

Obtención de Nuevas Enzimas para la Producción de Biodiesel y Bioetanol mediante Técnicas Metagenómicas

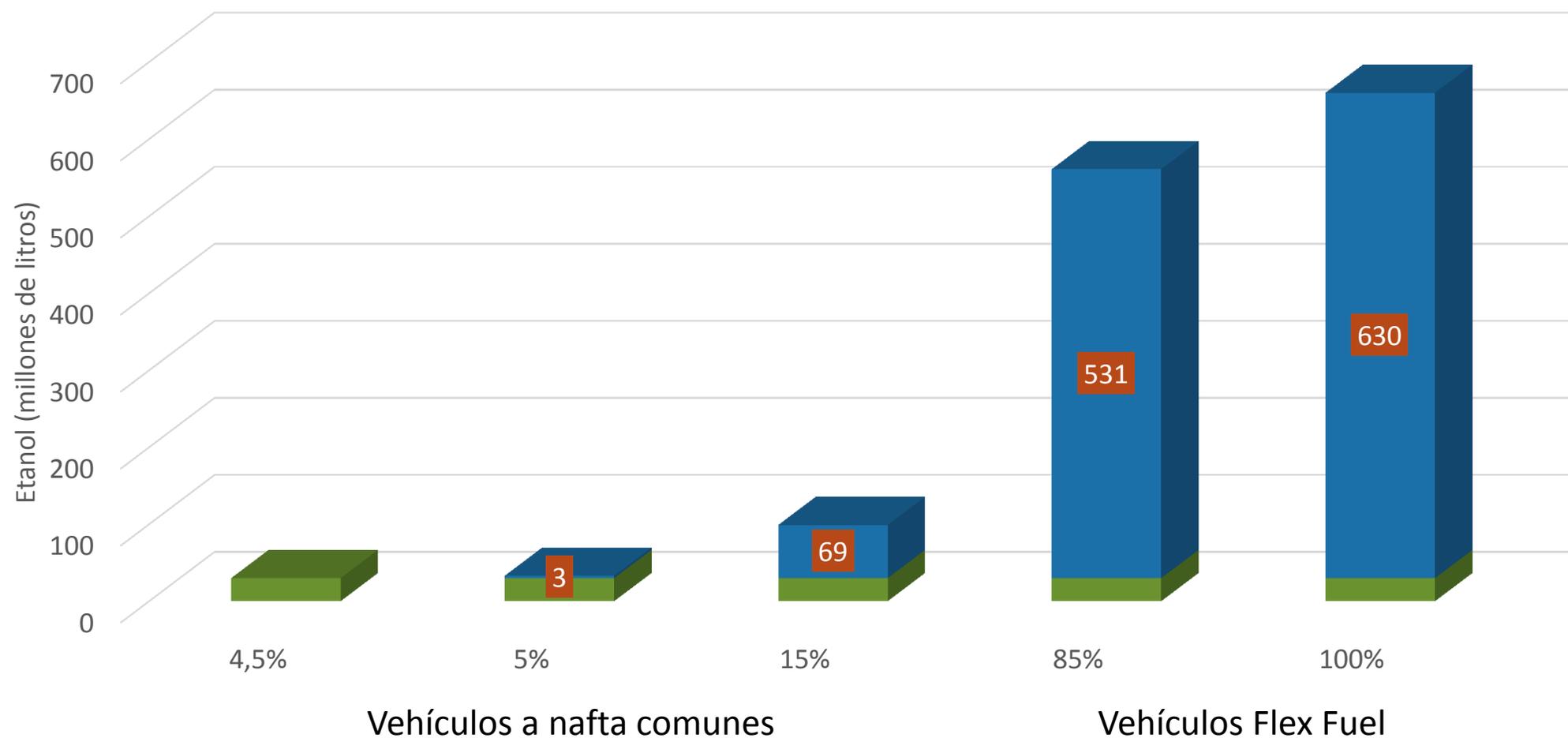
Inés Loaces, Cecilia Rodríguez, Vanesa Amarelle, Francisco Noya

