

Rosalba Salgado-Morales, Luis Enrique Rojas-Espinoza y Édgar Dantán-González

Síntesis de péptidos a través de maquinarias no convencionales

Las péptido sintetetas no ribosomales (NRPS) son enzimas especializadas que sintetizan péptidos de una manera muy diferente a como convencionalmente se fabrican la mayoría de las proteínas en los seres vivos, a través del ribosoma y con un ARNm. Las NRPS contienen múltiples módulos que se encargan de seleccionar y modificar a los aminoácidos, uniéndolos en una secuencia precisa y creando moléculas únicas con propiedades especiales.

Introducción

El escritor uruguayo Eduardo Galeano solía decir: “Libres son quienes crean, no copian, y libres son quienes piensan, no obedecen; educar es enseñar a dudar”, y en esencia de esto trata la ciencia, de poner en duda lo aprendido, de ahí que tenemos nuevos descubrimientos que parecerían contradecir o sepultar los conceptos y dogmas anteriores.

En el campo de la biología, uno de los pilares más importantes es el dogma central de la biología molecular en el que tradicionalmente se representa un flujo de información que va desde un gen, pasando por el ARNm, para llegar a la síntesis de una proteína. Sin embargo, con el avance de la tecnología y las nuevas áreas del conocimiento, se han descubierto flujos emergentes en todas direcciones. Uno de los procesos clave en la biosíntesis de péptidos involucra la acción de las enzimas conocidas como péptido sintetetas no ribosomales (NRPS, por sus siglas en inglés). Estas enzimas destacan por su capacidad para generar proteínas sin depender de las instrucciones genéticas almacenadas en el ADN ni de la maquinaria ribosomal, encargada convencionalmente de este proceso. Las NRPS pueden considerarse “máquinas moleculares” altamente especializadas, responsables de la síntesis de **metabolitos secundarios** denominados péptidos no ribosomales. Estos metabolitos secundarios son compuestos que los organismos producen en respuesta a diversos factores, como mecanismos de defensa, competencia ecológica e interacciones con otras especies. A diferencia de la síntesis ribosomal tradicional,

ARNm

Molécula de ARN de cadena sencilla que sirve como plantilla para sintetizar una proteína.

Péptido

Cadena corta de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos.

Metabolito secundario

Molécula no esencial en el crecimiento, desarrollo o reproducción del organismo productor.

