

Los microorganismos extremófilos y sus aplicaciones biotecnológicas

Extremophiles microorganisms and their biotechnological applications



ALUMNO

Lyudmila Krasimirova Trilova

TRABAJO FIN DE GRADO 20TFG127

Grado en Biología, Universidad de Salamanca

Junio, 2020

ÍNDICE

ABSTRACT.....	<i>Pág. 3</i>
1. Biodiversidad de extremófilos.....	<i>Pág 5</i>
• Categorías de extremófilos	
• Distribución de los extremófilos	
2. Adaptaciones a ambientes extremos.....	<i>Pág 8</i>
• Adaptaciones proteicas y otras a los ambientes extremos	
3. Extremozimas y potencial industrial.....	<i>Pág 14</i>
• Ejemplos específicos	
4. Aplicaciones biotecnológicas y problemas causados por los extremófilos.....	<i>Pág 17</i>
• Industria farmacéutica, cosmética y textil	
• Industria alimentaria	
• Medio ambiente y agricultura	
• Medicina	
• Ocio	
• Radioprotección	
• Biocombustibles	
5. Conclusiones.....	<i>Pág 23</i>
6. Bibliografía.....	<i>Pág 24</i>

RESUMEN

El término “extremófilo” es antropocéntrico. Describe a cualquier organismo capaz de crecer de forma óptima bajo condiciones ambientales (temperatura, pH, radiación, etc) extremas, es decir, condiciones consideradas hostiles, desde una perspectiva humana, para nosotros y la gran mayoría de organismos vivos que conocemos. El avance en los estudios de ecología y taxonomía microbiana ha permitido explorar los ambientes “extremos” y describir numerosos microorganismos extremófilos. En concreto, el estudio de sus propiedades estructurales y fisiológicas es de lo más fascinante, ya que se encuentran completamente adaptados, de forma altamente selectiva, a unas condiciones ambientales extremas. Con estas características, los extremófilos resultan idóneos para explorar su potencial en la biotecnología, ya que una gran parte de procesos biotecnológicos se desarrollan bajo condiciones extremas. Se han encontrado numerosas aplicaciones biotecnológicas para los extremófilos: permiten optimizar los procesos industriales y descubrir nuevos procesos más eficientes, comprender y conocer mejor el origen y el límite de la vida, pero también tendrían el potencial de generar un enorme impacto en nuestra forma de vida en el futuro, por ejemplo, con el desarrollo de los biocombustibles.

Palabras clave: extremófilo - extremozimas - biotecnología - adaptación

ABSTRACT

The term “extremophile” is mainly considered an anthropocentric one. It describes any organism able to grow optimally in extreme environmental conditions (temperature, pH, radiation, etc), i.e hostile conditions, from human perspective, and also for most of the living organisms we know. The development of the methodology used in microbiological ecology and taxonomy, allowed us to explore “extreme” environments and describe a wide range of extremophiles microorganisms. Particularly, structural and physiological features of the extremophiles organisms are the most interesting scientific discovery, as they are completely adapted at extreme environmental conditions, in very selective way. For this reason, extremophiles are very interesting for the developing of the biotechnology, because many of the biotechnological processes are performed in extreme conditions. Wide range of biotechnological applications are found for the extremophiles: optimization of industrial

processes and discover new more efficient processes, understand better both the origin and the limit of life, but they also have enough potential to produce a huge impact in our future lives, for example, with the development of biofuels.

Key words: extremophile - extremozymes - biotechnology - adaptation

1. Biodiversidad de extremófilos

En primer lugar, es importante destacar que los extremófilos son “extremos” desde un punto de vista humano. Se han encontrado en ambientes inhabitables para los humanos, donde no solo habitan sino que crecen y prosperan en esas condiciones extremas, hasta el punto de ser sus nichos preferidos. Los extremófilos no solo pueden sobrevivir y tolerar estas condiciones extremas, también han sido capaces de desarrollar numerosas adaptaciones y **evolucionar** donde otros organismos no han sido capaces ([Coker, 2019](#)).

Existen extremófilos en todos los dominios de la vida. Tenemos extremófilos que pertenecen al dominio Bacteria, como puede ser *Psychromonas ingrahamii*, muchos ejemplos del dominio Archaea, como *Haloferax volcanii*, pero incluso tenemos representantes del dominio Eukarya, como pueden ser algunas algas o los conocidos tardígrados. Sin embargo, la gran mayoría son microorganismos procariontes, bacterias y arqueas, como es de esperar al ser los grupos más abundantes. A pesar de que la mayoría aún permanecen desconocidos, los humanos se han beneficiado de estos organismos de muchas formas, y aún así les queda mucho más por ofrecer ([Coker, 2019](#)).

• Categorías de extremófilos

Los extremófilos existen en un amplio abanico de condiciones ambientales y tienen algunas capacidades metabólicas únicas y/o estructuras físicas para poder sobrevivir. Resulta interesante comprender como estos microorganismos usan varios sustratos y rutas metabólicas para prosperar y sobrevivir ([Rampelotto, 2016](#)). En la [Figura 1](#) podemos observar las condiciones a las que están adaptados los diferentes tipos de extremófilos en comparación con los microorganismos mesófilos que conocemos habitualmente ([Schröder, 2020](#)).

Las condiciones extremas que toleran y resisten son las siguientes :

- pH: Acidófilos (crecimiento óptimo a pH <3-4) Ej: *Leptospirillum ferriphilum*;
Alcalófilos (crecimiento óptimo a pH >10) Ej: *Natronomonas pharaonis*
- Concentración NaCl: Halófilos (Requiere por lo menos 1 M de sal para su crecimiento) Ej: *Haloferax mediterranei*
- Radiación ionizante: microorganismos radioresistentes Ej: *Deinococcus radiodurans*

- Altas presiones: Piezofilos (crecimiento óptimo a >40 MPa) Ej: *Marinitoga piezophila*
- Metales pesados: los metalotolerantes toleran grandes concentraciones de metales pesados. Ej: *Ferroplasma* y *Cupriavidus metallidurans*
- Falta de humedad: xerófilos capaces de crecer con una actividad del agua mínima y resistentes a grandes niveles de desecación. Ej: *Streptomyces atacamensis*
- Temperatura: Psicrófilos (<10 °C, más 20°C) Ej: *Pseudomonas antarctica*; Termófilos (60-85°C) Ej: *Thermus thermophilus*; Hipertermófilos (>80 °C) Ej: *Thermotoga maritime*

