidratadas (coco, plátano y papaya) tipo snack, inoculadas con *L. monocytogenes*, reveló niveles máximos de inactivación superiores a 3 ciclos log₁₀. Estos resultados contribuyen a garantizar la seguridad de vegetales y frutas, permitiendo una reducción en la adición de químicos previo al procesado.

Referencias y financiación:

1. Quereda *et al.* (2021) Pathogenicity of *Listeria monocytogenes*. DOI: 10.1080/21505594.2021.1975526
2. Patange *et al.* (2019) Effect of Cold Plasma on bacterial stress responses using *Listeria monocytogenes* knockout mutants DOI: 10.3389/fmicb.2019.0284

Esta comunicación es parte del proyecto de I+D+i PID2020-116318RA-C33, financiado por MCIN/ AEI/10.13039/501100011033

P72

BIOPROSPECCIÓN DE BACTERIAS ENDÓFITAS DE MANGLARES DEL CARIBE COLOMBIANO PARA USO COMO BIOINOCULANTE EN SUELOS CON PROBLEMAS DE SEQUÍA Y SALINIDAD

Soto-Varela, Zamira E.^{1*}; Bolívar-Anillo, Hernando¹; Vega Benites, Shersy¹; Reyes Almeida, Giovanna¹; Gutiérrez Rada, Camilo¹; Iglesias Navas María¹; Amils, Ricardo²

¹Facultad de Ciencias Básicas y Biomédicas-Centro de Investigación en Biodiversidad y Cambio Climático-ADAPTIA, Universidad Simón Bolívar, Barranquilla, Colombia; ²Centro de Biología Molecular Severo Ochoa-Universidad Autónoma de Madrid (CBMSO, CSIC- UAM), Madrid, España

*zsoto1@unisimonbolivar.edu.co

Los manglares son bosques costeros que proporcionan hábitats únicos para una amplia variedad de especies. Los sedimentos del manglar albergan diversas formas de vida marina, mientras que los canales sustentan comunidades de plancton y peces. En la actualidad, estos ecosistemas se están viendo afectados por procesos de hipersalinización y han tenido que desarrollar estrategias para su supervivencia como la interacción con su microbioma. El objetivo del presente trabajo fue el aislamiento y caracterización de bacterias endófitas de manglar para su utilización como inoculante biológico para el mejoramiento de la tolerancia a la sequía y a la salinidad del suelo de plantas de interés agrícola. Se aislaron un total de 40 bacterias endófitas de los tejidos vegetales de la especie de manglar *Avicennia germinans* en el Caribe Colombiano; de estas, 23 mostraron una tolerancia de hasta el 10% de NaCl y 5 aislados demostraron resistencia al 20% de NaCl y al 14% de bicarbonato de sodio, los cuales fueron identificados por amplificación del gen 16s RNA como *Bacillus safensis*, *Bacillus tequilensis*, *Priestia aryabhatai*, *Bacillus halotolerans* y *Bacillus altitudinis*. Todos estos aislados, a excepción de *Bacillus altitudinis*, mostraron actividad de fijación de nitrógeno y proteolítica. Ninguno de los aislados mostró capacidad para solubilizar potasio y fósforo. Los resultados de la evaluación de tolerancia a la sequía a través de la exposición a diferentes concentraciones de PEG, revelaron variaciones significativas entre los aislados. Este estudio ha identificado aislados bacterianos prometedores para futuras aplicaciones en la mejora de la agricultura sostenible.

Referencias:

- Cotta, S. R., *et al.* Mar. Pollut. Bull., 2019. doi: 10.1016/j.marpolbul.2019.03.001.
 Palit, K., *et al.* Environ Sci Pollut Res Int., 2022. doi: 10.1007/s11356-022-19048-7
 Thatoi, H., *et al.* (). Ann. Microbiol., 2013. doi: 10.1007/s13213-012-0442-7

Financiación:

Esta investigación fue financiada por el Sistema General de Regalías (SGR) de Colombia bajo el número de subvención BPIN 2022000100074.