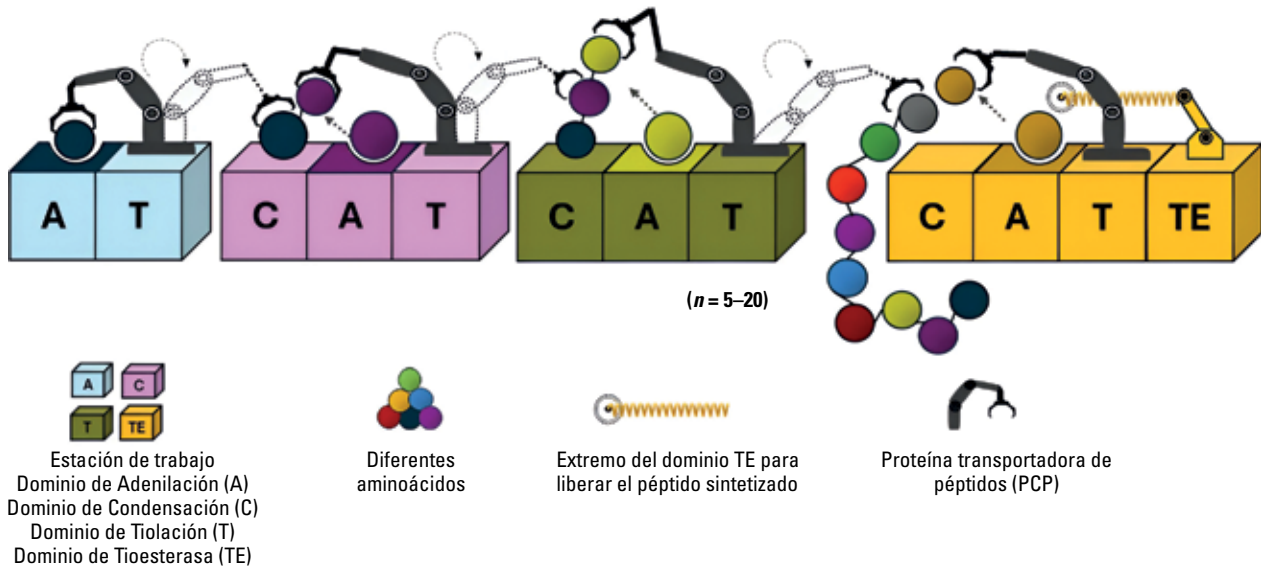


Figura 1. Línea de ensamblaje de las péptidos sintéticas no ribosomales (NRPS). Modificado a partir de Ackerley, 2016.

las NRPS no requieren las instrucciones específicas de un gen, como un ARNm, para construir estos péptidos, lo que las hace independientes de la maquinaria ribosomal clásica. Los péptidos no ribosomales poseen un enorme potencial en múltiples áreas, debido a su diversidad estructural y funcional. Sus aplicaciones abarcan desde la medicina y la veterinaria hasta la agricultura, la **biorremediación** y la industria, gracias a sus propiedades antimicrobianas, antivirales, antiparasitarias, anticancerígenas, antifúngicas, insecticidas, como biosurfactantes y pigmentos, entre otras. En este artículo exploraremos las principales características de las NRPS y sus productos, los microorganismos que los producen y las aplicaciones de estos péptidos no ribosomales en diversos campos.

■ Línea de ensamblaje molecular de las NRPS

■ En una línea de ensamblaje de manufactura, distintas piezas o componentes se combinan progresivamente para formar un producto final. De manera análoga, en las NRPS, los aminoácidos actúan como las “piezas” que alimentan la línea de ensamblaje molecular, lo que da lugar a un péptido no ribosomal. Estas “piezas” incluyen tanto aminoácidos estándar (los 20 que componen comúnmente las proteínas y están

codificados en el código genético) como aminoácidos no proteínogénicos (que no están codificados en dicho código). En una línea de producción, cada pieza pasa por estaciones de trabajo especializadas que aseguran su colocación en el orden correcto (véase la Figura 1).

En las NRPS, estas estaciones son los módulos, y cada módulo contiene **dominios catalíticos** que realizan tareas específicas. Por ejemplo, cada módulo incluye un dominio de adenilación (A), responsable de seleccionar un aminoácido particular y activarlo para su incorporación en la secuencia. La especificidad de esta selección depende de la estructura y la secuencia únicas de cada dominio A. Una vez activado, el aminoácido es transportado por el dominio de tiolación (T), también conocido como proteína transportadora de péptidos (PCP). Este dominio funciona como un brazo móvil que transfiere el aminoácido desde el dominio A al dominio de condensación (C) del siguiente módulo. El dominio C, por su parte, forma el enlace peptídico que une el aminoácido al péptido en crecimiento. La estructura básica de una NRPS incluye varios módulos, donde cada uno suele tener dominios C, A y T. El último módulo, además, contiene un dominio de tioesterasa (TE), que actúa como unas “tijeras” moleculares para liberar el péptido completamente ensamblado.

Biorremediación
 Proceso que utiliza microorganismos para reducir las concentraciones de desechos peligrosos de un sitio contaminado.

Dominio catalítico
 Región de una enzima que interactúa con el sustrato para realizar una reacción enzimática.

do. Además de estos dominios principales, las NRPS pueden incluir dominios adicionales que introducen modificaciones como glicosilaciones, acetilaciones e hidroxilaciones.

El tamaño del péptido no ribosomal está determinado por el número de módulos en la NRPS, ya que cada módulo incorpora un aminoácido específico. Por ejemplo, una NRPS con cinco módulos producirá un péptido de cinco aminoácidos. En general, las NRPS suelen tener entre cinco y 20 módulos, lo que da lugar a péptidos con secuencias y longitudes específicas. Estas características estructurales influyen directamente en la actividad biológica de los péptidos no ribosomales determinando su funcionalidad en diversos contextos biológicos y aplicaciones.