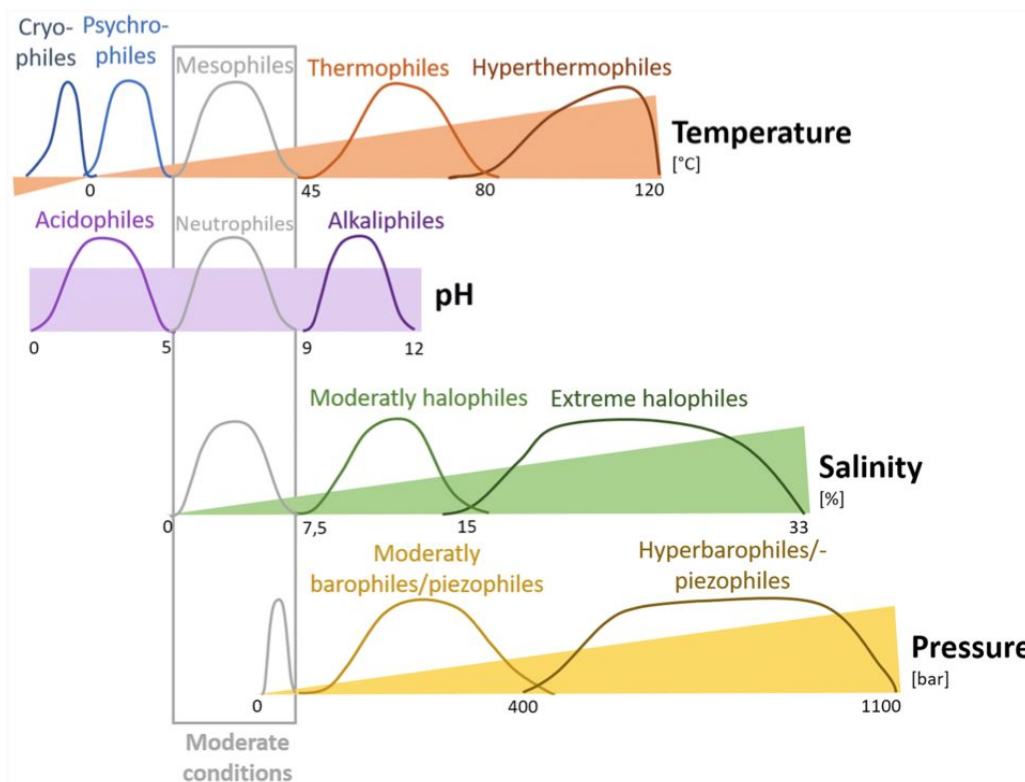


Figura 1. Condiciones óptimas para el crecimiento de los extremófilos en comparación con los microorganismos mesófilos (moderate conditions) (Schröder, 2020).

Sin embargo, una gran parte de los extremófilos pueden pertenecer a varias de estas categorías, siendo poliextremófilos, organismos adaptados a más de dos condiciones extremas (Ej: *Natronomonas pharaonis* alcalófila y halófila). La mayor parte de la atención de los estudios es para los microorganismos procariotas. Sin embargo, debemos tener en cuenta la amplia evidencia de la existencia de poliextremófilos también eucariotas, como es el caso del alga roja *Cyanidioschyzon*, procariota unicelular acidófila (pH 0.2-3.5),

moderadamente termófila (38-57 °C), y con una gran tolerancia a arsénico ([Horikoshi, 2010](#)).

- **Distribución de los extremófilos**

Los ambientes extremos existentes en La Tierra han aumentado en las últimas dos décadas coincidiendo con el desarrollo económico e industrial de nuestras sociedades, de hecho, aún siguen aumentando. Las razones por las que esto ocurre son muy diversas y pueden ser tanto naturales como provocadas.

¿Dónde se encuentran los ambientes extremos? En la [Figura 2](#) tenemos una representación de la diversidad de ambientes extremos ([Merino, 2019](#)).

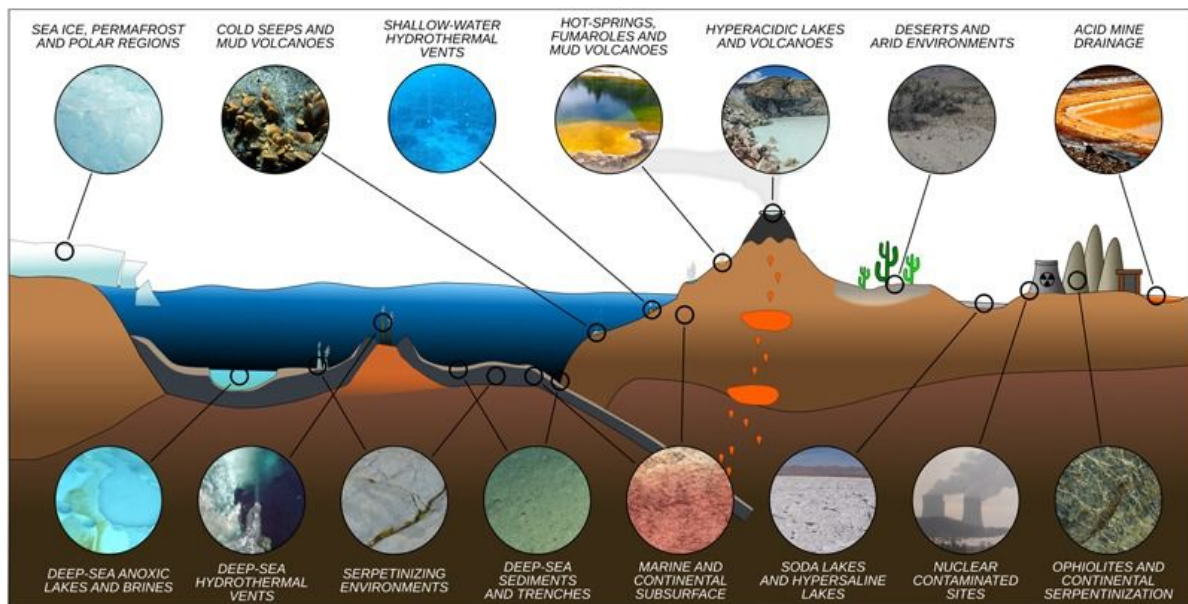


Figura 2. Representación idealizada de una sección de La Tierra mostrando la diversidad de ambientes extremos y su localización aproximada. Observamos ambientes muy dispares entre sí, desde regiones polares hasta volcanes, desiertos, y profundidades marinas ([Merino, 2019](#)).

- 1) Para comenzar, la actividad tectónica de placas y los límites existentes entre ellas, forman crestas y surcos en los océanos, volcanes y otros fenómenos hidrotermales. Las consecuencias pueden ser muy variables, pero a menudo son temperaturas extremas, pH, gases disueltos y metales.
- 2) Una gran parte de la superficie está cubierta por agua en estado sólido, formando lo que se denomina criosfera. Su dinámica es muy compleja y tiene gran influencia sobre la precipitación, hidrología y la circulación oceánica. Por otro lado, en las regiones donde la precipitación es muy baja (o nula), se desarrollan desiertos, cuya

aridez se puede definir como hiper-árido extremo en ocasiones. Ante estas circunstancias, se produce la formación de lagos salinos con agua estancada, que puede ser otro ambiente extremo.

- 3) La profundidad media de los océanos es de aproximadamente 3800 m, la presión elevada genera otro de los ambientes extremos.
- 4) Ambientes oligotróficos (muy baja concentración de nutrientes). Aquí se incluyen los océanos donde se ha agotado el hierro, nitrato, fosfato y los suelos tropicales con arenas blancas.
- 5) Por último, tenemos a los ambientes extremos debido a componentes químicos y/o físicos que causan toxicidad, por ejemplo, suelos con gran concentración de arsénico o lagos expuestos a una elevada radiación.

