



**BIOLOGIA SINTETICA:APPLICAZIONI ALLE SPECIE FOTOSINTETICHE PER  
UN'ECONOMIA SOSTENIBILE**

**SYNTHETIC BIOLOGY:APPLICATION TO THE PHOTOSYNTETIC SPECIES  
FOR A SUSTAINABLE ECONOMY**

Dipartimento di scienze della vita e  
dell'ambiente Corso di laurea in Scienze  
Biologiche

*Tesi di laurea:* **Bimbi Ayrton**

*Relatore:* **Gerotto Caterina**

Anno accademico 2022/ 2023

# Biologia sintetica, cosa è?

**Branca emergente della biologia che si pone l'obiettivo di rendere replicabili e ingegnerizzabili i meccanismi fisiologici**



**Tramite circuiti genetici opportunamente progettati**



**Per sfruttare gli organismi autotrofi con lo scopo di aumentare la resa dei raccolti, modellare a piacimento gli organismi, produrre sostanze di interesse**

# Costruzione di un circuito genetico

## Design

- Identificazione e selezione delle componenti chiave per una produzione efficiente del target

## Build

- Assemblaggio delle componenti funzionali in un circuito funzionante

## Test

- Caratterizzazione funzionale

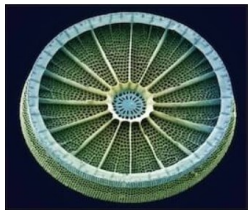
## Learn

- Osservazione e analisi

# Microorganismi fotosintetici: editing genetico



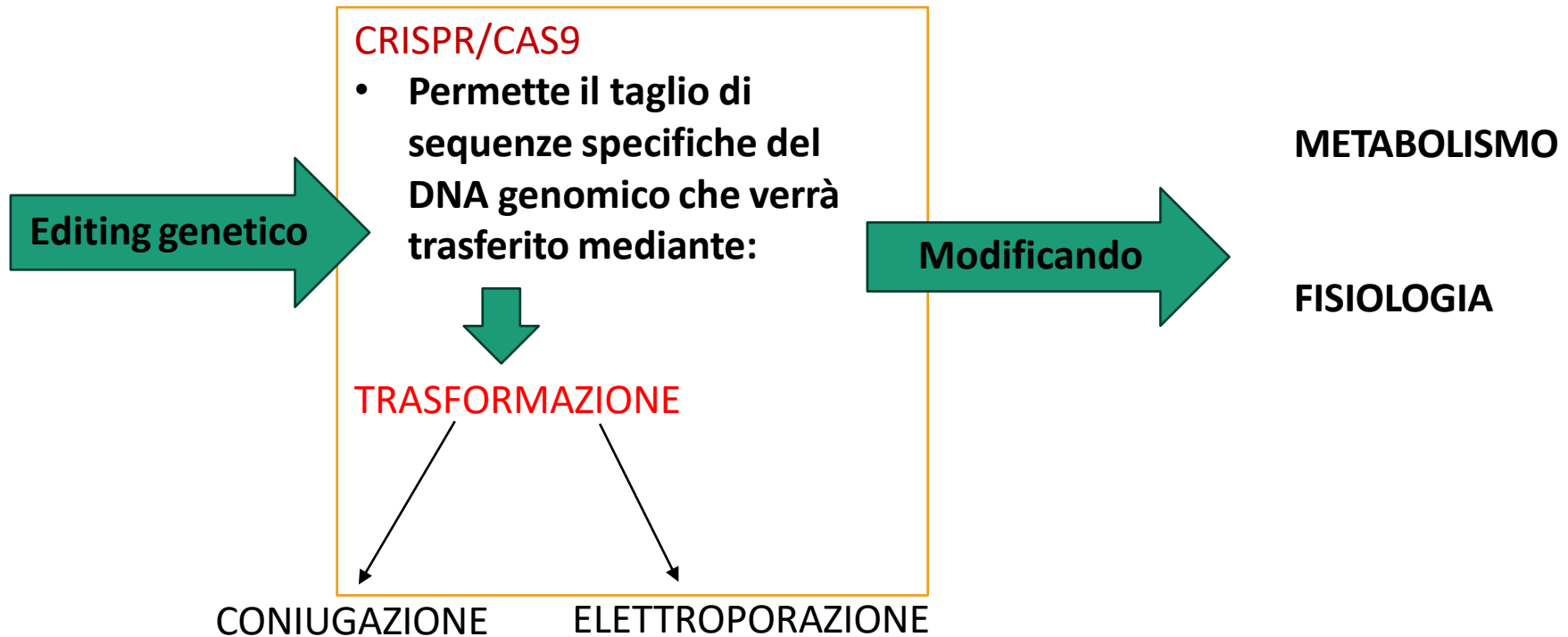
Clorofita



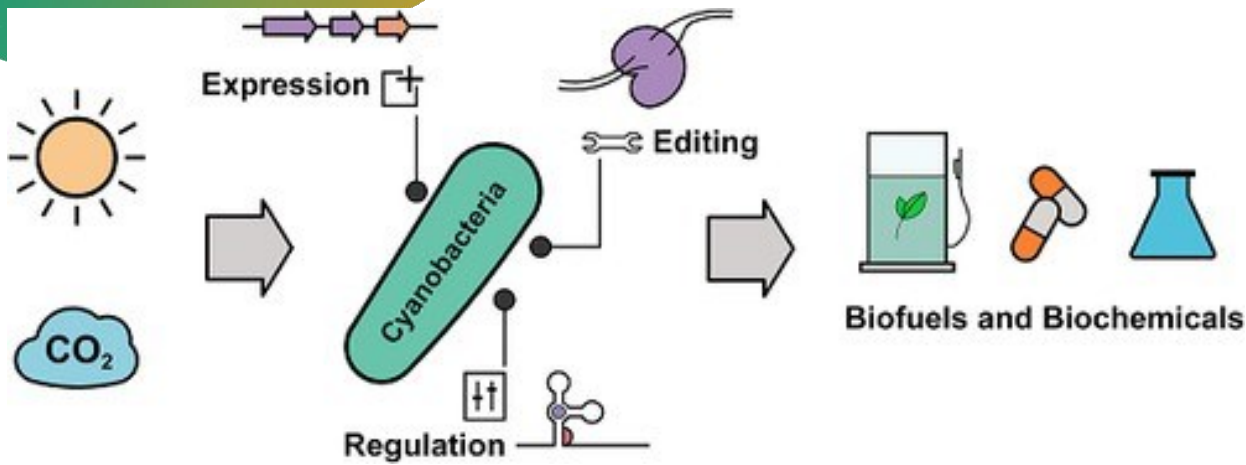
Diatomea



Cianobatterio



# Cianobatteri



Wang F. et al 2020

Versatili

- Suscettibili alle manipolazioni genetiche
- Facilità di sequenziamento genico
- Ubiquitari

Sostenibili

- Condizioni di crescita economiche
- Non competono con i terreni utilizzati per le risorse alimentari

M  
A

**CON RESE TROPPO BASSE**

Considerando le citate caratteristiche dei cianobatteri, essi sono dei candidati promettenti per la produzione sostenibile di **biocarburanti e sostanze chimiche di alto valore:**