■ ■ ■ **¿Qué organismos producen péptidos no ribosomales?**

■ Las NRPS encargadas de producir péptidos no ribosomales se encuentran distribuidas en los tres dominios de la vida (*Eukarya*, *Archaea* y *Bacteria*). En eucariotas, los hongos filamentosos son los principales productores de péptidos no ribosomales, mientras que en la mayoría de los organismos superiores los péptidos no ribosomales son producidos por sus **simbiontes** microbianos. En el caso de las arqueas, las NRPS son poco frecuentes y prevalecen principalmente en las bacterias; en particular, en los filos *Proteobacteria*, *Cyanobacteria*, *Firmicutes* y *Actinobacteria* (Wang y cols., 2014). Los microorganismos del suelo como actinomicetos y *Bacilli* son de los principales productores de péptidos no ribosomales y únicamente en el género *Streptomyces* se han descrito alrededor de 10 000 péptidos no ribosomales. Por otro lado, los microorganismos de ambientes marinos son importantes productores; aproximadamente 70 % de los péptidos no ribosomales descubiertos provienen de estos organismos.

Simbionte → Organismo que establece una relación (generalmente a largo plazo) con otro organismo.

■ ■ ■ **Uso de péptidos no ribosomales**

■ Los antibióticos desempeñan un papel crucial en la lucha contra las infecciones bacterianas, ya que eliminan a las bacterias o inhiben su crecimiento y

reproducción. No obstante, el desarrollo de resistencia bacteriana a estos compuestos se ha convertido en un desafío significativo para la salud pública, con implicaciones preocupantes a nivel global.

Entre los diversos compuestos disponibles en el mercado, destacan los péptidos no ribosomales, que incluyen antibióticos con una notable diversidad de actividades biológicas. El descubrimiento de los antibióticos marcó un hito en la historia de la medicina, pues revolucionó el tratamiento de las infecciones bacterianas y redujo drásticamente las tasas de mortalidad asociadas a estas enfermedades. Algunos péptidos no ribosomales con propiedades antibióticas se utilizan ampliamente en la medicina; a continuación, algunos ejemplos. La bacitracina es una mezcla de péptidos no ribosomales producidos por *Bacillus subtilis*, y se utiliza para prevenir infecciones en lesiones leves de la piel; la vancomicina, producida por *Amycolatopsis orientalis*, es indicada en infecciones causadas por estafilococos y para tratar la endocarditis y colitis provocada por *Clostridium difficile* –también se utiliza como alternativa en pacientes alérgicos a antibióticos β-lactámicos (penicilina y meticilina), o en bacterias resistentes a la meticilina–; la daptomicina, producida por *Streptomyces roseosporus*, es un lipopéptido cíclico indicado en infecciones graves de la piel, infecciones del torrente sanguíneo o en las causadas por bacterias resistentes a la meticilina y vancomicina; la polimixina B es un antibiótico utilizado para infecciones sistémicas causadas por bacterias multirresistentes, como *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*, agentes importantes de enfermedades intrahospitalarias.

Otros péptidos no ribosomales son utilizados en las terapias contra el cáncer, como la bleomicina, actinomicina D y la ecteinascidina-743; inmunosupresores como la ciclosporina están indicados para evitar el rechazo en trasplantes de órganos; antihemorrágicos como la ergometrina se utilizan en la obstetricia para la prevención de hemorragias durante el parto; antihelmínticos como la emodepsida se utilizan en mascotas parasitadas con nemátodos gastrointestinales y en el tratamiento de infecciones por gusanos parásitos en humanos. Otros, como