Estas descripciones incluyen la mayoría de los ecosistemas, que son resultado de procesos naturales a lo largo de un tiempo medido en escala geológica. Sin embargo, en tiempos más recientes, condiciones extremas similares o muy diferentes han sido impuestas como consecuencia del impacto de la actividad humana en el medio ambiente como la minería, la agricultura intensiva... Nuevos ecosistemas extremos se siguen descubriendo e investigando actualmente ([Horikoshi, 2010](#)).

Este trabajo tiene como **objetivo** comprender mejor a estos microorganismos un tanto desconocidos que son los extremófilos. Además, pretende revisar trabajos anteriores que evidencian la necesidad de seguir investigando a los extremófilos y así conseguir descubrir el enorme potencial biotecnológico que ofrecen a los humanos, y por supuesto, también evitar los perjuicios que puedan suponer.

2. Adaptaciones a ambientes extremos

Cada condición ambiental en particular hace que los organismos adquieran una variedad de adaptaciones, que los hace estables de manera única en ese ambiente concreto. En el caso de los extremófilos es todavía más importante al vivir en condiciones extremas, y por ello han tenido que desarrollar estrategias para evitar el deterioro de sus biomoléculas. Unos de los problemas importantes que pueden tener, es que la fluidez de la membrana disminuye a medida que disminuye la temperatura y que las proteínas se vuelven más rígidas en estas condiciones. Otro problema importante, sería que las

moléculas de ADN y proteínas se desnaturalizan a una temperatura superior a 70 °C. A continuación, veremos algunas de las estrategias que han desarrollado para solventar estos y otros problemas, centrándonos sobre todo en las adaptaciones de sus proteínas, ya que son las más interesantes desde un punto de vista biotecnológico.

- **Adaptaciones proteicas y otras a los ambientes extremos**

Las proteínas se pueden dañar o alterar debido a las concentraciones de macromoléculas, la fuerza iónica, el pH y la temperatura. Las proteínas se vuelven rígidas a temperaturas inferiores y se desnaturalizan a temperaturas elevadas. Por lo tanto, debe existir siempre un equilibrio entre flexibilidad y rigidez que permita el correcto funcionamiento de las proteínas, y este depende directamente de la temperatura. Esto nos sugiere la existencia de rutas reversibles. Además, el pH elevado altera las cargas eléctricas de los aminoácidos, y desestabiliza la estructura de la proteína. Sin embargo, las proteínas de los extremófilos son perfectamente funcionales bajo esas condiciones extremas.

Las adaptaciones que conllevan una estabilidad proteica en las diferentes condiciones en las que habitualmente no serían estables, solo se puede conocer estudiando los extremófilos, pero su cultivo en el laboratorio resulta tremendamente difícil debido a las condiciones tan extremas que requieren. Sin embargo, la gran cantidad de información procedente de la secuenciación genómica de estos organismos permite predecir las fases de lectura abierta u ORFs (open-reading-frame) y sus secuencias proteicas. Todo esto permite hacer predicciones de cómo estas proteínas mantienen la estructura y la estabilidad ante condiciones extremas. Veamos a continuación qué adaptaciones presentan algunos de los extremófilos. Como se indicará en los ejemplos, estas adaptaciones de las proteínas van en muchas ocasiones a la par con adaptaciones en otras moléculas (ADN, membranas..) y procesos fisiológicos ([Brininger, 2018](#)).

A continuación vamos a resaltar las adaptaciones más relevantes en algunos grupos:

- 1) **Termófilos:**

Sus adaptaciones más comunes para aumentar la estabilidad y funcionalidad proteica son las siguientes ([Brininger, 2018](#)):

- Poseer un gran núcleo hidrofóbico con un mayor número de residuos hidrofóbicos. Por ejemplo, se ha demostrado que la rodopsina termofílica

procedente de *Thermus thermophilus* tiene alteraciones tanto en el núcleo como en los aminoácidos superficiales, lo que hace al pigmento mucho más estable a altas temperaturas. Otro ejemplo lo encontramos en una proteína ribosomal procedente de *Thermococcus celer* en la que se observó que los residuos aumentaban la capacidad termal de la proteína, mientras que la mutación de las cargas superficiales de la alanina disminuían la capacidad termal.

- Mayor número de puentes disulfuro. Esto permite estabilizar la estructura terciaria y cuaternaria, evitando así la alteración y desnaturalización. Este método resultaría desfavorable en mesófilos debido al gran coste entrópico.
- Más interacciones iónicas. Cuánto mayor es el número de interacciones más difícil es que la proteína se desnaturalice ([Zhang, 2017](#)).

Una co-adaptación común de los termófilos es a los pH extremos, por lo tanto muchos termófilos van a ser también acidófilos. Sin embargo, esto no tiene porqué cumplirse siempre y un claro ejemplo de ello es *Pyrobaculum neutrophilum*, una arquea termófila pero no acidófila ([Zhang, 2017](#)).

Por último, veamos las adaptaciones adicionales a la estabilización de proteínas de un termófilo en concreto, *Thermus filiformis*. Análisis multi-ómicos permitieron identificar los cambios fisiológicos que seguía este microorganismo buscando la adaptación a la temperatura. Los mecanismos involucrados en la detoxificación de ROS (especies reactivas de oxígeno) por ejemplo, se activan a elevada temperatura para intentar eliminar el exceso de ROS y así disminuir el estrés térmico. Además, *Thermus filiformis* favorece la síntesis de thermozeaxantinas y thermobiszeaxantinas a elevada temperatura para incrementar la estabilidad de su membrana. El estrés térmico también afecta al metabolismo de carbohidratos. Durante el estrés térmico, *T. filiformis* redirige el flujo de carbohidrato de la glucólisis a la ruta de las pentosas fosfato para contrarrestar las perturbaciones del estado redox. Además, algunos metabolitos antioxidantes del ciclo TCA (ácidos tricarbónicos) son acumulados a elevada

temperatura, lo que demuestra que la ruta TCA juega un papel importante en la protección celular contra los ROS en condiciones de estrés ([Mandelli, 2017](#)).

2) Halófilos:

Viven en medios con condiciones iónicas extremas causadas por la alta concentración de iones de sodio, potasio y otros metales. Como organismos, pueden acumular solutos osmoprotectores, como pueden ser las sales inorgánicas y pequeñas moléculas orgánicas (como por ejemplo aminoácidos y azúcares) en el citoplasma hasta igualar la concentración osmótica externa, y así conseguir evitar el choque osmótico, al exponerse a un medio extremadamente hipertónico. Sin embargo, no es suficiente con evitar el choque osmótico, deben tener proteínas, ácidos nucleicos y otras moléculas capaces de funcionar en esas condiciones.

Las adaptaciones más comunes de las proteínas de los halófilos son las siguientes:

- Mayor cantidad de residuos ácidos en la superficie de la proteína, sobre todo ácido aspártico. La cadena lateral de ácido carboxílico compite con los cationes o moléculas de agua y puede unir cationes metálicos. Por lo tanto, puede prevenir la agregación a través de la repulsión electrostática y/o la hidratación de la proteína.
- Menor cantidad de residuos hidrofóbicos. Las interacciones hidrofóbicas aumentan en concentraciones salinas elevadas, y por lo tanto, se podría equilibrar con un núcleo hidrofóbico pequeño.
- Inserciones múltiples de aminoácidos y péptidos en la proteína para aumentar la flexibilidad. Son pequeñas secuencias proteicas (3-30 aminoácidos). El objetivo de esta adaptación no se conoce con exactitud, pero los estudios sugieren que podría aumentar la flexibilidad de la proteína bajo condiciones halófilas ([Brininger, 2018](#)).

