

Enzimi da altri estremofili

Alofili

Sono organismi che si sono adattati a vivere in ambienti ad alta concentrazione di sale NaCl. Gli organismi più estremi in questa categoria riescono a vivere in ambienti con concentrazione di sale fino al 30%. Consideriamo che nel mare la concentrazione di sale è del 3%, mentre gli organismi non alofili tollerano concentrazioni inferiori all'1%.

Possiamo fare una classificazione in base al grado di tolleranza al sale:

- Alotolleranti: tra l'1 e il 5% di NaCl (0.2 - 0.85 M)
- Alofili moderati: tra il 5 e il 20% di NaCl (0.85 - 3.4 M)
- Alofili estremi: tra il 20 e il 30% di NaCl (3.4 - 5.1 M)

Casi particolari sono alcune specie di *Pseudomonas*, che sono alofili che sono capaci di crescere sulle foglie di piante nel deserto, che secernono sale per contrastare lo stress osmotico.

Specie di *Bacillus* isolate da cavità nasali delle Iguane del deserto; anche questo animale si difende dallo stress osmotico secernendo sali dalle sue cavità nasali.

Gli alofili si isolano in molti ambienti naturali che hanno alte concentrazioni di sali, quali laghi salati, saline e deserti.

Gli alofili producono diverse sostanze quali pigmenti ed altre molecole di utilità industriali.

Questi organismi si trovano nei tre regni della vita, quali Eucaria, Bacteria ed Archaea. Tra gli Archaea troviamo i più estremi. Ci sono anche alghe alofile.

Tra i Bacteria troviamo:

- *Bacillus*
- *Halomonas* (applicazioni interessanti)
- *Pseudomonas*
- *Micrococcus*
- *Vibrio*
- *Alteromonas*
- *Flavobacterium*

Tra gli Eucaria:

- *Artemia*
- *Dunaliella*

Tra gli Archaea:

- *Halobacterium*
- *Halorubrum*
- *Haloferax*
- *Haloarcula*
- *Halococcus*

L'*Halobacterium salinarium* è noto per la colorazione rossa degli ambienti colonizzati da questo microorganismo, per via di pigmenti da esso prodotti. Riesce a vivere in ambienti con concentrazioni di NaCl tra il 15 e il 35%.

L'*Haloquadratum walsby* non solo si è adattato ad ambienti salini, ma al suo interno contiene granuli di *poliidrossialcanoato* e vacuoli ripieni di gas, che potrebbero permettergli di galleggiare in ambiente acquoso per essere meglio esposto alla luce solare.

Il principale problema di questi organismi è evitare lo shock osmotico. Normalmente le cellule esposte in soluzione ad alta concentrazione di sale tendono ad accumulare sale al loro interno, fino ad esplodere. (min 7:50 lezione alofili, detto dalla prof....in realtà credo che l'acqua esca dalla cellula per osmosi, disidratandola...io scelgo questa)

Gli alofili mostrano adattamenti interessanti e diversificati per risolvere questo problema.

- Salt in

Utilizzato da alofili più estremi. Questi microorganismi trasportano il sale all'interno della cellula per bilanciare la pressione osmotica. Questo è un processo attivo, si spendono 2 ATP per far entrare 3 KCl.

All'interno della cellula ci sono macromolecole che si trovano esposte ad una elevata concentrazione salina.

- Soluti compatibili

Alcuni alofili sintetizzano molecole a basso peso molecolare, osmoliti, che bilanciano la pressione osmotica.

Alcuni tra gli osmoliti usati sono aminoacidi, polialcol ed altre piccole molecole. Da ricordare è la **betaina**.

Gli osmoliti sono interessanti dal punto di vista applicativo perché permettono l'adattamento cellulare non solo alla concentrazione di sale, ma sono degli stabilizzatori di varie strutture biologiche. Danno resistenza alla disidratazione, il calore eccessivo ed il congelamento.

Adattamento degli enzimi degli alofili

Il problema dell'esposizione al sale può riguardare le proteine intracellulari, quando l'alo filo accumula sale al suo interno, e proteine secrete all'esterno della cellula quando l'ambiente esterno è ricco di sale.

Le proteine esposte ad alte concentrazioni di sale tendono a precipitare, perché il sale le priva del loro alone di idratazione.

Nelle proteine alofile c'è una preferenza per gli aminoacidi acidi rispetto alle proteine normali.

Si è quindi costruito il **modello solvatazione-stabilizzazione** che consiste nell'esposizione in superficie, da parte della proteina, di un numero elevato di catene laterali di aminoacidi acidi. Le cariche negative esposte così in superficie favoriscono l'interazione sia coi sali che con le molecole di acqua, stabilizzando la forma nativa.

Le proteine alofile hanno molte applicazioni in biotecnologia. L'interesse è dovuto a vari fattori:

- Molti alofili producono polioidrossialcanoati

Possono essere usati per la produzione di bioplastiche

- Producono osmoliti

Utili come agenti protettivi, ad esempio in ambito cosmetico.

- Producono biosurfattanti e bioemulsificanti

- Sono organismi molto robusti, che si possono quindi utilizzare in vari scenari di applicazione industriale

- Producono molti altri enzimi interessanti.

Review consigliata: *Halophiles, Coming Stars for Industrial Biotechnology*. Yin Jin, Chen Jin-Chun, Wu Qiong, Chen Guo-Qiang

Enzimi ottenuti da Alofili

Molti enzimi ricavati da organismi alofili sono stati studiati e sono già stati utilizzati. Molti appartengono alla classe delle idrolasi. Queste idrolasi sono molto robuste, perché non solo tollerano alte concentrazioni saline, ma sono anche resistenti alle variazioni di temperatura e di pH. Gli enzimi alofili più utilizzati sono amilasi, lipasi, proteasi, xylanasi e cellulasi.

Le proteasi sono utili per essere utilizzate come additivi in alimenti che si producono ad alta concentrazione di sale, quali pesce, carne e nella produzione di salsa di soia.

Esempio tratto da articolo, precedentemente citato, di Yin et al

Un organismo alofilo come *Halomonas* può crescere ad alta concentrazione di NaCl, alto pH e ad un ampio range di temperature. Si possono quindi disegnare processi che impediscono la crescita di altri microorganismi contaminanti.

Ad esempio si può usare acqua di mare come solvente, scarti di cucina come substrato, senza sterilizzare nulla perché le condizioni di reazione impediscono la crescita di altri microorganismi. Si risparmia quindi su molti fronti, compresa la sterilizzazione.

Estremofili che sopportano condizioni estreme di pH

Condizioni estreme di pH non sono diffuse sul pianeta, ma sono in genere legate ad attività umane.

Estremofili adattati a pH acido si trovano nelle acque reflue delle miniere.

L'adattamento in questo caso non riguarda le proteine intracellulari, perché il pH intracellulare resta neutro, ma gli enzimi secreti. Questi sono utili perché possono essere utilizzati per reazioni a pH estremi, ad esempio nei detergenti.

Gli enzimi più utilizzati sono proteasi, amilasi e lipasi.

I batteri acidofili più frequentemente usati sono *Sulpholobus* e *Thiobacillus*.

Le proteine sono stabilizzate dagli aminoacidi carichi.