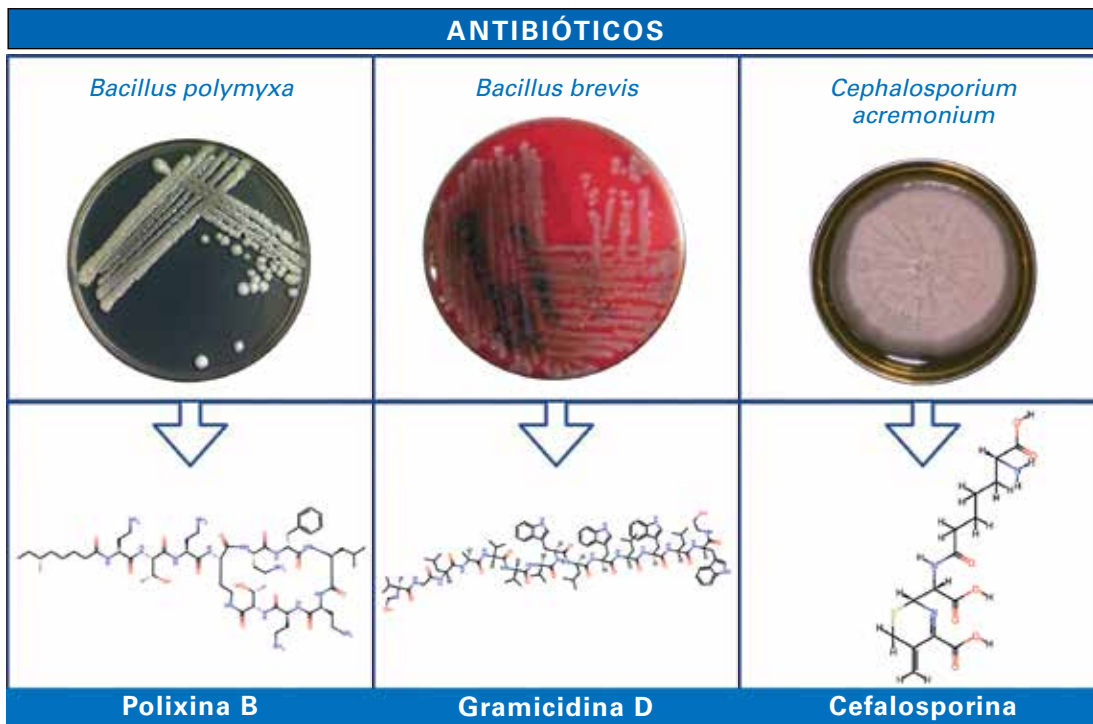
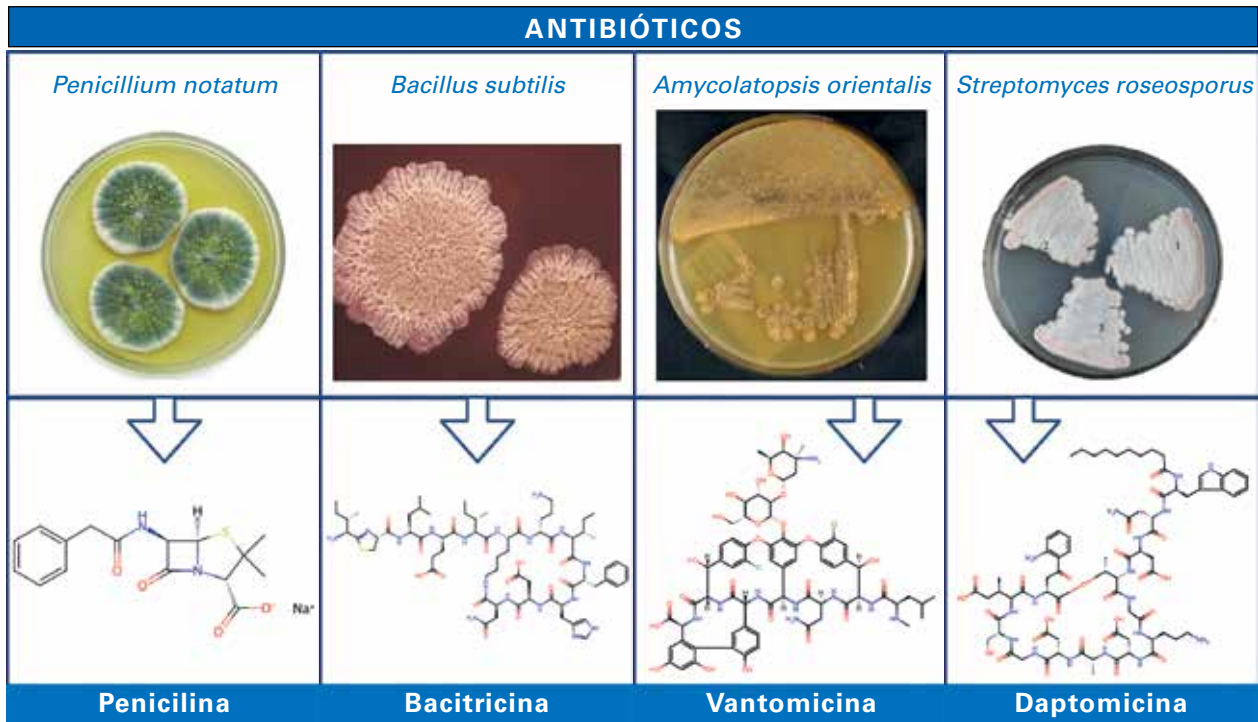