Departamento de Bioquímica y Genómica Microbianas

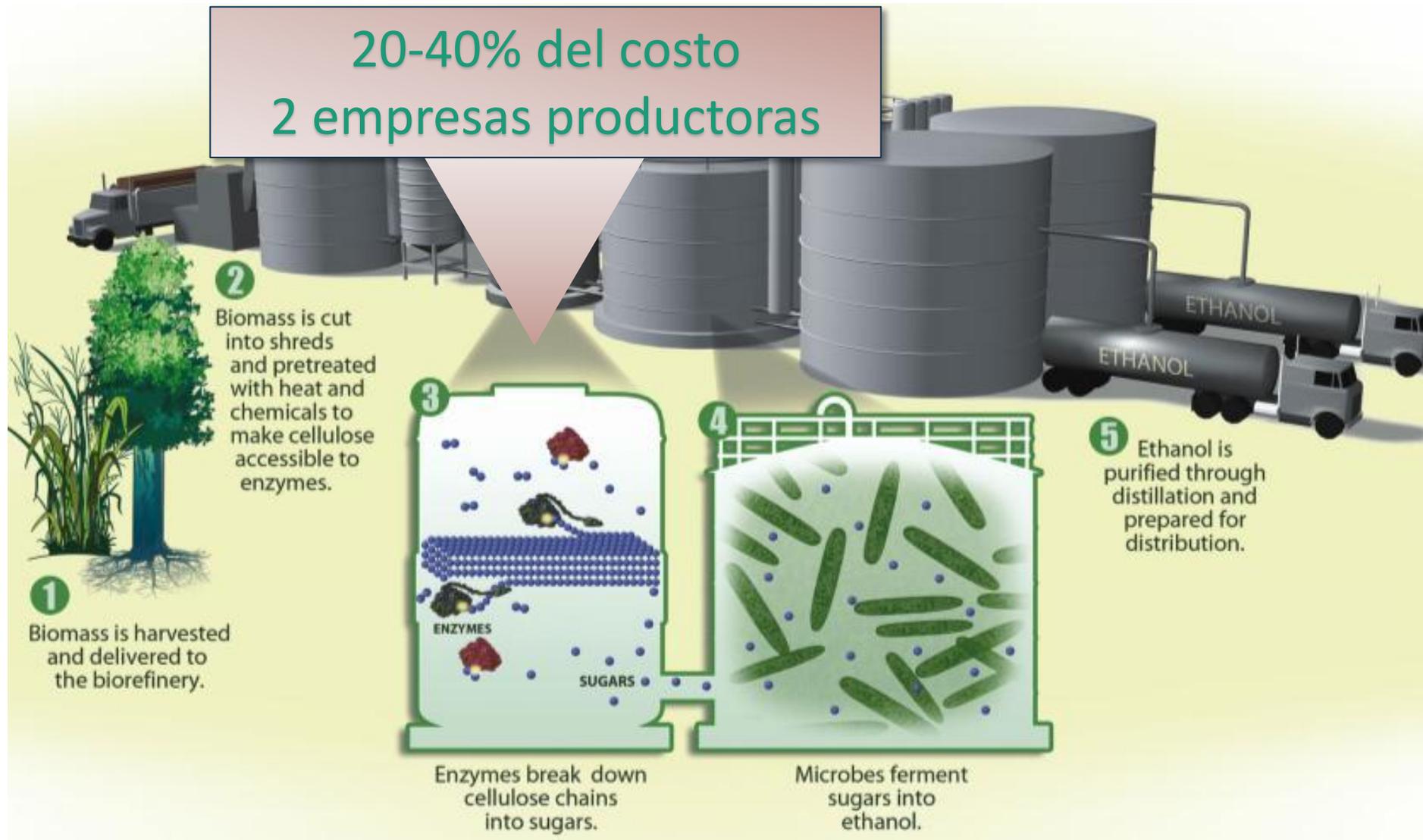
Instituto de Investigaciones Biológicas “Clemente Estable”



¿Cuánto bioetanol necesita Uruguay?