Las proteínas de los halófilos probablemente también tengan rutas reversibles. Sin embargo, el tiempo de retorno podría ser lento, llegando a ser de unos días. Las proteínas halófilas podrían tener múltiples adaptaciones cruzadas, sobre todo al pH y la temperatura ([Brininger, 2018](#)).

3) Psicrófilos:

Estas proteínas necesitan desarrollar adaptaciones que aumenten su energía cinética, para así aumentar el poder catalítico de las enzimas y que la reacción se pueda producir a pesar de la baja energía del medio. Sus adaptaciones más comunes son las siguientes:

- Disminución de las superficies hidrofóbicas
- Disminuir interacciones estabilizadoras (puentes iónicos, puentes disulfuro, puentes de hidrógeno, etc).
- Mayor carga negativa general
- Preferencia por aminoácidos pequeños y bucles superficiales.

Las proteínas psicrófilas pueden tener multitud de adaptaciones cruzadas, como al pH y a condiciones halófilas ([Brininger, 2018](#)).

4) Piezófilos:

Las adaptaciones a los ambientes de presión extrema son muy similares en su mayoría a las adaptaciones de los otros extremófilos. En resumen, buscan el refuerzo de las estructuras celulares y la disminución de las moléculas dinámicas de las proteínas. Las adaptaciones proteicas más comunes de los piezófilos son las siguientes:

- Volumen reducido
- Pocas cavidades internas
- Pocas moléculas de agua dentro de las cavidades internas
- Menor cantidad de prolina y glicina. La hipótesis principal es que reducen la flexibilidad de la proteína reduciendo y desestabilizando hélices así como reduciendo el espacio conformacional ([Brininger, 2018](#)).

5) Acidófilos:

Los acidófilos usan gran variedad de mecanismos homeostáticos. En este caso, las adaptaciones de los acidófilos no se basan tanto en la estabilización de proteínas como hemos visto hasta ahora en el apartado, sino en otros procesos. En general, podemos decir que consisten en evitar la entrada de protones al interior del citoplasma y de eliminar aquellos protones que han podido entrar, así como sus efectos indeseados ([Baker-Austin, 2007](#)). Los principales mecanismos de adaptación de los acidófilos son los siguientes (representados en la [Figura 3](#)):

- I) Crear un potencial de membrana inverso que pueda parcialmente contrarrestar el flujo de protones hacia el interior citoplasmático. Una forma de generar este potencial de membrana inverso es mediante el transporte de potasio. Los transportadores de K^+ de tipo ATPasa predominan en el genoma de los acidófilos.
- II) La membrana celular es muy impermeable a los protones para así retardar el flujo.
- III) El gradiente de pH se mantiene mediante un exporte activo de protones que realizan los transportadores.
- IV) Hay una gran cantidad de transportadores secundarios en los genomas acidófilos. Así reducen la demanda energética necesaria para el bombeo.
- V) Presencia y viabilidad de enzimas y/o compuestos químicos capaces de secuestrar y unir protones.
- VI) Análisis comparativo de los genomas sugieren la existencia de una gran proporción de sistemas de reparación de ADN y proteínas en los acidófilos.
- VII) Los ácidos orgánicos que pueden funcionar como desacopladores en los acidófilos podrían ser degradados por aquellos acidófilos heterótrofos.

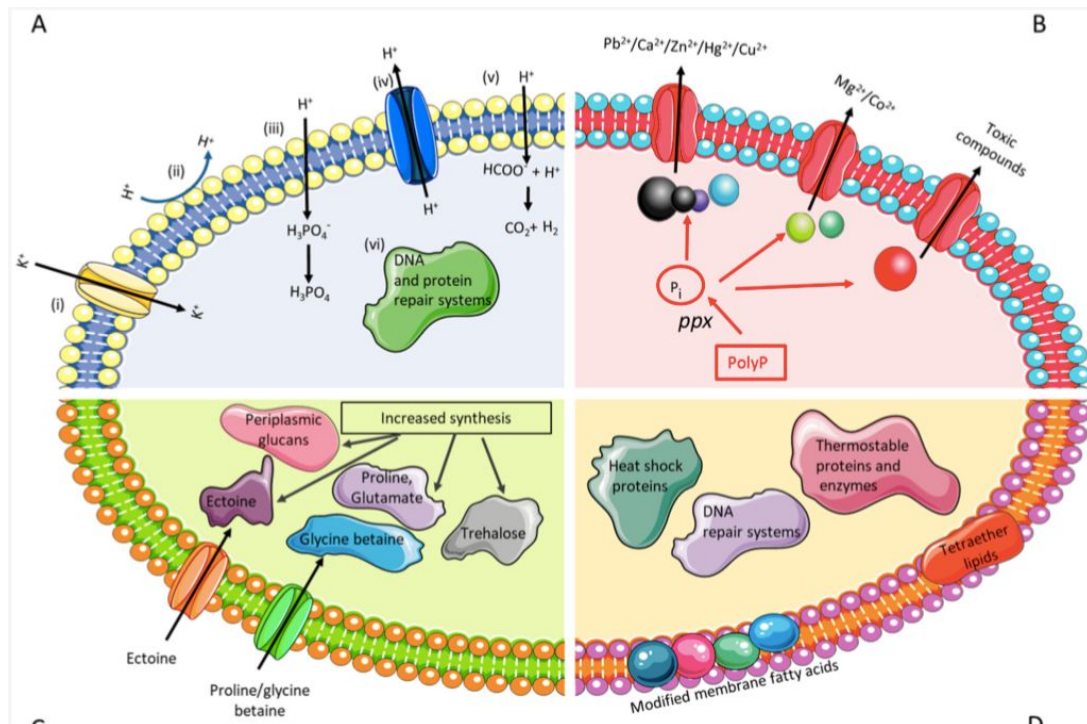


Figura 3. A) Adaptaciones de la membrana (I-III): impermeabilidad a H^+ , y crear un potencial de membrana inverso mediante transporte de K^+ . B) IV existencia de numerosos transportadores secundarios. C) V Enzimas y compuestos químicos capaces de secuestrar protones. D) VI Sistemas de reparación y proteínas en los acidófilos ([Gumulya, 2018](#)).

3. Extremozimas y potencial industrial

Desde que comenzó la producción de enzimas de forma masiva y a escala industrial en 1960, los microorganismos han tenido un papel crucial para el descubrimiento y desarrollo de nuevas enzimas para aplicaciones industriales ([Sarmiento, 2015](#)).

Sin embargo, la síntesis tanto química como enzimática de polímeros, farmacéuticos y diversos productos químicos en la industria requiere procesos, que además de ser costosos, son poco selectivos y producen productos secundarios indeseados. La gran mayoría de las reacciones ocurren bajo condiciones fuertes, incluyendo temperaturas extremadamente altas o bajas, pHs ácidos o básicos, o una elevada salinidad. Las enzimas mesofílicas no suelen ser las más adecuadas para las duras condiciones de las reacciones industriales, ya que no tienen la estabilidad necesaria y son fácilmente desnaturalizadas. En el pasado, el uso de biocatalizadores en reacciones orgánicas solo representaba una pequeña parte del potencial mercado industrial. Existe una clara necesidad de descubrir métodos nuevos ([Demirjian, 2001](#)). En la [Figura 4](#) podemos observar el pequeño rango de condiciones de temperatura, pH y concentración, en las que pueden funcionar las enzimas mesofílicas, en comparación con el amplio rango de condiciones que permite la biocatálisis con extremozimas ([Elleuche, 2014](#)).