ÍNDICE DE AUTORES

APELLIDOS, NOMBRE	COMUNICACIÓN	Nº PÁGINA
Abad Lorenzo, José P.	P34	99
Abriouel, Hikmate	O11	44
Acedos, Miguel G.	O6	37
	P2	67
Acevedo Molina, Lucía	P14	79
Acosta, Javier	P10	75
Acosta, Valentina	P55	120
Albillos-Arenal, Sonia	Conferencia de clausura	63
	P65	130
Alcalde, Miguel	O14	51
Alcántara, Cristina	P57	122
Alda-Gómez, Javier	P66	131
Alonso Fernandes, Elena	P27	92
Alonso-Fernández, Sergio	O5	36
Álvarez Ferrero, Helena	P32	97
Álvaro, Gregorio	I7	46
	O13	49
Amaro da Cruz, Alba	O16	53
Amils, Ricardo	P72	137
Ángeles de Paz, Gabriela	I6	41
Aranda, Elisabet	I6	41
Arredondo-Núñez, Annsy	O20	59
Aza, Pablo	P6	71
	P45	110
	P64	129
Ballesteros, Antonio O.	P56	121
	P58	123
Ballesteros, Ignacio	P28	93
Balsa-Canto, Eva	Conferencia de clausura	63
Bankole, Paul	I6	41
Baquadano, Ignacio	P47	112
Barahona, Emma	O9	42

APELLIDOS, NOMBRE	COMUNICACIÓN	Nº PÁGINA
Barahona, Laura	P46	111
	P54	119
	P58	123
Barbero-Úriz, Óscar	O7	38
Barreiro, Carlos	P1	66
	P18	83
	P29	94
	P30	95
	P42	107
Barrio, Eladio	P44	109
	Conferencia de clausura	63
	P65	130
Barriuso, Jorge	P2	67
	P7	72
	P19	84
	P40	106
	P47	112
	P55	120
Barry, Kerrie	P59	124
	P4	69
	P70	135
Bastías, Camila	P70	135
Bauer, Diane	P4	69
Bautista, César	O20	59
Bautista, Luis Fernando	P37	102
Bejarano-Muñoz, Lara	P19	84
Benito, Santiago	O18	57
Benomar, Nabil	O11	44
Berberana-Puy, Pablo	P50	115
Bernal Soro, Antonio	P20	85
Bettiga, Maurizio	P61	126
Blanco González, Antonio	I6	41
Blanco, Manuel F.	P48	113

APELLIDOS, NOMBRE	COMUNICACIÓN	Nº PÁGINA
Blas, Laura	P8	73
Blasco-Lavilla, Nuria	P31	96
Bolívar-Anillo, Hernando	P72	137
Bonet, Kirian	I7	46
Bosch, Sandra	P21	86
Brandelli, Adriano	O20	59
Bravo, Jorge	P8	73
Bromley, Michael	O17	56
Caballero Gómez, Natacha	O11	44
Calavia, Celia	P68	133
Calonge García, Alba	I5	40
	P22	87
Calvo, Concepción	I6	41
Calvo, Isabel	P16	81
Camarero, Susana	P6	71
	P45	110
	P61	126
	P64	129
Caminal, Gloria	I7	46
Cano Sánchez	P22	87
Cantoral-Fernández, Jesús Manuel	O19	58
Capel Navarro, Susana	I5	40
	P23	88
Carballo Fernández, Diana	P18	83
	P29	94
	P30	95
	P44	109
	P44	109
Carceller, Albert	I7	46
	O13	49
Carmona, Manuel	O10	43
Carral, Juan	P64	129

APELLIDOS, NOMBRE	COMUNICACIÓN	Nº PÁGINA
Carro, Juan	O1	30
	P5	70
	P49	114
	P62	127
Casablanco, Antoni	I7	46
	P3	68
Casero, María Cristina	P25	90
Castanera, Raúl	P4	69
Castañera-Estrada, Pablo	P32	97
Castillo López, María	P24	89
Castillo, Estrella	P12	77
Castrillo-Puente, Roberto	P50	115
Castro, Laura	O10	43
Ceballos Aguirre, Nelson	P41	106
Cecchini, Davide	P10	75
Cendón Álvarez, Marta	P18	83
	P29	94
	P30	95
	P44	109
Cestero, Juan José	P2	67
Chacón Guisado, Paula	P51	116
Chamizo Ampudia, Alejandro	P1	66
	P18	83
	P29	94
	P30	95
	P42	107
	P44	109
Charnock, Simon	P8	73
	P13	78
Chávez-Camarillo, Griselda M ^a .	P52	117
Chuina Tomazeli, Emilia	P4	69
Cicimov, Viktor	O9	42