Lignocelulosa a Etanol



Objetivo

Desarrollar enzimas nacionales que permitan hacer económicamente viable la conversión de biomasa en etanol.

Estrategia

- Aprovechar toda la diversidad genética de una comunidad bacteriana especializada mediante la metagenómica funcional.
- Analizar todos los organismos, sean cultivables *in vitro* o no.
- Seleccionar las mejores enzimas y expresarlas en cepas industriales especializadas en convertir azúcares sencillos en etanol.

Construcción de bibliotecas metagenómicas

Extraer el ADN

Seleccionar por tamaño

Clonarlo en fósmidos pCC1FOS

Empaquetarlos in vitro e infectar *E.coli* EPI300

Seleccionar aquellas colonias que adquirieron funciones de interés

Comunidades Microbianas





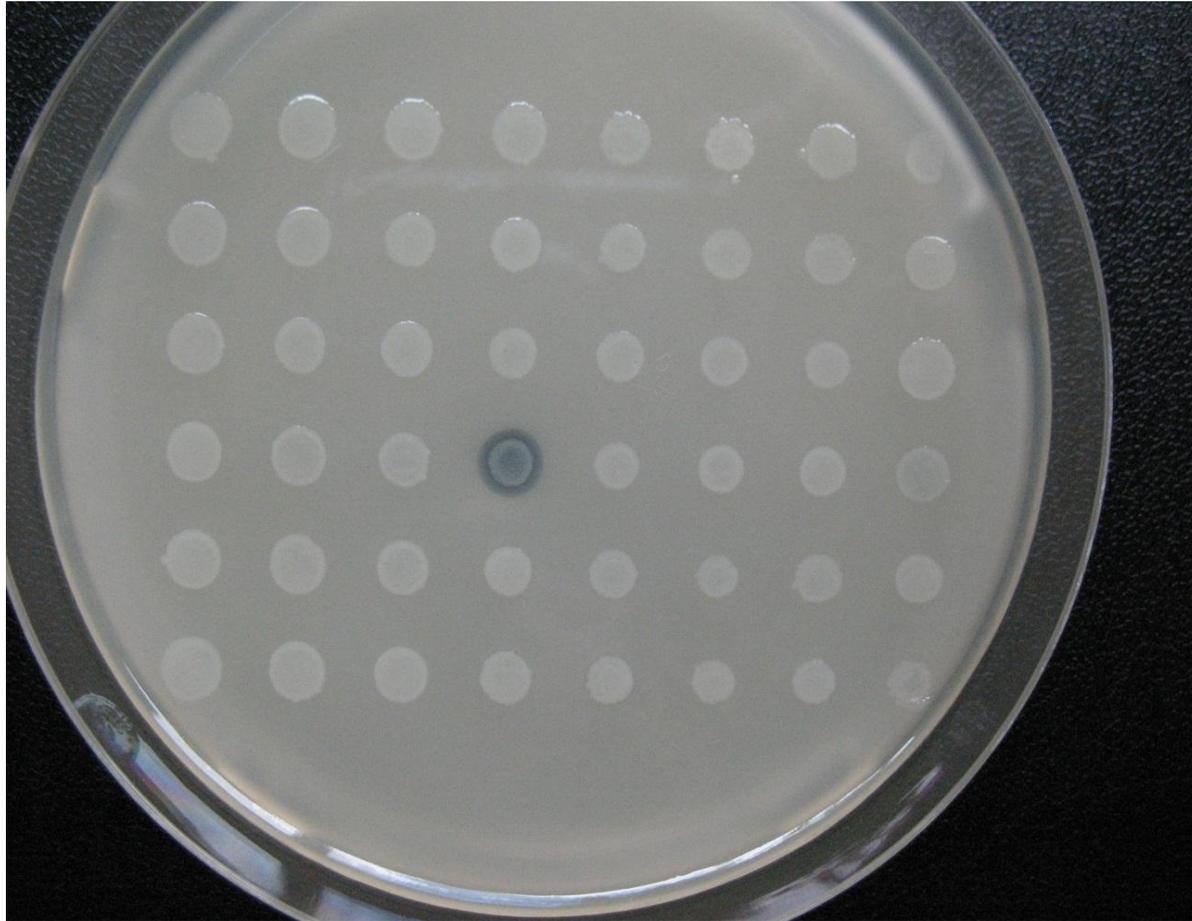
*Departamento de Ingeniería de Reactores
Facultad de Ingeniería
Universidad de la República*

