



Reconstrucción metabólica a escala genómica de *Pseudomonas putida* KT2440: iJN746 como factoría celular.

Juan Nogales¹, Ines Thiele², Bernhard Ó Palsson², José Luis García¹ y Eduardo Díaz¹

¹Departamento de Microbiología Molecular, Grupo de Biotecnología Medioambiental, Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC), Madrid, España.

²Departamento de Bioingeniería, Universidad de California, San Diego, Estados Unidos.

Pseudomonas putida KT2440 es un microorganismo no patógeno, fácil de manipular genéticamente y con una gran versatilidad metabólica, por lo que se ha utilizado ampliamente como sistema modelo en biorremediación y otros procesos biotecnológicos. Desde la publicación de su genoma (1), el conocimiento sobre esta paradigmática bacteria se ha incrementado exponencialmente y se han publicado varios análisis genómicos *in silico* sobre *P. putida*. No obstante, el entendimiento global de las capacidades metabólicas y biotecnológicas de *P. putida* requiere la construcción de un modelo más dinámico, permitiendo la integración de la información experimental clásica, con los nuevos datos provenientes de las denominadas *-ómicas*. En este trabajo presentamos una reconstrucción metabólica a escala genómica de *P. putida* KT2440 (2) incluyendo un detallado análisis global de la degradación de compuestos aromáticos. La reconstrucción fue construida usando el método COBRA (3) y validada mediante análisis de balance de flujo (FBA) (4). La cepa *in silico*, denominada iJN746, fue desarrollada basándose en la información genómica, bioquímica y fisiológica disponible para KT2440 en diversas bases de datos. El modelo final contiene un total de 746 genes (14% del genoma), 950 reacciones metabólicas, de las cuales 810 están asociadas a un gen, y 911 metabolitos. iJN746 contiene importantes rutas biotecnológicas, incluyendo la ruta de síntesis de polihidroxialcanoatos (PHAs) y rutas para la degradación de compuestos aromáticos, siendo la primera vez que estas relevantes rutas metabólicas son modeladas. El potencial predictivo de iJN746 fue validado comparándolo con datos experimentales, incluyendo simulaciones de crecimiento y estudios de mutagénesis. Interesantemente, el crecimiento *in silico* en tolueno como única fuente de carbono se mostró dependiente de O₂ sugiriendo la existencia de un metabolismo de oxígeno más eficiente *in vivo*, cuyas claves son desconocidas hasta ahora. Adicionalmente, hemos evaluado la eficiencia de producción de PHAs a partir de varias fuentes de carbono encontrando, como se esperaba, que los ácidos grasos son los mejores precursores. No obstante, nuevos compuestos de los cuales hasta ahora se desconocía su potencial en la síntesis de PHA, han sido predichos como buenos precursores por iJN746. En conjunto, este trabajo ilustra la utilidad del modelo metabólico como a) base de conocimiento, b) herramienta para descubrir nuevas funciones y c) una excelente plataforma para explorar el potencial de *P. putida* en biorremediación y en producción de bioplásticos.

1. Nelson, K.E. et al, (2002) Environ. Microbiol. 4: 799-808.

2. Nogales, J. Thiele, I. Palsson, BO . (2008) Mol System Biol. (Enviado)

3. Reed, J.L., et al, (2006) Nat. Rev. Genet. 7: 130-141.

4. Varma, A., and Palsson, B.O. (1994). Appl. Environ. Microbiol. 60: 3724-3731.