Molecola prodotta	Specie utilizzata	Metodologia	Utilizzi
ISOPRENE	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	Amplificazione ed importazione gene <b>isoprene sintasi</b> dalle piante	Precursore dei terpeni
LIMONENE	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	Importazione gene <b>limonene sintasi</b> dalle piante	Solventi, biocombustibili, applicazioni commerciali
ALCANI	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	Sovraespressione geni <b>AAR and ADO</b>	Costituenti dei composti a base di petrolio
ACIDI GRASSI	<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	Sovraespressione del gene della <b>proteina trasportatrice acile-acile tioesterasi</b>	Biocombustibili

# Microalghe: eucarioti fotosintetici

## Vantaggi

- Organismi oleaginosi
- Rapido tasso di crescita
- Colonizzano ambienti difficili

## Svantaggi

- Editing genetico spesso inefficace:
  - Parete cellulare molto resistente
  - Metodologie specie-specifiche
- Comprensione meccanismi fisiologici non sufficiente

Clorofite e diatomee presentano un'elevata biodiversità

Le Diatomee sono caratterizzate da una tipica parete detta **frustolo**, costituito principalmente da silice che la rende molto resistente

Le clorofite sono più affini alle piante superiori, contengono clorofilla *a* e *b* e alcune presentano pareti fatte di cellulosa.

Al fine di rendere i prodotti derivati dalle microalghe convenienti e commercialmente competitivi le tecniche di biologia sintetica si pongono l'obiettivo di incrementare **tassi di crescita e produttività lipidica**

➔ **TAG**: usati come precursori del biodiesel

➔ **Acidi grassi**: usati per produrre prodotti chimici sfusi e integratori alimentari.