Selección

Tamaño de las bibliotecas: 30.000 clones cada una, 42 kbp por clon

Función	Medio
Celulasas	Avicel o CMC, revelado con Rojo Congo Avicel como única fuente de carbono
Hemicelulasas	Xilano de Avena, revelado con Rojo Congo
Esterasas/Lipasas	Tributirina Trioleína/rodamina

Lipidas



Celulasas



Actividad celulolítica



Papel de filtro



Bagazo de caña de azúcar

Cantidad de clones identificados

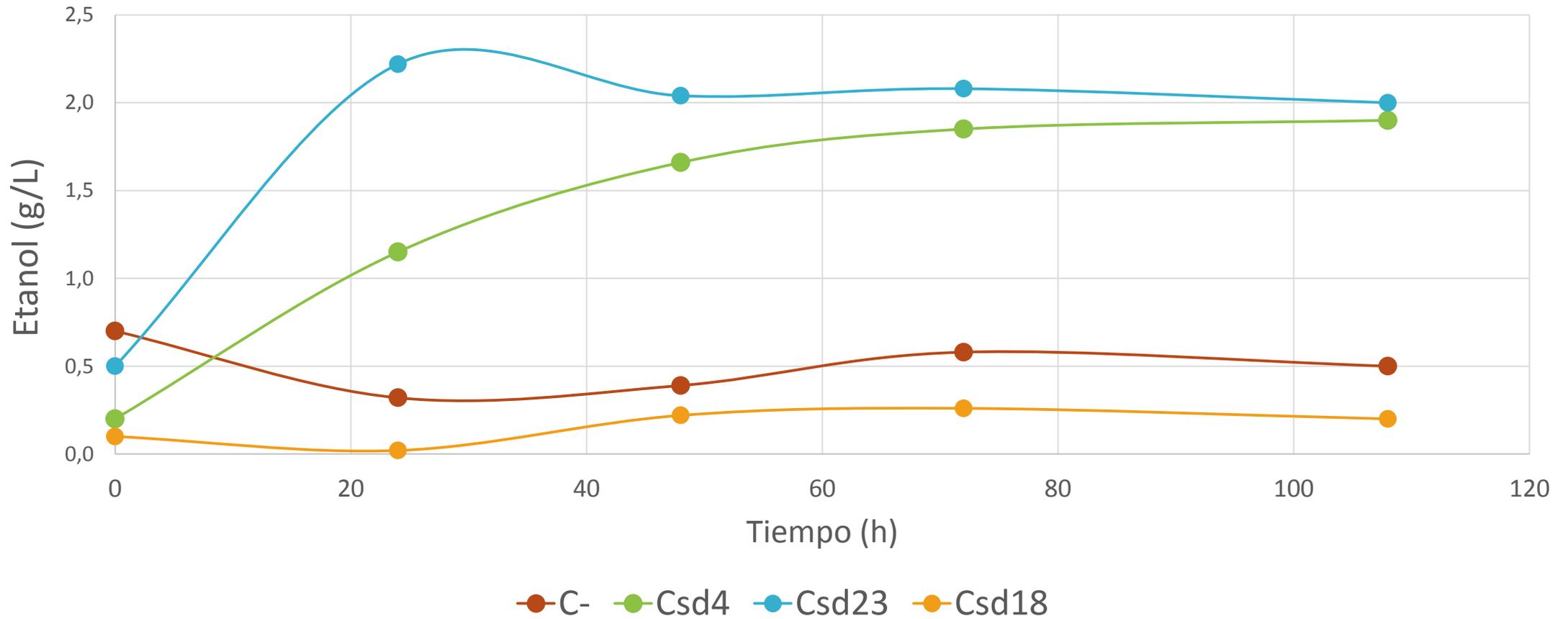
Función	Rumen	Lodos de bioreactores
Celulasas	21	6
Hemicelulasas	5	4
Esterasas/Lipasas	11	6

