

RESUM

Els monoterpens (C10) són isoprenoids habitualment utilitzats com additius aromàtics, són components importants de l'aroma dels vins i alguns tenen propietats antimicrobianes i/o beneficioses per a la salut. La producció eficient d'aquests metabòlits en microorganismes podria ser una alternativa més econòmica i respectuosa amb el medi ambient que les tècniques emprades en l'actualitat: síntesi química i/o extracció de fonts naturals.

A les plantes els monoterpens són produïts per monoterpeno sintases que utilitzen com a substrat geranil pirofosfat (GPP), sent aquest un intermediari comú de la ruta dels isoprenoids en microorganismes i organismes superiors, el que obri la possibilitat de produir-los en el llevat *Saccharomyces cerevisiae*, amb qualificatiu GRAS, i que ha sigut a més àmpliament utilitzat per a la biotransformació i producció d'enzims i metabòlits d'interès biotecnològic.

En aquest treball s'ha caracteritzat i millorat, mitjançant tècniques d'enginyeria metabòlica, la capacitat inherent que té aquest llevat per a la producció heteròloga de monoterpens (linalol, geraniol, etc.), que puguen millorar les característiques organolèptiques i/o funcionals de certs aliments en ser usats com additius o en augmentar la seua concentració durant el propi procés d'elaboració (p. ex. vinificació). Entre els resultats més destacats es troben la selecció de la soca vínica industrial T₇₃ per la seua major capacitat per a produir monoterpens, i la millora d'aquesta producció mitjançant la sobreexpressió desregulada de l'enzim Hmg1p (catalitza la formació de l'àcid mevalònic, MVA) i del gen *IDII* (codifica isopentenil pirofosfat isomerasa, que catalitza la isomerització dels substrats de la farnesil pirofosfat sintasa, FPPS). A més, la caracterització del rol de l'enzim FPPS en la disponibilitat de GPP per al seu aprofitament per l'enzim linalol sintasa de *Clarkia breweri*, va derivar en una producció de linalol 50 vegades major en soques en les que una versió modificada en el seu centre actiu (K197E), codificada per l'al·lel *erg20-2*, reemplaçava a l'enzim silvestre (codificada per *ERG20*); aconseguint una millora global de 80 vegades respecte a la producció de linalol inicial ($14,51 \pm 0,90 \mu\text{g/L}$), en sobreexpressar conjuntament el gen *IDII* i l'al·lel *erg20-2* en soques productores de linalol que no tenen la funció FPPS endògena ($1144,68 \pm 139,39 \mu\text{g/L}$).

Les soques productores de geraniol (expressen el gen *GES* que en *Ocimum basilicum* -alfàbrega- codifica geraniol sintasa) derivades de T₇₃ es van incloure en assajos de microvinificació i la concentració d'aquest monoterpè en el vi final no només va estar per sobre del seu llindar de percepció, sinó que es va produir una dispersió metabòlica del geraniol cap a altres monoterpens (linalol, nerol i citronel·lol) i èsters (geranil i citronel·lil acetat) aromàtics. A més, l'increment de la producció de monoterpens observat en condicions de laboratori en soques que sobreexpressen el gen *IDII* es va reproduir en aquests assajos, demostrant que la modificació de passos clau de la ruta MVA és una estratègia vàlida per modular i/o millorar l'aroma del vi.