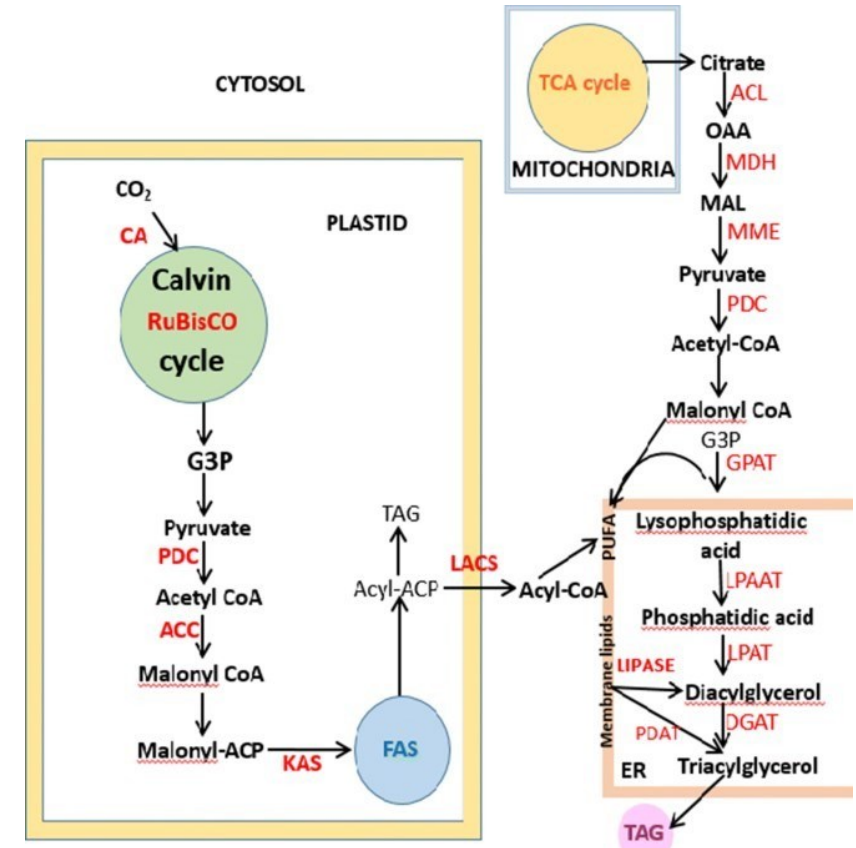
La modifica diretta della via di sintesi lipidica è un'area che ha visto un discreto successo nell'aumentare la bioproduttività dei lipidi.

Acetil-CoA carbossilasi (ACC) è noto per essere un enzima essenziale e limitante nella biosintesi degli acidi grassi, e quindi dell'accumulo di TAG. La sua sovraespressione ha portato a risultati interessanti:

- Nella diatomea *T. pseudonana* aumento di 1,77 volte del contenuto lipidico. PUFA prodotti spontaneamente
- Nella clorofita *C. reinhardtii* è stato registrato un incremento della sintesi lipidica superiore dal 21,6% al 28.4%. MUFA e PUFA hanno registrato anch'essi un incremento.

I ceppi mutanti hanno avuto un aumento fino a 1,29 volte del tasso di crescita rispetto al tipo selvatico, dimostrando che il metabolismo modificato di queste colture non stava influenzando negativamente la crescita.

Accoppiare la produzione dei lipidi con molecole ad alto valore come MUFA, PUFA permette di ridurre nello stesso tempo i costi produttivi.