Genes identificados por secuenciación masiva

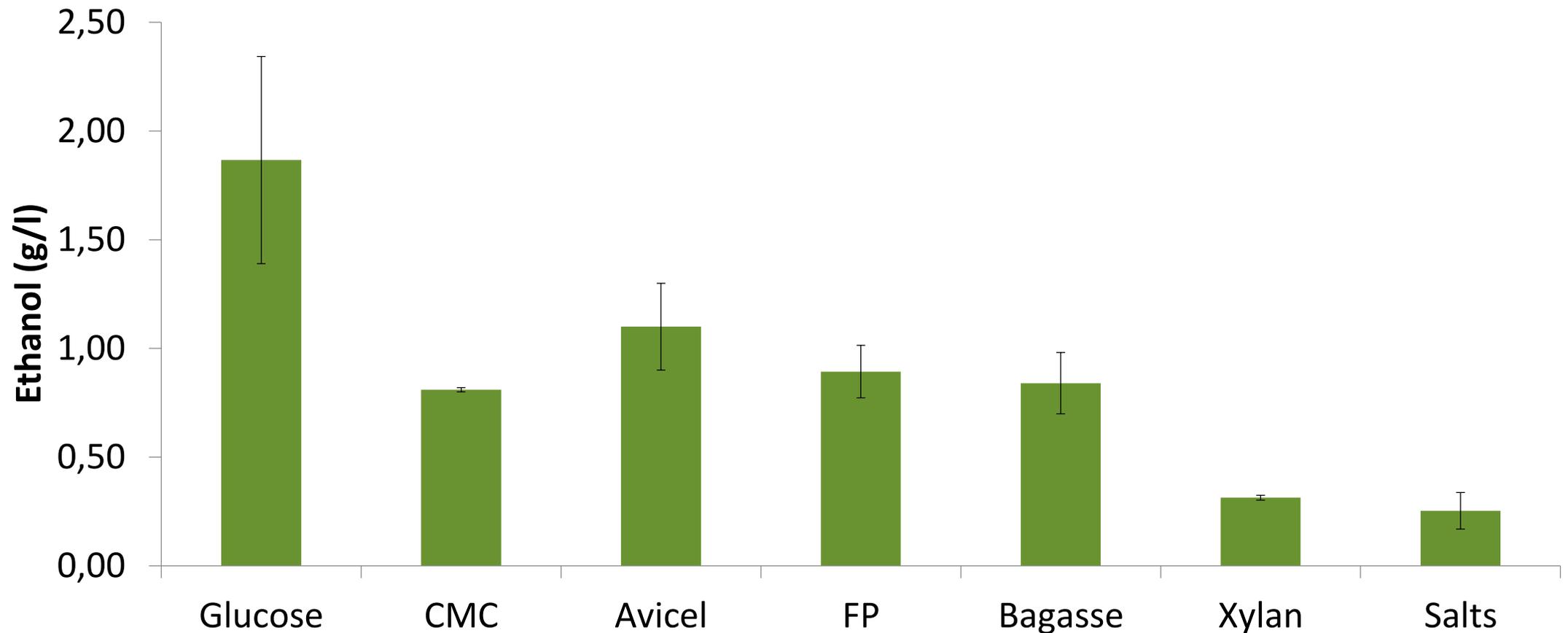
ORF	Predicted function	CAZy
Xil3_c1_87	Xylanase, arabinofuranosidase	GH43,62,32,68
Xil3_c1_45	Xylanase, arabinofuranosidase	GH43,62,32,68
Xil3_c1_71	BACON-glucanase	GH5
Csd6_c1_40	BACON-glucanase	GH5
Csd9_c1_5	Endoglucanase	GH5
Csd8_c5_17	β -xylosidase	GH43
Csd18Uruguay_c1_59	Endoglucanase	GH5,16
Csd4_endoG	Endoglucanase	GH5
Csd4_xyl	β -xylosidase	GH43
Csd4_lac	Laccase / Cu-oxydase	AA1

