

Descubrimiento *in silico* y validación experimental de halogenasas regioselectivas en *Streptomyces* de suelos uruguayos

Florencia Cavallaro Di Blasi¹; Agustina Vila¹; Valentina Croce²; Sofía Zeballos²; María Inés Siri²; Cesar Iglesias²

¹Laboratorio de Biocatálisis y Biotransformaciones, DEPBIO, DQO, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

²Laboratorio de Microbiología Molecular, DEPBIO, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

fcavallaro@fq.edu.uy

La halogenación es una estrategia importante en la síntesis de compuestos bioactivos, pero requiere reactivos costosos y condiciones no amigables con el ambiente. Se conoce una gran cantidad de productos naturales halogenados que son producidos por diversos organismos de todos los reinos, y actualmente métodos *in silico* se utilizan como estrategia para hallar las enzimas responsables de estas transformaciones, conocidas como halogenasas¹. En este trabajo se analizaron los genomas de 12 cepas de *Streptomyces* aisladas previamente de suelos uruguayos, y seleccionadas por su potencial biosintético evidenciado en estudios previos². Se realizó un análisis bioinformático de secuencias de halogenasas FAD-dependientes reportadas en bases de datos públicas, identificando motivos conservados y residuos catalíticos esenciales para su actividad. Estos motivos fueron utilizados como criterios de búsqueda en los genomas de *Streptomyces* previamente aislados, lo que permitió identificar cuatro cepas que albergan genes candidatos de interés. Asimismo, se construyó un árbol filogenético que permitió clasificar las halogenasas detectadas en grupos según su patrón de regioselectividad. Los genes identificados se clonaron en pET28(a)+ para su expresión en *E. coli* BL21(DE3), y se testearon en la biotransformación del triptófano y triptamina como sustrato modelos analizando los crudos de reacción por HPLC-DAD y HPLC-MS. Los resultados preliminares revelan que las halogenasas de *Streptomyces* sp. nativos ofrecen un espectro de regioselectividad interesante, específicamente en la posición 5 y 7 del anillo indólico, subrayando su potencial para aplicaciones biotecnológicas en la síntesis sostenible de compuestos halogenados. Se están llevando a cabo estudios bioinformáticos que incluyen docking, simulaciones de dinámica molecular y análisis de energía libre, con el objetivo de seleccionar mutantes con mayor reactividad frente a triptamina y explorar nuevas actividades catalíticas sobre sustratos de mayor volumen como el harmano.

Referencias

1. Crowe, C. et al. Chem Soc Rev 50, 9443–9481 (2021).
2. Croce, V. et al.. Front Microbiol 12, (2021).