APELLIDOS, NOMBRE	COMUNICACIÓN	Nº PÁGINA
Cid, Víctor J.	O7	38
Cirés, Samuel	P25	90
Conejo-Martínez, Amparo M.	P34	99
Contreras, Alba	Conferencia de clausura	63
Cordero-Bueso, Gustavo	O19	58
Corrales, Daniela	P57	122
Corte Rodríguez, Mario	O5	36
Cristiani-Urbina, Eliseo	P52	117
Crueiras, María	P1	66
	P42	107
Cuesta Belvís, Daniel	O9	42
de Dios, Enrique	P27	92
de Frutos, Iván	O18	57
de la Cruz, Mercedes	P12	77
de la Rubia, M. Ángeles	O9	42
de la Torre Pascual, Isabel	O6	37
	P2	67
de las Rivas, Matilde	P21	86
de Lorenzo, Víctor	Conferencia Inaugural	25
de Nicolás, Amanda P.	O9	42
Desmet, Tom	P58	123
Díaz Martínez, Margarita	P11	76
	P33	98
	P35	100
	P43	108
Díaz Nieto, José	O19	58
Díaz, Eduardo	O10	43
	P27	92
Díaz, Elena	O9	42
Díez, Mario P.	O9	42
Dimitri, Iván	P3	68
Dolz, Mikel	O14	51

APELLIDOS, NOMBRE	COMUNICACIÓN	Nº PÁGINA
Domínguez, Gabriela	P14	79
	P26	91
	P67	132
Domínguez, Juan Manuel	I2	29
Durante-Rodríguez, Gonzalo	P27	92
Eced-Gutiérrez, Laura	P71	136
Espada, Pablo	P27	92
Esteve, Consuelo	P66	131
Fajardo, Carmen	P26	91
	P67	132
Fernández Gutiérrez, David	P31	96
	P36	101
Fernández Lobato, María	P46	111
	P54	119
	P58	123
	P60	125
Fernández, Javier	O3	32
Fernández, Lucía	P69	134
Fernández, Sergio	P9	74
	P32	97
Fernández-Acero Bacones, Teresa	O7	38
	O8	39
Fernández-Escámez, Pablo	P71	136
Fernández-García, Gemma	O5	36
	P17	82
Fernández-Lucas, Jesús	P10	75
Fernández-Polo, David	P56	121
	P58	123
Ferrando, Jordi	O2	31
	P15	80
Fessner, Wolf-Dieter	P13	78

APELLIDOS, NOMBRE	COMUNICACIÓN	Nº PÁGINA
Filluelo, Oriana	O2	31
	P15	80
Finnigan, James	P8	73
Floor, Martin	O1	30
	P5	70
	P49	114
	P62	127
Florido-Barba, Antonio	O19	58
Fratebianchi, Dante	P68	133
Fredes, Yerko	P3	68
Gago, Sara	O17	56
Galán, Beatriz	O6	37
	P52	117
Gallego-García, María	P28	93
García Alonso, Sonia	P1	66
	p18	83
	P29	94
	P30	95
	P42	107
	P44	109
García Cervera, Marina	O12	45
García López, José Luis	O6	37
	P2	67
	P24	89
	P37	102
García Román, Miguel	P51	116
	O16	53
García, Ana	P21	86
García, Pilar	P69	134
García-Cancela, Paula	O5	36
García-García, Paz	O10	43
García-Martín, Javier	P11	76
García-Miró, Alejandro	P7	72