Conversión de celulosa en etanol

Etanol a partir de celulosa (1% CMC)



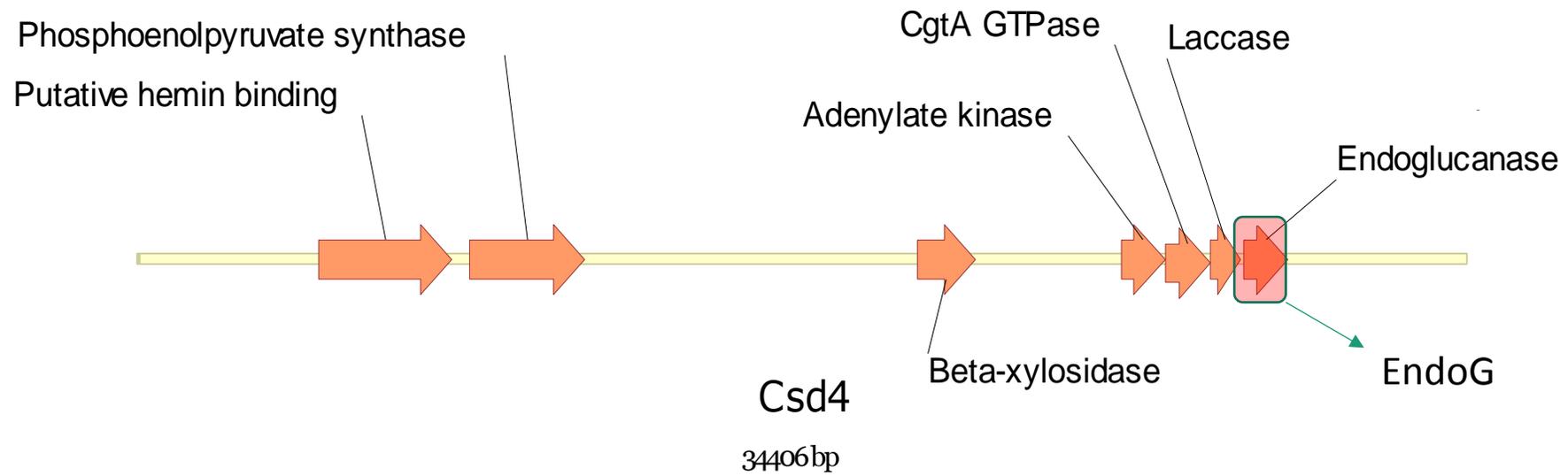