Figura 2A. Péptidos no ribosomales y sus actividades.

la nematofina, tienen potencial por su actividad antifúngica, pero aún no se encuentra disponible comercialmente (véanse las Figuras 2A y 2B). Es interesante señalar que existe una gran cantidad de

péptidos no ribosomales que se encuentran en fase de estudios clínicos y aún no están disponibles en el mercado, y hay un vasto camino por recorrer en la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos.

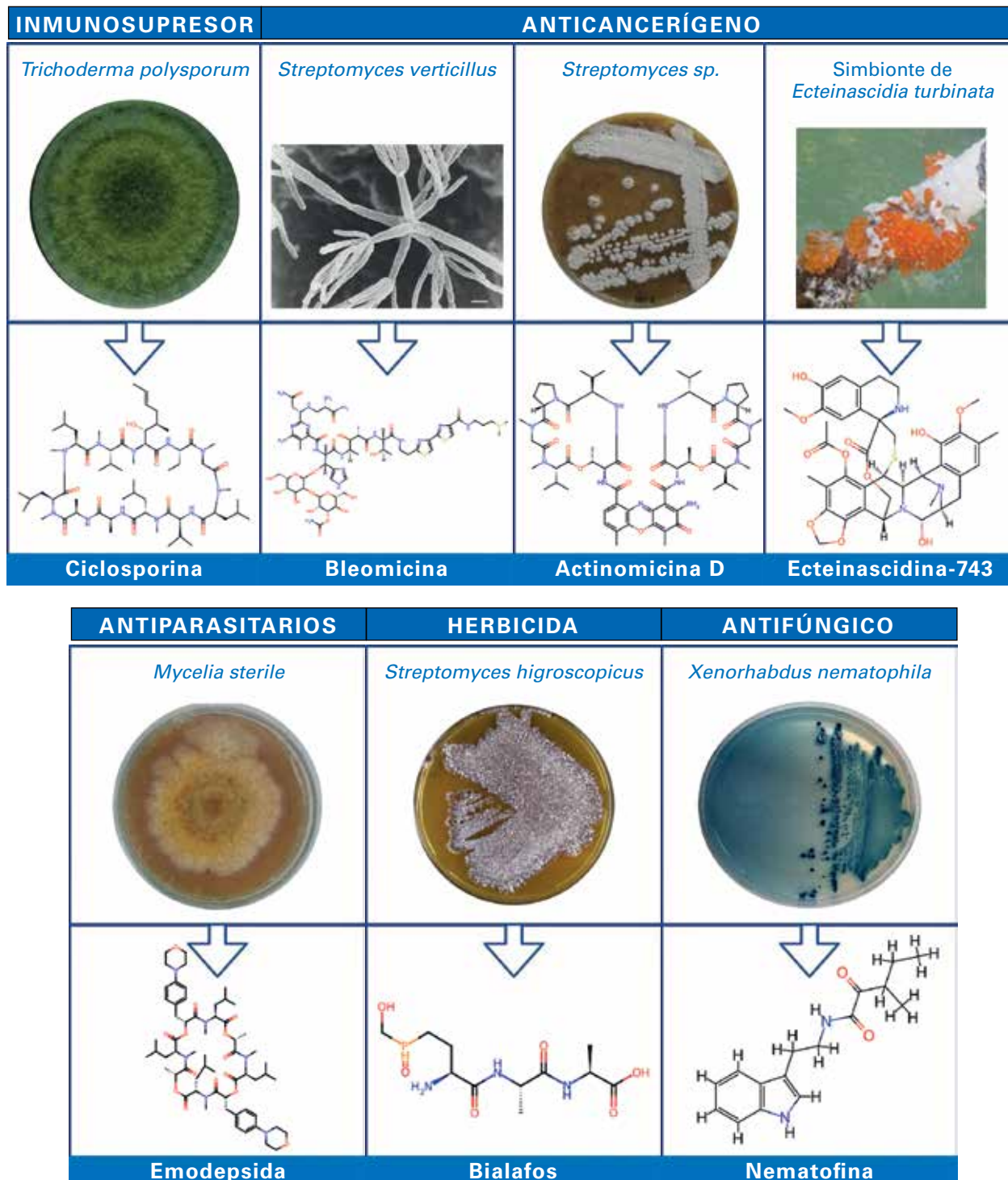


Figura 2B. Péptidos no ribosomales y sus actividades.

Minería genómica

Es el análisis de la información genómica para el descubrimiento de productos naturales.

Genoma

Es el conjunto completo de ADN de un organismo y la genómica es el estudio de los genomas.

Metagenoma

Es el genoma colectivo de microorganismos de una muestra ambiental.

■ **La minería genómica: una herramienta para la búsqueda de NRPS**
 ■ En los últimos años los avances en las tecnologías han permitido conocer los **genomas** completos, en

menor tiempo y a menor costo, con lo que se ha incrementado el número de genes, genomas y **metagenomas** disponibles en las bases de datos. Esta información es la base para analizar grandes volúme-

nes de datos con el fin de hallar patrones o elementos en el área genómica, lo que involucra, entre muchas otras posibilidades, la predicción de grupos de genes biosintéticos (BGC), incluidos aquellos que codifican para las NRPS, a partir de herramientas bioinformáticas, análisis de las secuencias de las enzimas y la identificación experimental del producto. En general, la caracterización puede ser desde un enfoque directo, siguiendo el flujo a partir de un BGC conocido, a la identificación del metabolito. Por otro lado, se puede utilizar un enfoque inverso, partiendo de un metabolito conocido hacia la búsqueda de los genes involucrados en su biosíntesis. En este sentido, la predicción de BGC se apoya en gran medida en el uso de herramientas computacionales. Una de las más utilizadas es antiSMASH, un *software* de código abierto que permite la identificación, anotación y análisis rápido de BGC de metabolitos secundarios de genomas bacterianos. Aunque antiSMASH identifica una amplia variedad de BGC, realiza análisis más profundos para la detección de NRPS y policétido sintetas (PKS) tipo I y II (Blin y cols., 2021). Además, existen otras herramientas cuyas características se describen en la [Tabla 1](#).