APELLIDOS, NOMBRE	COMUNICACIÓN	Nº PÁGINA
Garde, Edurne	O4	33
	P4	69
Garrido, María	P68	133
Garrido-Chamorro, Sonia	P1	66
	P18	83
	P29	94
	P30	95
	P44	109
Gegúndez Cámara, María Isabel	P42	107
	P14	79
Genilloud, Olga	P12	77
	P43	108
Gil-Serna, Jéssica	O17	56
Ginestá Anzola, Anahí	P31	96
	P36	101
Glieder, Anton	P61	126
Gómez-Albarrán, Carolina	O17	56
González Alfonso, José Luis	P58	123
González, Alberto	P48	113
González, Gloria	I7	46
	P3	68
González, Ignacio	P12	77
González, Juan P	P19	84
González-Benjumea, Alejandro	P53	118
González-Fornell, José Manuel	P49	114
González-Rubio, Gema	O7	38
Gonzalo-Asensio, Jesús	I3	34
Grigoriev, Igor V.	P4	69

APELLIDOS, NOMBRE	COMUNICACIÓN	Nº PÁGINA
Guallar, Victor	I1	28
	O1	30
	P5	70
	P49	114
	P61	126
	P62	127
Guerra-Mas, Gerard	P3	68
Guerrero Jiménez, José Manuel	P39	104
Guillén, Francisco	P67	132
Guillén, Marina	I7	46
	O13	49
	P3	68
	P61	126
Guirado-Mendoza, Luna	I6	41
Gutiérrez Rada, Camilo	P72	137
Gutiérrez, Ana	P53	118
	P61	126
Gutiérrez-del-Río, Ignacio	P17	82
Heikkilä, Matti	P61	126
Hernández Cutuli, Manuel	P14	79
	P26	91
Hernández Herreros, Natalia	O15	52
Hernández-Fernández, Gabriel	O6	37
Hidalgo Huertas, Aurelio	P8	73
	P10	75
	P13	78
Honda, Yoichi	P4	69
Ibáñez, Ana	P18	83
	P29	94
	P30	95
	P44	109
Ibero Caballero, Juan	P51	116

APELLIDOS, NOMBRE	COMUNICACIÓN	Nº PÁGINA
Iglesias Navas, María	P72	137
Iglesias, Raquel	P48	113
Intiquilla, Arturo	O20	59
Javadi, Farzaneh	P9	74
	P32	97
Jiménez Aliaga, Karim	O20	59
Jiménez López, Concepción	P39	104
Jiménez, Idoia	O4	33
	P4	69
Jiménez-Barbero, Jesús	P56	121
Jiménez-Nava, Raziel Arturo	P52	117
Jurado, Andrea	P69	134
Kaminski, Pierre Alexandre	P10	75
Kessi-Pérez, Eduardo I.	P70	135
Kidibule, Peter	P46	111
	P54	119
Lail, Kathleen	P4	69
Lara-Guillén, Andrés J.	P31	96
	P36	101
Lavilla García, Beatriz	O8	39
Lazúen López, Guillermo	P38	103
Lecourt, Michel	P61	126
Ledesma-Amaro, Rodrigo	P28	93
Letek, Michal	P9	74
	P32	97
Linde, Dolores	P53	118
	P63	128
Lipzen, Anna	P4	69
Llano Verdeja, Jesús	P9	74
	P32	97
Lombó, Felipe	O3	32
	P17	82

APELLIDOS, NOMBRE	COMUNICACIÓN	Nº PÁGINA
Lončar, Nikola	P61	126
López, Álvaro	P9	74
	P32	97
López, Daniel	P69	134
López-Rodríguez, María del Mar	I6	41
Lorente Arévalo, Álvaro	P8	73
	P13	78
Lorente-Torres, Blanca	P9	74
	P32	97
Lorenzo-Sánchez, María	P33	98
Lucas Elío, Patricia	P20	85
Luengo, José María	P1	66
	P42	107
Maestro, Beatriz	P37	102
Manetsberger, Julia	O11	44
Manteca, Ángel	O5	36
	P17	82
Marín, Irma	P34	99
Marquina, Domingo	O18	57
Martín Brieva, Humberto	O8	39
Martín, Carlos	I3	34
Martín, Jesús	P43	108
	P26	91
Martín, Olga	P67	132
	O12	45
Martínez, Ángel T.	O1	30
	P5	70
	P49	114
	P53	118
	P61	126
	P62	127
Martínez Cazorla, Andrea	P63	128