Producción de etanol por Csd4



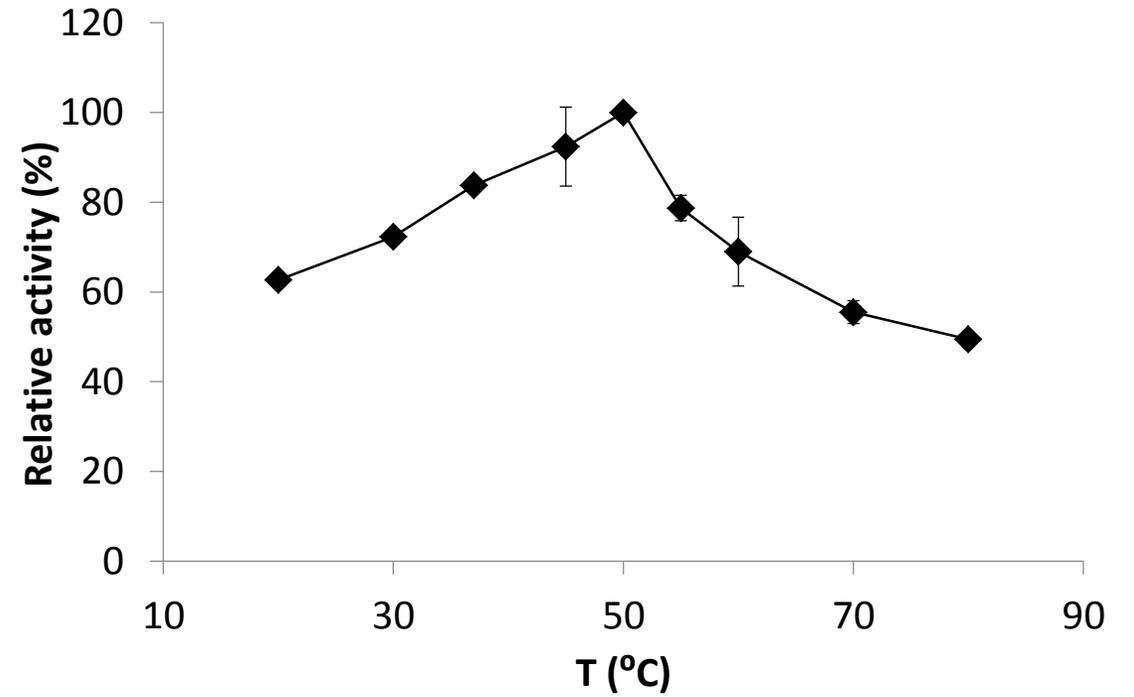
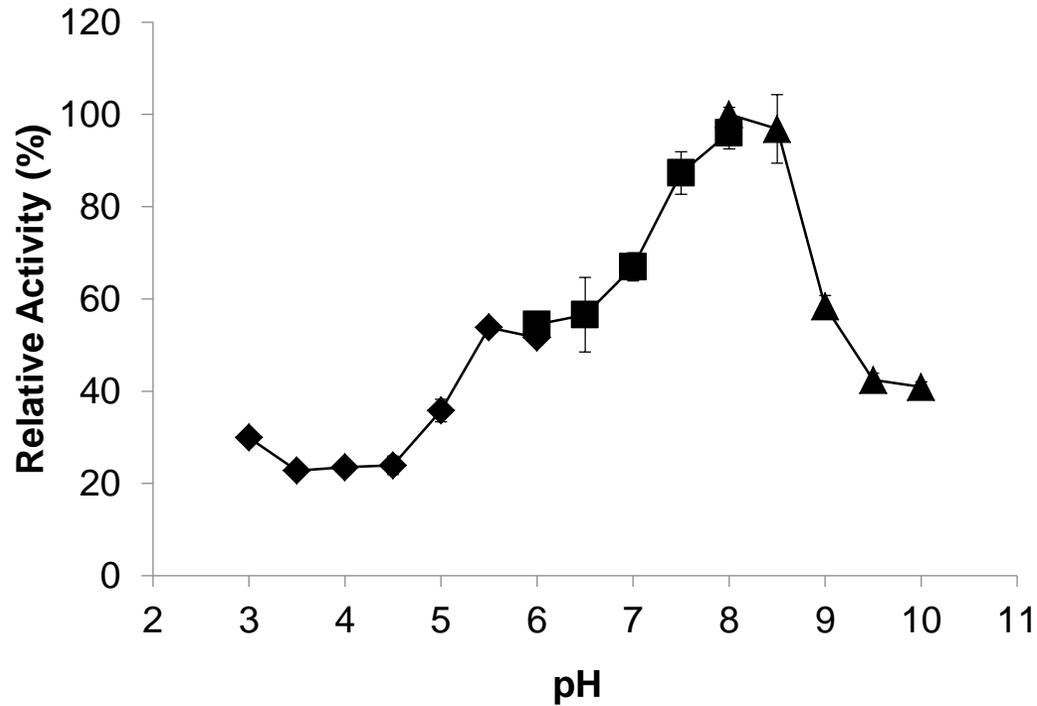
Sustratos al 1%, 48 horas, 37°C