Nematodos entomopatógenos y sus bacterias simbiotes como fuente de péptidos no ribosomales
 En el Laboratorio de Estudios Ecogenómicos (LEE) del Centro de Investigación en Biotecnología de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, es-

tamos interesados en el estudio de las NRPS provenientes de bacterias entomopatógenas de los géneros *Photorhabdus* y *Xenorhabdus*. Estas bacterias son simbiotes de nematodos entomopatógenos y su ciclo de vida es muy interesante: las bacterias se alojan en el interior del nematodo para poder acceder al interior de un insecto hospedero, que por lo general son larvas del suelo, en donde la bacteria y el nematodo se reproducen; debido a lo anterior, los nematodos son utilizados para el control biológico contra plagas en cultivos de interés alimentario. Las bacterias son altamente letales para una gran variedad de insectos, evaden eficientemente el sistema inmune, producen toxinas insecticidas, enzimas que degradan los tejidos y demás compuestos antimicrobianos para evitar que otros microorganismos invadan el cadáver del insecto. La bacteria es esencial para la reproducción del nematodo y ésta requiere del segundo para entrar al insecto; de esta manera mantienen una simbiosis mutualista, en donde ambos se benefician. Este complejo estilo de vida y la interacción con sus hospederos (nematodo e insecto) está coordinada en gran medida por péptidos no ribosomales (Tobias y cols., 2017). En el LEE, se han aislado bacterias entomopatógenas como *Photorhabdus luminescens* HIM3 y *Xenorhabdus nematophila* SC16; se ha secuenciado su genoma y, utilizando herramientas computacionales, como antiSMASH, se buscaron genes involucrados en producir péptidos no ribosomales. Los resultados muestran que *Photorhabdus luminescens* HIM3 y *Xenorhabdus nematophila* SC16

Tabla 1. Herramientas computacionales para la detección de BGC.