APELLIDOS, NOMBRE	COMUNICACIÓN	Nº PÁGINA
Martínez, Claudio	P70	135
Martínez, John	P13	78
Martínez, María Jesús	I9	48
	P40	106
Martínez, Mireia	O1	30
	P5	70
	P49	114
Martínez-Carrasco, Ana	P43	108
Martínez-Cortizas, Antonio	I6	41
	P46	111
Martínez-Ranz, María	P54	119
	P46	111
Martins, Carlos M.	P50	115
Martos, Bernabé	P12	77
	P9	74
Mateos, Luis	P32	97
	P19	84
Méndez-Líter, Juan	P55	120
	P37	102
Mendieta Fernández, Marcos	P37	102
Merroun, Mohamed	P38	103
Míguez, Noa	P56	121
Minebois, Romain	Conferencia de clausura	63
Mohedano, Ángel F.	O9	42
Molina Guijarro, Jose Manuel	P14	79
	P26	91
Molina Martín, María	O8	39
	O7	38
Molpeceres, Gonzalo	P6	71
	P45	110
	P64	129
Molpeceres-García, Francisco Javier	P7	72
Monedero, Vicente	P57	122

APELLIDOS, NOMBRE	COMUNICACIÓN	Nº PÁGINA
Montero Villacorta, Laura	P32	97
Montes Bayón, María	O5	36
Morán Cacho, Ramiro	P35	100
Moreno García, Mercedes	P58	123
Moreno, Antonio David	P28	93
	P48	113
Mourenza, Álvaro	P9	74
	P32	97
Moya Ramírez, Ignacio	O16	53
Muñoz, Rubén	O1	30
	P5	70
	P49	114
Muñoz-Sánchez, David	O13	49
Murguiondo Delgado, Carlos	P59	124
Narmontaite, Egle	P60	125
Navarro Llorens, Juana María	P24	89
Navascués, Eva	O18	57
Negro, María José	P28	93
Nicolas, Irina	P66	131
Ocampos, Isabel	P49	114
	P64	129
Oliva, José M.	P48	113
Olivera, Elías R.	P1	66
	P18	83
	P29	94
	P30	95
	P42	107
	P44	109
Ortega, Carmen	P10	75
Ortiz, Leticia	P68	133
Oves-Costales, Daniel	P12	77

APELLIDOS, NOMBRE	COMUNICACIÓN	Nº PÁGINA
Pagán-Muñoz, Aránzazu	P36	101
	P31	96
Pardo, Isabel	I5	40
	P22	87
	P23	88
Paredes-Ortiz, Ana Isabel	P36	101
Pasero García, Beatriz	P37	102
Patiño, Belén	O17	56
Pereyra Camacho, Marco A.	I5	40
	P22	87
Pérez Arnaiz, Patricia	P8	73
Pérez, Gumer	O4	33
	P16	81
Pérez-Boada, Marta	P61	126
Pérez-Gutiérrez, Sara	P29	94
Pérez-Muelas, Eduardo	P38	103
Pérez-Valero, Álvaro	O3	32
Pérez-Villa, Omar	P1	66
Pernas-Pleite, Carlos	P34	99
Picart Faiget, Pere	O2	31
	P15	80
Pina-Pérez, María Consuelo	P66	131
	P71	136
Pisabarro, Antonio G.	O4	33
	P4	69
	P16	81
Plou, Francisco J.	P56	121
	P58	123
	P60	125
Poveda, Ana	P56	121
Pozo Gualda, Tamara	P39	104
Pozo-Rodríguez, Ana	P40	106
Pozuelo, Javier	P67	132

APELLIDOS, NOMBRE	COMUNICACIÓN	Nº PÁGINA
Prieto Jiménez, María Auxiliadora	O15	52
	P51	116
Prieto, Alicia	P7	72
	P19	84
	P47	112
	P55	120
Puyol, Daniel	P59	124
	O9	42
Quereda-Torres, Juan José	O9	42
	P71	136
Querol, Amparo	Conferencia de clausura	63
	P65	130
Quesada, Antonio	P25	90
Quizhpe Romero, Mercy Elisabeth	P12	77
Ramírez, Lucía	O4	33
	P4	69
	P16	81
Ramirez-Aroca, Lainy	Conferencia de clausura	63
Ramón, Daniel	I11	55
Restrepo Franco, Gloria María	P41	106
Revilla, José Antonio	P1	66
	P42	107
Reyes Almeida, Giovanna	P72	137
Reyes, Fernando	P43	108
Reynés, Yvonne M.	P50	115
Rincón Sanz, Rodrigo A.	P49	114
	P62	127
	P64	129
Rivero Buceta, Virginia	O15	52
Robledo-Mahón, Tatiana	I6	41
Rodà, Sergi	O1	30

