

Resumen

Esta tesis aborda el desarrollo de una biointerfase viviente entre materiales sintéticos y células vivas con el objetivo de dirigir la interacción célula-material en aplicaciones de ingeniería tisular. Esta biointerfase está compuesta de *Lactococcus lactis*, una bacteria láctica no patógena, ampliamente usada en la industria láctea como inóculo, y, recientemente, en la expresión heteróloga de proteínas para su uso como vacunas de administración oral o su expresión en membrana.

L. lactis ha sido genéticamente modificado para expresar el fragmento III₇₋₁₀ de la fibronectina, unida a GFP como reporter. La fibronectina es una proteína presente de forma ubicua en la matriz extracelular, una compleja red de proteínas adhesivas y estructurales cuyo propósito es servir como soporte estructural y como nicho de desarrollo para diversos tejidos. Este fragmento contiene dos secuencias importantes, RGD y PHSRN. RGD es una secuencia adhesiva de unión que interacciona con una amplia variedad de integrinas, receptores de membrana que juegan muchos e importantes papeles en diferentes procesos celulares, como adhesión, proliferación, migración o diferenciación. Por otra parte, PHSRN se une a las integrinas de forma sinérgica con RGD facilitando aún más estos procesos y aumentando la especificidad de esta interacción.

La cepa de *L. lactis* modificada ha sido ampliamente caracterizada para estudiar su idoneidad como interfaz funcional viviente. Se ha demostrado que *L. lactis* es capaz de expresar el fragmento FNIII₇₋₁₀-GFP covalentemente anclado a la pared celular bacteriana, habiéndose caracterizado también su actividad biológica con técnicas como Western blot, ELISA e inmunofluorescencia. Esta cepa mantiene la capacidad de desarrollo de biofilms presente en la gran mayoría de microorganismos. Los biofilms son comunidades de bacterias sésiles adheridas a un sustrato que pueden ser usadas como interfase física entre células de mamífero y sustratos abióticos.

También se ha estudiado la respuesta celular a la fibronectina expuesta en la membrana de *L. lactis*. Se estudiaron varias líneas celulares, como fibroblastos Fn⁻/Fn⁻ y NIH3T3, mioblastos C2C12 y células mesenquimales humanas derivadas de médula ósea. Esta interfase viviente fue capaz de provocar respuesta celular en forma de adhesión en todas las líneas estudiadas, además de inducir diferenciación de mioblastos a miotubos en C2C12 y de provocar la fosforilación de FAK, un marcador de señalización celular mediada por integrinas.

En células mesenquimales humanas se demostró la capacidad del fragmento de fibronectina expuesto para fosforilar ERK1/2, una kinasa perteneciente a la ruta de señalización MAPK, ruta que forma parte de muchos procesos celulares importantes como diferenciación, proliferación y migración.

Pese a todo, esta tesis es sólo una prueba de concepto de un sistema que puede ser utilizado para expresar casi cualquier proteína o molécula pequeña deseada, que puede ser muy útil en el desarrollo de nuevos tejidos a partir de sus células progenitoras. Estas moléculas pueden ser secretadas en el medio o ancladas en la pared celular, de forma constitutiva o bajo demanda, debido a la flexibilidad y amplia variedad de sistemas de expresión disponibles para *L. lactis*.

Esta biointerfaz basada en bacterias vivas establece un nuevo paradigma en el campo de la funcionalización de superficies para aplicaciones de ingeniería biomédica.