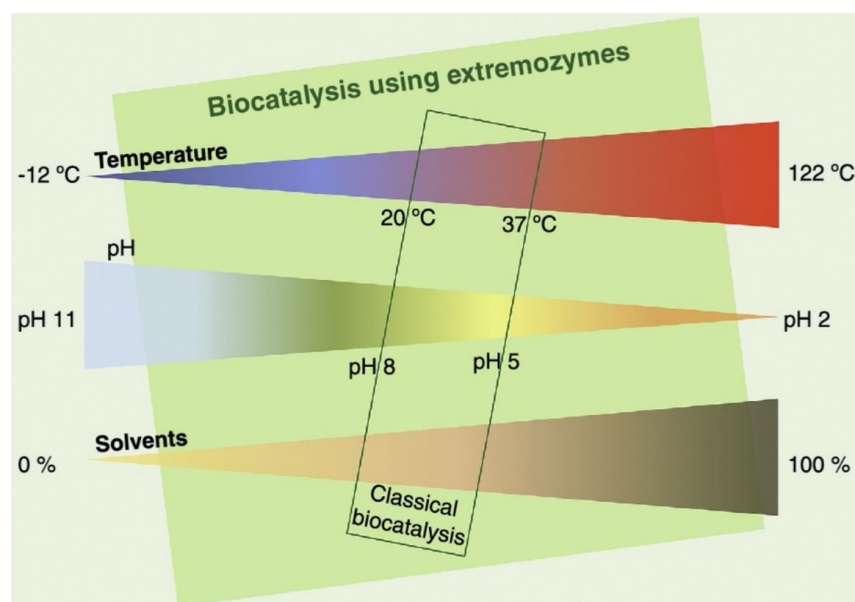


Figura 4. Comparación de las condiciones a las que se puede llevar a cabo la biocatálisis clásica respecto a las condiciones a las que se puede llevar a cabo la biocatálisis utilizando extremozimas ([Elleuche, 2014](#)).

El descubrimiento de los microorganismos extremófilos y sus enzimas (extremozimas) ha supuesto un gran impacto en el campo de la biocatálisis. Como ya

hemos visto anteriormente, estas proteínas han evolucionado para prosperar en ambientes extremos, siguiendo diferentes estrategias. Por lo tanto, estos organismos producen biocatalizadores únicos que pueden funcionar bajo condiciones que ninguno de sus contrincantes mesofílicos podría soportar. En consecuencia, se han podido desarrollar nuevos procesos industriales mejorados ([Demirjian, 2001](#)).

Actualmente, resulta relativamente fácil descubrir y desarrollar extremozimas mediante la bioprospección de los ambientes extremos y/o el uso de la ingeniería genética. La biocatálisis extrema ofrece una amplia gama de oportunidades para mejorar la tecnología enzimática actual. Además, resulta una opción bastante atractiva, sostenible, menos costosa y buena para el medio ambiente comparada con catálisis química tradicional ([Sarmiento, 2015](#)).

A continuación, en la [Tabla 1](#) vemos la clasificación de los extremófilos y las extremozimas que se pueden obtener de cada uno de ellos, además de algunos de los procesos industriales para los cuáles resultan útiles. Trataremos las aplicaciones industriales y biotecnológicas en próximos puntos con mayor detalle.

De momento, vamos a profundizar en algunos ejemplos específicos de extremozimas ([Littlechild, 2015](#)).

1) Enzima γ – Lactamasa de *Sulfolobus solfataricus*:

Sulfolobus solfataricus es una arquea termofílica que produce una enzima que resulta útil para obtener un enantiómero del sustrato no natural γ – lactam. Este enantiómero resulta un componente importante para construir un compuesto anti-VIH, el Abacavir. La enzima se clona y sobreexpresa en *E. coli* y más tarde se purifica hasta la homogeneidad. Con la enzima purificada se obtiene una preparación que se empaqueta en microrreactores. La gran estabilidad de la enzima inmovilizada tiene la ventaja de no desnaturalizarse en un sistema microrreactor.

2) Enzima anhidrasa α – carbónica de la bacteria termofílica *Thermovibrio ammonificans*:

Las anhidrasas carbónicas catalizan la hidratación reversible del dióxido de carbono en bicarbonato. La enzima de *Thermovibrio* posee un núcleo único en el centro de la molécula formado por dos puentes disulfuro intersubunidades y un

residuo de lisina de cada monómero. La estructura del núcleo protege los enlaces disulfuro de la reducción. Estas propiedades hacen que la enzima de *Thermovibrio* resulte adecuada para la captura de dióxido de carbono comercial.

3) Enzima deshalogenasa L-Haloácida de la arquea termofílica *Sulfolobus tokadii*:

La enzima deshalogenasa se ha clonado y sobreexpresado en *E.coli* y ha sido caracterizada tanto bioquímica como estructuralmente. Las principales aplicaciones de esta enzima son la producción ácido halo-carboxílico quiral y también en biorremediación. Los ácidos halo-carboxílicos quirales son importantes intermediarios en la industria química/farmacéutica. La enzima deshalogenasa de *Sulfolobus* tiene el potencial para resolver las mezclas racémicas de ácido bromocarboxílico y es capaz de catalizar la conversión de ácido 2-halo-carboxílico en ácidos hidroxialcanoicos, compuestos interesantes para la producción de los PHA, polímeros que se usan para fabricar bioplásticos.

4) Enzima carboxil-esterasa de la bacteria termofílica *Thermogutta terrifontis*:

Las esterases son enzimas comúnmente usadas en la industria. Esto se debe a su inherente estabilidad en solventes orgánicos y la habilidad de revertir libremente la reacción enzimática de hidrólisis a síntesis mediante la eliminación de agua. Las carboxil-esterasas catalizan la hidrólisis de enlaces éster de substratos hidrosolubles pequeños.