Herramienta	Organismo	Predicción de BGC
antiSMASH	Bacterias, hongos y plantas	La versión bacteriana identifica 71 tipos de BGC, incluyendo NRPS y PKS tipo I
CLUSEAN	Bacterias	NRPS y PKS
ClusterFinder	Bacterias	NRPS y PKS
ClustScan	Bacterias	NRPS y PKS
NRPS-PKS/SBSPKS	Bacterias	NRPS y PKS
NPSearcher	Bacterias	NRPS y PKS tipo I e híbridos NRPS/PKS
NaPDoS	Bacterias	Detección del dominio C o KS

presentan 13 y 11 grupos de genes que codifican para NRPS, respectivamente. Entre estos péptidos no ribosomales se encuentran: la luminmicina A, una molécula con actividad citotóxica en células de carcinoma humano; las bicornutinas A1/A2, que presentan actividad antibacteriana y antifúngica contra *Erwinia amylovora*, causante del “fuego bacteriano” –un importante patógeno de plantas– y contra el hongo *Phytophthora nicotianae*, causante de la enfermedad del “tizón” en cultivos de cebolla, papa, tomate y algodón; así como las odilorhabdinas, con actividad antibiótica, que se unen a la subunidad pequeña del ribosoma en un sitio que no reconocen otros antibióticos. Por ello, estas NRPS son activas contra algunas bacterias patógenas multirresistentes a antibióticos; otras, como las xenocoumacinas, exhiben una amplia actividad antimicrobiana en algunas enterobacterias y en bacterias multirresistentes, como *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

Por otro lado, diversos estudios muestran que el género *Streptomyces* son bacterias que constituyen uno de los mayores productores de compuestos bioactivos. Por eso, se realizó la comparación de los genomas del género *Streptomyces* y los genomas de *Photorhabdus* y *Xenorhabdus*, estudio que demostró que *Streptomyces* presenta un mayor número de grupos de genes biosintéticos. Sin embargo, *Photorhabdus* y *Xenorhabdus* presentan un número más elevado de grupos de genes que codifican para NRPS, lo que representaría una mayor posibilidad de producir péptidos no ribosomales (véase la **Figura 3**). Este tipo de análisis es importante y necesario para comprender la ecología química, tan diversa en estos organismos, por lo que es necesario utilizar herramientas bioinformáticas de frontera, así como enfocar los estudios a biomoléculas no convencionales. La complejidad del estilo de vida de *Photorhabdus* y *Xenorhabdus*, es decir, la patogenicidad que exhiben en insectos y la