Caracterización Enzimática

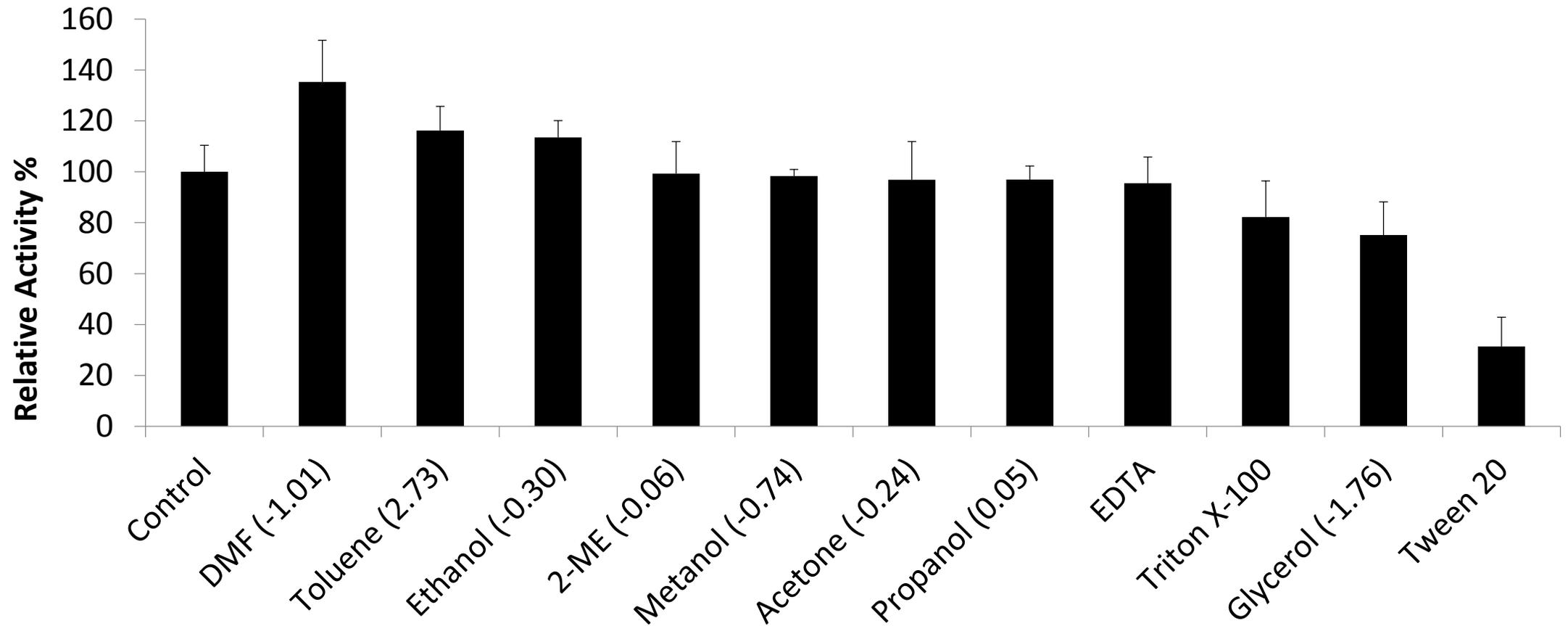
Csd4



pH y temperatura óptimos de EndoG



Actividad de EndoG en distintos solventes



Especificidad de EndoG

Sustrato	Actividad
CMC	+
Avicel	-
4-MUC	+
Celotetraosa	+
Xilano	+
Lichenan	-

Perspectivas

Perspectivas



Perspectivas



Switchgrass

Panicum virgatum



Pasto elefante

Pennisetum purpureum



Caña común

Arundo donax

✚ Pretratamientos físicos y/o químicos

✚ "CBP"

▬ Etanol

Agradecimientos

- BIOGEM

- Inés Loaces
- Cecilia Rodríguez
- Vanessa Amarelle
- Daniela Senatore
- Uriel Koziol
- Elena Fabiano
- Andrés Iriarte
- Federico Battistoni
- Raúl Platero
- Federico Rosconi

Unidad de secuenciación

- José Sotelo

- ANCAP

- Nikolai Guchin

- FING

- Liliana Borzacconi

- Frig. Pando

- Betiana Bouzas

- ANII

- Laura Barreiro

- UNAM

- Alfredo Martínez

- University of Florida

- Lonnie Ingram
- Ismael Nieves