Tabla 1. Clasificación de extremozimas y algunas de sus aplicaciones industriales (adaptado de Dumorné, 2017)

Tipos	Extremozimas	Aplicaciones
Acidófilos	Amilasa, glucoamilasa	Producción de almidón
	Proteasas	Alimentación animal para mejorar la digestibilidad
	Celulasas	Eliminar material hemicelulósico del pienso
	Oxidasas	Desulfurización del carbón
Alcalófilos	Proteasas, celulosa	Detergentes, comida y pienso Fermentación de vino y cerveza, elaboración de pan y zumos
Halófilos	Proteasas	Síntesis de péptidos
	Deshidrogenasas	Biocatálisis en medio orgánico Síntesis química asimétrica
Psicrófilos	Proteasas	Detergentes, aplicaciones alimentarias
	Amilasa	Detergentes y pastelería
	Celulasas	Detergentes, pienso y textil

	Deshidrogenasas	Biosensores
Termófilos	Lipasa, proteasa	Detergentes Producción biodiésel Modificación sabor
	Amilasas, pululunasas, glucoamilasas, celulasas, xilanasas	Procesamiento de almidón, celulosa, quitina y pectina Hidrólisis de almidón Clarificación de zumos de frutas y verduras Fermentación masa de pastelería
	Quitanasas	Conversión de celulosa en etanol
	Xinalasas	Modificaciones de quitina para alimentación y productos sanitarios Maduración de queso
	Esterasas	Biorremediación, degradación y eliminación de xenobióticos y compuestos tóxicos
	ADN polimerasas	Biología molecular
	Deshidrogenasas	Reacciones oxidativas
	Manasas	Degradación de manosa o gomas

4. Aplicaciones biotecnológicas y problemas causados por los extremófilos

Los extremófilos tienen numerosas aplicaciones, pero también causan problemas, como contaminación, corrosión y formación de “biofilms”. Tanto para las aplicaciones como para los problemas, necesitamos conocer los mecanismos de comunicación que usan estos microorganismos para cumplir sus funciones. La comunicación célula a célula (quorum sensing: QS) es esencial para el desarrollo y supervivencia de estos microorganismos en los ambientes extremos en muchos casos. La mayoría de las bacterias confían en el quorum sensing para una expresión génica coordinada a densidades elevadas, que se basa en la producción y detección de moléculas de señalización conocidas como autoinductores. La importancia del QS es ampliamente estudiada en los mesófilos, sin embargo, apenas se conoce como funciona en los extremófilos ([Kaur, 2019](#)).

Uno de los problemas que pueden causar los extremófilos es la formación de biofilms termofílicos que causan grandes pérdidas económicas además de contaminación ambiental. Por lo tanto, surge el interés en desarrollar estrategias que interrumpan el quorum sensing del biofilm. Se encontró recientemente, una forma de

inhibir la biosíntesis de autoinductores utilizando MTAN (5`metil-tioadenosina) ([Guo, 2013](#)).

En el apartado anterior ya se han mencionado algunas de las aplicaciones biotecnológicas de determinadas enzimas. A continuación se ahondará en las aplicaciones de estos organismos y sus productos agrupadas por determinados ámbitos industriales, ambientales y de otro tipo.

- **Industria farmacéutica, cosmética y textil**

1. Un ejemplo, es un nuevo psicrófilo *Pseudomonas mandelii* descubierto en la Antártida capaz de producir alginato, compuesto con múltiples aplicaciones en la industria farmacéutica, cosmética, textil. Para la regulación de la síntesis de este alginato se utiliza el QS en *Pseudomonas* ([Kaur, 2019](#)).
2. Por otro lado, *Halomonas maura*, extremófilo que degrada compuestos aromáticos, produce exoenzimas y exopolisacáridos, y lleva a cabo la desnitrificación, también utiliza el QS para conseguir realizar estos procesos ([Kaur, 2019](#)).

- **Industria alimentaria**

Estudios recientes, evidencian resultados positivos a la hora de usar proteínas de nucleación del hielo (INP: ice nucleation proteins) procedentes de *Pseudomonas syringae*, *Erwinia sp.* y *Xanthomonas sp.*, para aumentar la temperatura a la que se produce este proceso. La nucleación es la etapa lenta de la cristalización, cuando se empiezan a formar los cristales. Al aumentar el punto de nucleación, se reducen consecuentemente los tiempos de congelación y el tamaño de los cristales. De esta forma, obtenemos una mejora en la calidad de la comida sólida congelada ([Zhang, 2010](#)). Evidentemente, si se forma hielo a una temperatura más elevada, el coste energético es menor a la hora de congelar alimentos ([Cid, 2016](#)).

- **Medioambiente y agricultura**

Uno de los principales intereses agrícolas es prevenir el daño que produce la congelación a los agro-ecosistemas. Aunque existen métodos para prevenirlo, estos suelen ser físicos y por lo tanto bastante costosos. Un método algo diferente para mitigar el daño de la congelación es mediante el control de las poblaciones microbianas productoras de INP. Aunque, todavía falta mucho para que se convierta en un método totalmente efectivo y económicamente viable, constituye una estrategia atractiva que

puede ser estudiada. Se conseguiría mitigar el daño de la formación de cristales de hielo y promovería el crecimiento en las estaciones con temperaturas frías ([Cid, 2016](#)).

La restauración de los ambientes contaminados es crucial para el desarrollo sostenible. Los extremófilos pueden ser un importante recurso de biocatalizadores para biorremediación, como el género *Pseudomonas* ([Orellana, 2018](#)).

- **Medicina**

Por ejemplo, se usan proteínas recombinantes anti-congelantes procedentes de *Leucosporidium* sp. para crio-preservar glóbulos rojos. Proteínas anti-congelantes procedentes de peces se han utilizado también en la ablación de las líneas celulares de tumores subcutáneos en ratas. Aunque solo se ha llevado a cabo a nivel de laboratorio, nos podemos hacer una idea del gran potencial que tienen este tipo de proteínas en la industria médica ([Cid, 2016](#)).

El agente terapéutico Scytonemin aislado de una cianobacteria marina extremófila *Stigonema* sp. por Waldo Lake, Oregón y caracterizada como un inhibidor de la proteína serina/treonina kinasa, y muchas otras moléculas de los extremófilos son consideradas de interés para la cura del cáncer y otras enfermedades relacionadas ([Kumar, 2010](#)).

- **Ocio**

El uso de Snomax (Telemet, Inc, New York, USA) es una de las aplicaciones más importantes en la industria. Se trata de INPs bacterianas liofilizadas para la producción de nieve artificial. Snomax Technologies cultiva *Pseudomonas syringae* en un equipo de fermentación. Se congela al microorganismo para obtener como resultado final un derivado, Snomax, una proteína hielo nucleadora muy activa, capaz de convertir gotas de agua salientes de un cañón, en nieve. Si las gotas no contienen un nucleador, la gran mayoría no se transformarían en hielo antes de tocar el suelo ([Cochet, 2000](#)) ([Telemet](#)).

- **Radioprotección**

Los microorganismos extremófilos y sus nichos son los mejores modelos para obtener moléculas de interés humano para la radioprotección. El INMAS (Institute of Nuclear Medicine and Allied Sciences) está explorando las propiedades funcionales de las biomoléculas procedentes de bacterias radioresistentes, como *D. radiodurans*, *Rubrobacter* sp y el alga verde *Dunaliella bardawil*, para conseguir desarrollar una

biomolécula radioprotectora similar que resulte efectiva en el futuro para humanos. Los estudios desarrollados en INMAS han tenido éxito en animales inferiores que han sido expuestos a radiación gamma. La biomolécula diseñada también fue capaz de proteger los órganos radiosensitivos en modelos murinos. Las probabilidades de supervivencia en ratones irradiados, anteriormente tratados con la droga, se espera que sean mayores comparado con los ratones control ([Kumar, 2010](#)).

- **Biocombustibles**

Esta aplicación de los extremófilos, en mi opinión, es la que más atractiva puede resultar. Los biocombustibles pretenden reducir la dependencia de los combustibles fósiles así como reducir la emisión global de gases de efecto invernadero al ambiente. Los biocombustibles, por un lado, son renovables en periodos de tiempo más cortos, y por otro lado, tienen una tasa mayor de octano y combustionan de una forma mucho más eficiente y limpia ([Yeoman, 2010](#)).