APELLIDOS, NOMBRE	COMUNICACIÓN	Nº PÁGINA
Rodrigo, Dolores	P66	131
	P71	136
Rodríguez Carreiro, Marina	O15	52
Rodríguez Gómez, Juan Miguel	I10	54
Rodríguez Navarro, Alejandro B.	P39	104
Rodríguez, Alberto	O15	52
Rodríguez, Ana	P69	134
Rodríguez, Juana	P14	79
	P67	132
Rodríguez, Roberto	I7	46
Rodríguez-Colinas, Bárbara	P56	121
Rodríguez-Moimenta, Artai	Conferencia de clausura	63
	P53	118
Romero, Antonio	P63	128
	P53	118
Romero, Elvira	I8	47
	I7	46
Romero, Óscar	O13	49
	P3	68
Roscales, Gabriel	P4	69
Ruiz Fresneda, Miguel Ángel	P38	103
	O1	30
	P5	70
	P49	114
	P53	118
	P61	126
Ruiz-Dueñas, Francisco Javier	P62	127
	P63	128
	P64	129
	P64	129
Ruiz-Umaña, Jusdin	O4	33
Sainz, Carlos	P37	102
Saiz-Álvarez, Laura	P10	75

APELLIDOS, NOMBRE	COMUNICACIÓN	Nº PÁGINA
Salazar, Daniel	P1	66
	P42	107
Sánchez Toro, Óscar Julián	P41	106
Sánchez, Pilar	P12	77
Sánchez-Amat, Antonio	O12	45
	P20	85
Sánchez-Ruiz, María Isabel	P63	128
Santamaría Sánchez, Ramón I.	P11	76
	P33	98
	P35	100
	P43	108
Santillana, Elena	P53	118
	P63	128
Santos Moriano, Paloma	P56	121
Santos, Antonio	O18	57
Santos, Xiomara	P26	91
	P67	132
Sanz García, Eugenio	O15	52
	P51	116
Sanz Mata, David	P7	72
Sanz, Jesús Miguel	P37	102
Schürmann, Martin	P61	126
Serna-Diestro, Juan	O3	32
Serrano Pelejero, Cristina	O10	43
Serrano, Rachel	P12	77
Sevilla, Roberto	P64	129
Simón, Oihane	P16	81
Soria Rodríguez, Carlos	O11	44
Soto Varela, Zamira E.	P72	137
Tomás, María del Mar	I4	35
Tormo, José R.	P12	77
	P43	108

APELLIDOS, NOMBRE	COMUNICACIÓN	Nº PÁGINA
Troitiño-Jordedo, Diego	Conferencia de clausura	63
Uceda Domínguez, Carlos	P58	123
Valdez-Narváez, María Inés	P71	136
Valencia, Ana	P27	92
Valero, Clara	O17	56
Valverde-Cañas, Ángel	O9	42
van Lithaut, Aurélien	P38	103
van Rhijn, Norman	O17	56
Vasco Cárdenas, María Fernanda	P1	66
	P18	83
	P39	104
	P30	95
	P42	107
	P44	109
Vázquez, Covadonga	O17	56
Vega Benites, Shersy	P72	137
Velázquez, David	P25	90
Vicente, Gemma	P37	102
Vicente, Javier	O18	57
Villar, Claudio J.	O3	32
Vind, Jesper	P45	110
Viña-González, Javier	O14	51
Virto, Raquel	P68	133
Wick, Lukas	P40	106
Wörmer, Lars	P25	90
Zavaleta, Amparo Iris	O20	59
Zúñiga, Manuel	P57	122



CMIBM'24 • MADRID

10 • 12 Junio 2024