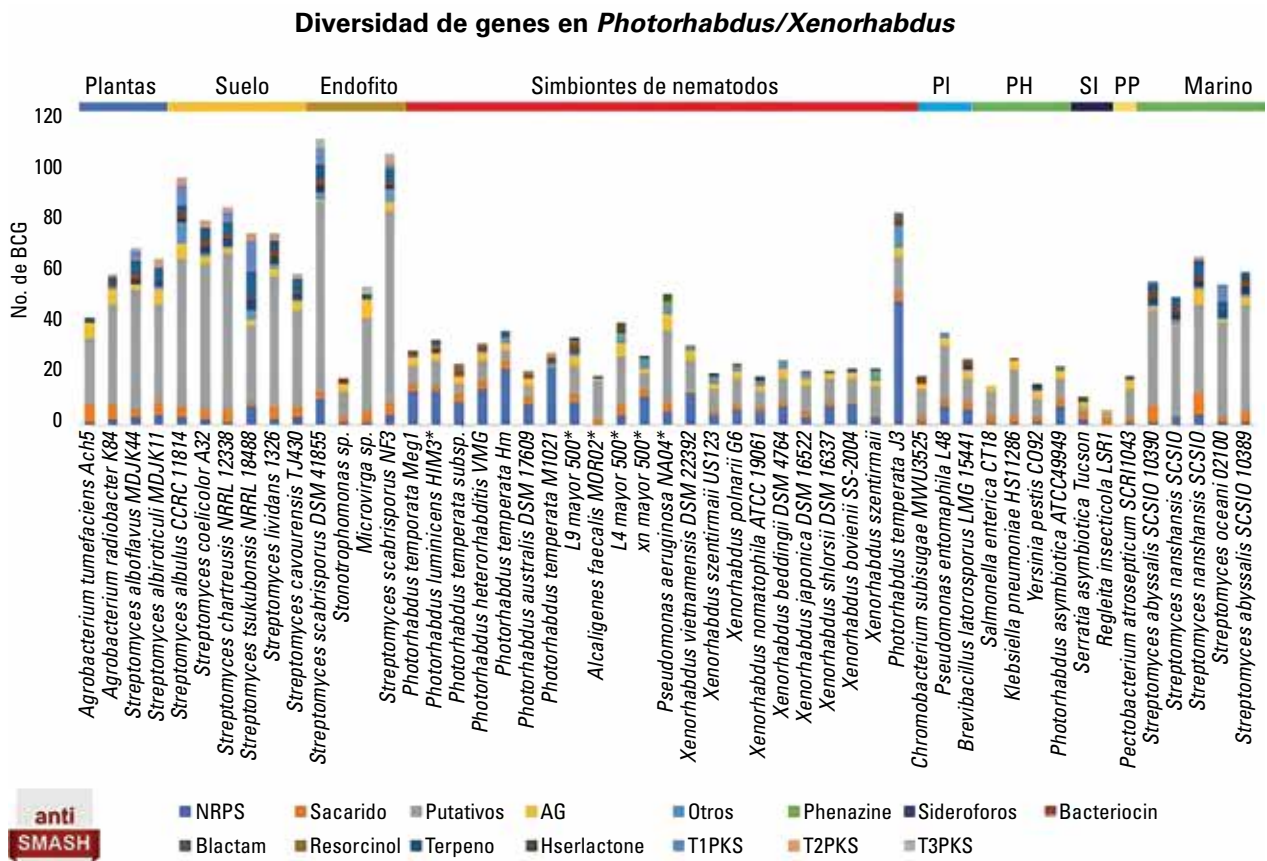


Figura 3. Diversidad de NRPS en *Photorhabdus* y *Xenorhabdus*. Tomado de Bueno-Hernández, 2021.

simbiosis con el nematodo, puede aprovecharse para el descubrimiento de otros compuestos importantes con futuras aplicaciones en medicina, veterinaria y agricultura, como se ha sugerido en otros estudios.

Rosalba Salgado-Morales

Laboratorio de Estudios Ecogenómicos, Centro de Investigación en Biotecnología CelB, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
rosalba.salgado@docentes.uaem.edu.mx

Luis Enrique Rojas-Espinoza

Centro de Ciencias Genómicas, Universidad Nacional Autónoma de México.
rojases@ccg.unam.mx

Édgar Dantán-González

Laboratorio de Estudios Ecogenómicos, Centro de Investigación en Biotecnología CelB, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
edanta@uaem.mx

Referencias específicas

- Ackerley, D. F. (2016), "Cracking the Nonribosomal Code", *Cell Chemical Biology*, 23(5):535-537.
- Blin, K., S. Shaw, A. M. Kloosterman, Z. Charlop-Powers, G. P. van Wezel, M. H. Medema y T. Weber (2021), "AntiSMASH 6.0: improving cluster detection and comparison capabilities", *Nucleic Acids Research*, 49(W1):W29-W35.
- Bueno-Hernández, B. (2021), *Genómica estructural para el análisis de péptido sintetasas no ribosomales en bacterias simbióticas de organismos patógenos*, tesis de maestría en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Izoré, T., Y. T. Candace Ho, J. A. Kaczmarek, A. Gavriliidou, K. H. Chow *et al.* (2021), "Structures of a non-ribosomal peptide synthetase condensation domain suggest the basis of substrate selectivity", *Nature Communications*, 12:2511.
- Tobias, N. J., H. Wolff, B. Djahanschiri, F. Grundmann, M. Kronenwerth *et al.* (2017), "Natural product diversity associated with the nematode symbionts *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*", *Nature Microbiology*, 2(12):1676-1685.
- Wang, H., D. P. Fewer, L. Holm, L. Rouhiainen y K. Sivonen (2014), "Atlas of nonribosomal peptide and polyketide biosynthetic pathways reveals common occurrence of nonmodular enzymes", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(25):9259-9264.