Sin embargo, la producción de biocombustibles de primera generación, basados en la fermentación de la mazorca de maíz y la caña de azúcar, no son ni económicamente ni ecológicamente sostenibles, ya que necesitan grandes extensiones de terreno que compiten con los cultivos de alimentos para consumo humano. Los biocombustibles de segunda generación, que utilizan la lignocelulosa, un compuesto recalcitrante, son mucho más deseables ([Tollefson, 2008](#)). En la [Figura 5](#) podemos ver un esquema de los procesos de obtención de biocombustibles ([Taylor, 2012](#)).

La lignocelulosa consiste en la unión de tres polímeros mayoritarios: celulosa, hemicelulosa y lignina. La unión de las microfibrillas de celulosa resulta en la formación de una gran estructura cristalina. Esta estructura cristalina limita la accesibilidad de las enzimas, y por consiguiente, la eficiencia de la hidrólisis enzimática. Los esfuerzos de investigación de los últimos años, se centran en mejorar la despolimerización de la lignocelulosa, o bien buscar biocatalizadores nuevos. Además, incluye la investigación de enzimas nuevas con actividad específica y menor inhibición por el producto final. Para ser útil a escala industrial, interesa que tengan otras características como por ejemplo, estabilidad térmica o tolerancia a disoluciones que varían en pH, solventes orgánicos, reactivos químicos y oxidativos ([Yeoman, 2010](#)).

Las enzimas termoestables resultan útiles para la optimización de la deconstrucción de la lignocelulosa a escala de las biorefinerías. Poseen varias ventajas respecto a sus

correspondientes mesófilos: 1) Mayor especificidad y estabilidad, lo cual permite periodos de hidrólisis más extensos y el uso de una cantidad de enzima menor; 2) Estas enzimas son más compatibles con otros procesos no enzimáticos que se usan para disminuir la cristalinidad de la celulosa; 3) Los costes de refrigeración se eliminan permitiendo la volatilización del etanol; 4) Al disminuir la viscosidad del fluido, disminuye el coste del transporte en masa; 5) Aumento de la flexibilidad para configuraciones de los procesos de biorefinería; 6) El riesgo de contaminación microbiana disminuye; 7) Las enzimas se pueden almacenar a temperatura ambiente sin que pierdan su actividad ([Yeoman, 2010](#)).

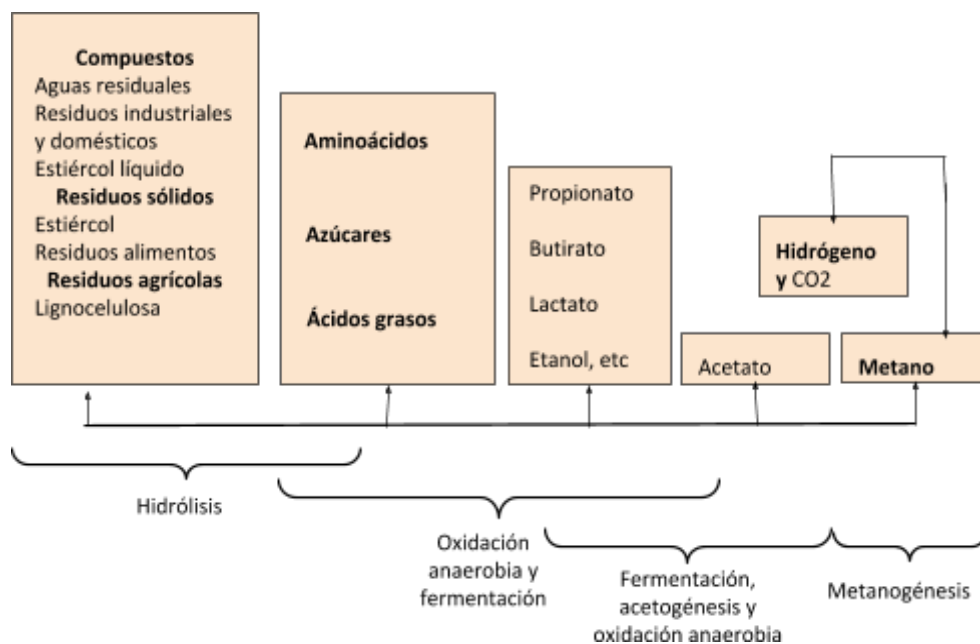


Figura 5. Esquema de los procesos metabólicos mediante los cuales se obtienen productos de interés para la producción de biocombustibles. Los compuestos y desechos se convierten de forma secuencial en aminoácidos, azúcares y azúcares. Luego obtenemos ácidos orgánicos y alcoholes mediante oxidación y fermentación. Posteriormente podemos obtener acetato mediante la acetogénesis o metano e hidrógeno mediante metanogénesis ([Taylor, 2012](#)).

A continuación, veremos varios géneros de microorganismos extremófilos con un metabolismo interesante para la obtención de biocombustibles:

1. Género *Geobacillus*

Los miembros de este género crecen a temperaturas termófilas moderadas (55-75 °C) y son incapaces de crecer a menos de 37° C, por lo tanto entra en la definición de extremófilos termófilos. *Geobacillus* se caracteriza por una diversa naturaleza catabólica, y la capacidad de fermentar y respirar de forma anaeróbica.

Entre los productos de su fermentación mixta, se encuentra el etanol. Estudios recientes han intentado mejorar el rendimiento de la producción de etanol utilizando ingeniería metabólica. Otros estudios, se han centrado en el desarrollo de métodos genéticos para la evolución de las variedades productoras de etanol, como es *G. thermoglucosidasius* ([Taylor, 2012](#)).

2. Géneros *Thermoanaerobacterium* y *Thermoanaerobacter*

El metabolismo fermentativo de estos dos géneros, normalmente incluye la ruta de Embden-Meyerhof, y se caracteriza por la producción mixta de ácidos, alcohol e hidrógeno. El interés se centra en mejorar la producción de etanol en *Thermoanaerobacter ethanolicus*, *T. mathranni* y *T. saccharolyticum* ([Taylor, 2012](#)).

3. Especies termófilas del género *Clostridium*

Las rutas metabólicas asociadas a *Clostridium* son muy parecidas a las de *Thermoanaerobacterium*. Los típicos productos de la fermentación son el lactato, acetato, etanol, y bajo condiciones específicas, hidrógeno. La especie modificada de *C. thermocellum* ha demostrado ser capaz de producir aproximadamente 12.5 g/L de etanol a pH 6.5 comparado con 5 g/L que produce una especie mesófila. Además, añadir que en el caso de la producción de etanol es importante tener en cuenta la tolerancia para que sobrevivan los microorganismos, en este caso también se ve incrementada ([Taylor, 2012](#)).