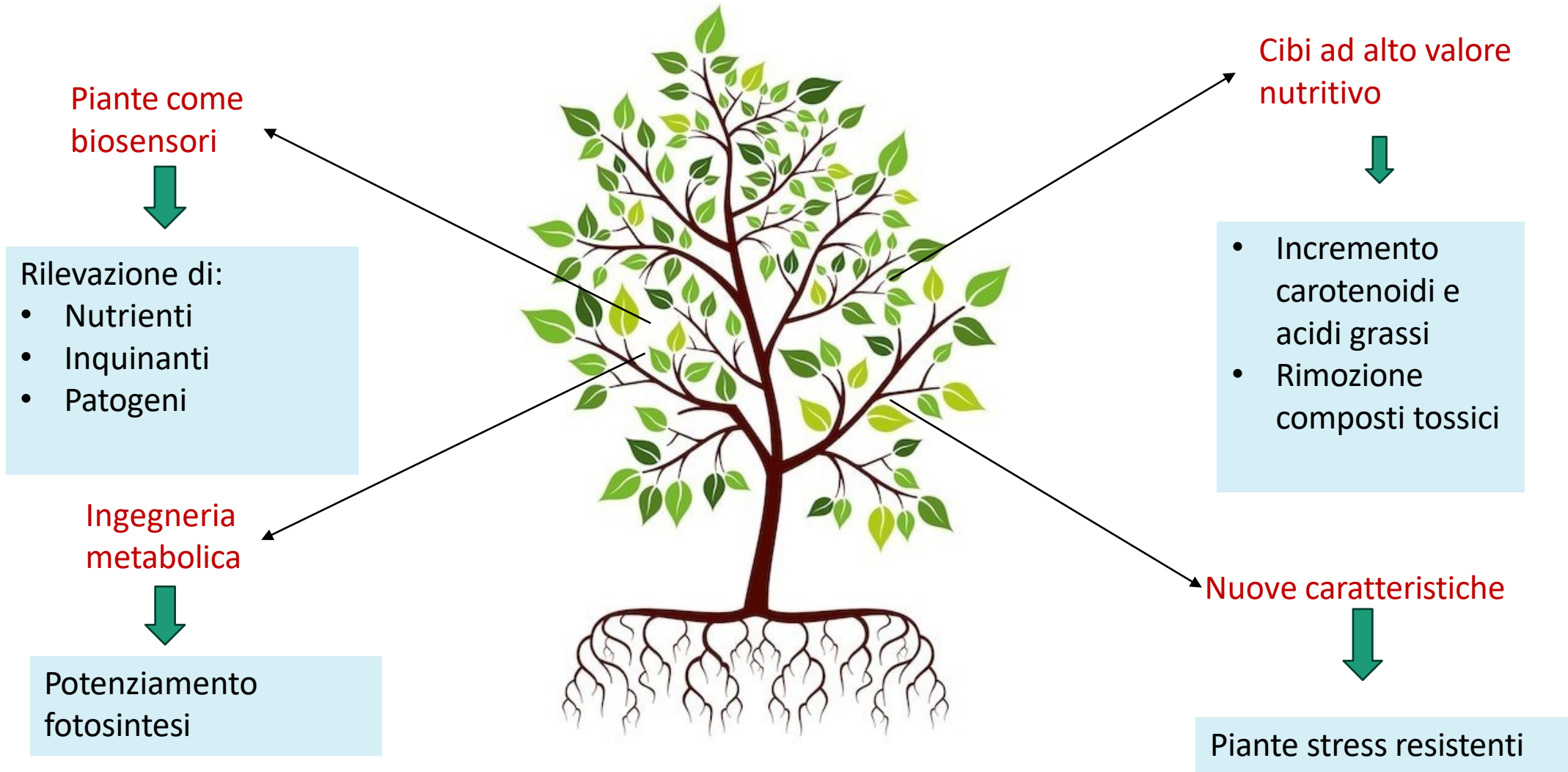


**Processo di biosintesi dei lipidi e enzimi coinvolti**

*Jagadevan S. et al. (2018)*



# Applicazioni alle piante



# Conclusione

L'importanza di ricerche e sviluppi nel campo della biologia sintetica come si può comprendere riveste un'importanza cruciale per un futuro sostenibile. Gli organismi autotrofi dimostrano un potenziale sempre più alto per quanto riguarda la produzione di vari prodotti utilizzati in diverse ambiti favorendo al contempo l'utilizzo di risorse rinnovabili ed ecologiche. Nonostante un panorama così ottimale i vari sistemi necessitano però di ulteriori sviluppi per poter essere sfruttati e per poter davvero essere considerati alternativi.