4. Especies productoras de biocombustibles gaseosos: metano y biogás

El metano se puede producir a partir de gran variedad de sustratos. Puede ser a partir de estiércol de granja, residuos de grasa después del sacrificio o incluso residuos de aceite de freír usado. Para conseguir una producción de metano óptima, hay que usar comunidades microbianas mixtas. Muchos microorganismos han sido capaces de producir metano, entre los que se incluyen termófilos como *Methanobacterium sp.*, *Methanosarcina thermophila* y *Methanothermococcus okinawensis*; psicrófilos y psicrotolerantes *Methanosarcina lacustri*, *Methanlobus psychrophilus* y algunos miembros del género *Methanosaeta*. Estos descubrimientos implican que los procesos de digestión anaeróbica pueden ser tanto termófilos como psicrófilos, reduciendo en gran medida los costes ([Barnard, 2010](#)).

5. Conclusiones

En los ambientes extremos podemos encontrar organismos, distinguibles por su bioquímica única y capacidades fisiológicas extraordinarias, resultado de adaptaciones a unas condiciones ambientales especiales. Sus adaptaciones y características particulares pueden resultar útiles para su aplicación en numerosos campos, como puede ser la búsqueda de extremozimas para procesos industriales, la biorremediación, y la biotecnología aplicada. Es destacable, la gran variedad de temas de estudio, de organismos y de aplicaciones que podemos encontrar de los extremófilos. Esto sugiere que son organismos con gran potencial, pero que hasta hace unos años no han tenido el reconocimiento que merecían. El futuro es impredecible, pero el impacto de las aplicaciones de los extremófilos parece tener el potencial suficiente para ser enorme.

6. Bibliografía

1. Coker, J. A. (2019). Recent advances in understanding extremophiles. *F1000Research*, 8.
2. Rampelotto, P. H. (2016). *Biotechnology of extremophiles*. Springer International Publishing.
3. Schröder, C., Burkhardt, C. & Antranikian, G. What we learn from extremophiles. *ChemTexts* 6, 8 (2020). <https://doi.org/10.1007/s40828-020-0103-6>
4. Horikoshi, K., Antranikian, G., Bull, A. T., Robb, F. T., & Stetter, K. O. (Eds.). (2010). *Extremophiles handbook*. Springer Science & Business Media.
5. Merino, N., Aronson, H. S., Bojanova, D. P., Feyhl-Buska, J., Wong, M. L., Zhang, S., & Giovannelli, D. (2019). Living at the Extremes: Extremophiles and the Limits of Life in a Planetary Context. *Frontiers in microbiology*, 10, 780.
6. Brininger, C., Spradlin, S., Cobani, L., & Evilia, C. (2018). The more adaptive to change, the more likely you are to survive: Protein adaptation in extremophiles. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 84, 158–169.
7. Zhang, H., Fei, R., Xue, B., Yu, S., Zhang, Z., Zhong, S., & Zhou, X. (2017). Pnsrpin: a novel serine protease inhibitor from extremophile *Pyrobaculum neutrophilum*. *International journal of molecular sciences*, 18(1), 113.
8. Mandelli, F., Couger, M. B., Paixão, D. A. A., Machado, C. B., Carnielli, C. M., Aricetti, J. A., ... Squina, F. M. (2017). Thermal adaptation strategies of the extremophile bacterium *Thermus filiformis* based on multi-omics analysis. *Extremophiles*, 21(4), 775–788. <https://doi.org/10.1007/s00792-017-0942-2>
9. Baker-Austin, C., & Dopson, M. (2007). Life in acid: pH homeostasis in acidophiles. *Trends in Microbiology*, 15(4), 165–171. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2007.02.005>
10. Gumulya, Y., Boxall, N. J., Khaleque, H. N., Santala, V., Carlson, R. P., & Kaksonen, A. H. (2018). In a quest for engineering acidophiles for biomining applications: challenges and opportunities. *Genes*, 9(2), 116.
11. Sarmiento, F., Peralta, R., & Blamey, J. M. (2015). Cold and hot extremozymes: Industrial relevance and current trends. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 3(OCT). <https://doi.org/10.3389/fbioe.2015.00148>

12. Demirjian, D. C., Moris-Varas, F., & Cassidy, C. S. (2001). Enzymes from extremophiles. *Current Opinion in Chemical Biology*, 5(2), 144–151. [https://doi.org/10.1016/S1367-5931\(00\)00183-6](https://doi.org/10.1016/S1367-5931(00)00183-6)
13. Elleuche, S., Schroeder, C., Sahn, K., & Antranikian, G. (2014). Extremozymes—biocatalysts with unique properties from extremophilic microorganisms. *Current opinion in biotechnology*, 29, 116-123.
14. Littlechild, J. A. (2015). Enzymes from extreme environments and their industrial applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 3(OCT), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2015.00161>
15. Dumorné, K., Córdova, D. C., Astorga-Eló, M., & Renganathan, P. (2017). Extremozymes: A potential source for industrial applications. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(4), 649–659. <https://doi.org/10.4014/jmb.1611.11006>
16. Guo, M., Gamby, S., Zheng, Y., 2013. Small molecule inhibitors of AI-2 signaling in Bacteria: state-of-the-Art and future perspectives for anti-quorum sensing agents. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 17694–17728.
17. Kaur, A., Capalash, N., & Sharma, P. (2019). Communication mechanisms in extremophiles: Exploring their existence and industrial applications. *Microbiological Research*, 221(January), 15–27. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.01.003>
18. Zhang, S., Wang, H., & Chen, G. (2010). Addition of ice-nucleation active bacteria: *Pseudomonas syringae* pv. *panici* on freezing of solid model food. *LWT-FOOD science and Technology*, 43(9), 1414-1418.
19. Cid, F. P., Rilling, J. I., Graether, S. P., Bravo, L. A., De La Luz Mora, M., & Jorquera, M. A. (2016). Properties and biotechnological applications of ice-binding proteins in bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 363(11), 1–12. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnw099>
20. Orellana, R., Macaya, C., Bravo, G., Dorochesi, F., Cumsille, A., Valencia, R., ... & Seeger, M. (2018). Living at the frontiers of life: extremophiles in Chile and their potential for bioremediation. *Frontiers in microbiology*, 9, 2309.
21. Kumar, R., Patel, D. D., Bansal, D. D., Mishra, S., Mohammed, A., Arora, R., ... & Tripathi, R. P. (2010). Extremophiles: sustainable resource of natural compounds-extremolytes. In *Sustainable Biotechnology* (pp. 279-294). Springer, Dordrecht.
22. Cochet N, Widehem P. (2000) Ice crystallization by *Pseudomonas syringae*. *Appl Microbiol Biot* 2000;54:153–61.
23. Tollefson, J. (2008). Not your fathers biofuels. *Nature* 451, 880–883.
24. Yeoman, C. J., Han, Y., Dodd, D., Schroeder, C. M., Mackie, R. I., & Cann, I. K. O. (2010). Thermostable enzymes as biocatalysts in the biofuel industry. In *Advances in applied microbiology* (1st ed., Vol. 70). [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(10\)70001-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(10)70001-0)
25. Barnard, D., Casanueva, A., Tuffin, M., & Cowan, D. (2010). Extremophiles in biofuel synthesis. *Environmental Technology*, 31(8–9), 871–888. <https://doi.org/10.1080/09593331003710236>
26. Taylor, M. P., Bauer, R., Mackay, S., Tuffin, M., & Cowan, D. A. (2012). Extremophiles and their application to biofuel research. *Extremophiles: Sustainable Resources and Biotechnological Implications*, 233-265.
27. <https://telemet.com/es/snomax-snow-inducer/>