# Bibliografia

- Goodchild-Michelman IM, Church GM, Schubert MG, Tang TC. **Light and carbon: Synthetic biology toward new cyanobacteria-based living biomaterials.** Mater Today Bio. (2023) DOI: 10.1016/j.mtbio.2023.100583
- Feb Jagadevan S, Banerjee A, Banerjee C, Guria C, Tiwari R, Baweja M, Shukla P. **Recent developments in synthetic biology and metabolic engineering in microalgae towards biofuel production.** Biotechnol Biofuels. 2018 Jun 30. DOI: 10.1186/s13068-018-1181-1.
- Vavitsas K, Kugler A, Satta A, Hatzinikolaou DG, Lindblad P, Fewer DP, Lindberg P, Toivari M, Stensjö K. **Doing synthetic biology with photosynthetic microorganisms.** *Physiol Plant.* 2021 Oct. DOI: 10.1111/ppl.13455.
- Xia PF, Ling H, Foo JL, Chang MW. **Synthetic Biology Toolkits for Metabolic Engineering of Cyanobacteria.** Biotechnol J. 2019 Jun DOI: 10.1002/biot.201800496..
- Ng I., Keskin B. B., Tan S., **A Critical Review of Genome Editing and Synthetic Biology Applications in Metabolic Engineering of Microalgae and Cyanobacteria.** *Biotechnol. J.* 2020, 15, DOI=10.1002/biot.201900228
- D. Ewen Cameron, Caleb J. Bashor & James J. Collins Nature Reviews Microbiology **A brief history of synthetic biology** 01 April 2014 DOI= 10.1038/nrmicro3239
- Kubis A, Bar-Even A. **Synthetic biology approaches for improving photosynthesis.** J Exp Bot. 2019 Mar 11. DOI=10.1093/jxb/erz029.
- Jagadevan S, Banerjee A, Banerjee C, Guria C, Tiwari R, Baweja M, Shukla P. **Recent developments in synthetic biology and metabolic engineering in microalgae towards biofuel production.** Biotechnol Biofuels. 2018 Jun 30. DOI: 10.1186/s13068-018-1181-1.
- Wang F, Gao Y, Yang G. **Recent advances in synthetic biology of cyanobacteria for improved chemicals production.** Bioengineered. 2020 Dec. DOI: 10.1080/21655979.2020.1837458.
- Jinhong Wu, Xinzhe Gu, Danlu Yang, Shannan Xu, Shaoyun Wang, Xu Chen, Zhengwu Wang. **Bioactive substances and potentiality of marine microalgae** 26 July 2021 DOI= 10.1002/fsn3.2471
- Alberto Rock, Lucie Novoveská & David Green **Synthetic biology is essential to unlock commercial biofuel production through hyper lipid-producing microalgae: a review,** Applied Phycology, 28 April 2021 DOI= 10.1080/26388081.2021.1886872
- Rene H Wijffels, Maria J Barbosa, Michel H M Eppink. **Microalgae for the production of bulk chemicals and biofuels** 20 May 2010 DOI= 10.1002/bbb.215
- Hagemann M, Hess WR. **Systems and synthetic biology for the biotechnological application of cyanobacteria.** Curr Opin Biotechnol. 2018 Feb;. DOI= 10.1016/j.copbio.2017.07.008.
- Gupta, Gauri Sharma, Pooja Saraswat & Rajiv Ranjan **Synthetic Biology in Plants, a Boon for Coming Decades** Dipinte Molecular Biotechnology v (2021) DOI= 10.1007/s12033-021-00386-9
- IMMAGINI SLIDE 4= Cianobatterio = chimica-online.it, Diatomea= chimica-online.it, CLOROFITA:https://images.squarespace-cdn.com/content/v1/54a6bdb7e4b08424e69c93a1/1516225906692-ZOG1DCD29Q6E3B4O9SGH/201410\_chlamydomonas.png?format=500w

# Riassunto esteso

La biologia sintetica è una branca emergente della biologia che sfrutta l'ingegneria genetica per cercare di modificare e replicare i sistemi biologici per poterli sfruttare per i propri scopi. Ha acquistato notevole importanza negli ultimi anni in quanto cruciale per una transizione verso un'economia sostenibile ed ecologica perché permette di sfruttare gli organismi autotrofi, dai procarioti come i cianobatteri agli eucarioti come alghe e piante. Queste tre classi di organismi presentano una notevole potenzialità per raggiungere questi scopi in quanto dotati di percorsi metabolici e fisiologici che permettono, almeno teoricamente, di offrire alternative più sostenibili agli odierni processi industriali, ovviare alle sempre più alte richieste alimentari. Mentre i cianobatteri si prestano già a numerose applicazioni seppur con rese tali da non offrire delle vere e proprie alternative, alghe e piante sono ancora nelle prime fasi di sviluppo e sono tutt'ora attese delle svolte importanti. Quindi, nonostante la premessa, limitazioni legate a tecniche genetiche inefficienti o scarsa comprensione degli organismi utilizzati smorzano di molto il potenziale della biologia sintetica. Grazie alle continue ricerche ci si aspetta grandi svolte nei prossimi anni che potrebbero rivoluzionare l'economia tutta.