

INFLUENCIA DE LAS FRACCIONES PROTEICAS DEL SUERO LÁCTEO Y FUENTES DE CARBONO SOBRE LA EXPRESIÓN DE LA PENICILINA G ACILASA

Erika Ramos Salas, Anna Iliná, Cristóbal Aguilar, José Luis Martínez Hernández*.

Dpto. de Biotecnología. Fac. de Ciencias Químicas. UAdC. Blvd. V. Carranza. C.P. 2500, Saltillo, Coahuila, México.

*e-mail: jose-martinez@mail.uadec.mx

Palabras clave: *Penicilina G acilasa*, *Suero lácteo*, *Mucor griseocyanus*.

Introducción. Las penicilina acilasas (PGA, amidohidrolasa, EC. 3.5.1.11) son un grupo de enzimas de importancia comercial ya que catalizan la hidrólisis del enlace amido de la cadena de las moléculas de penicilina, produciendo el núcleo betalactámico 6 APA, el cual es un compuesto clave para la síntesis de antibióticos semisintéticos (1). La PGA es producida por una gran variedad de microorganismos entre los cuales se destaca *Mucor griseocyanus*. La enzima de esta fuente es una proteína extracelular con excelentes propiedades catalíticas (1). Se han empleado diferentes medios para la obtención de la PGA, sin embargo, el suero lácteo ha resultado ser un medio de cultivo atractivo por su gran cantidad de micronutrientes (2). El objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia que tienen las fracciones proteicas del suero lácteo y diferentes fuentes de carbono sobre la cinética de producción de la enzima PGA de *Mucor griseocyanus*.

Metodología. El suero lácteo fue fraccionado secuencialmente por precipitación con sulfato de amonio a 20, 40, 60, y 80%. Utilizando estas fracciones como única fuente de nutrientes se evaluó la cinética de expresión de la enzima PGA durante fermentación de *M. griseocyanus* por 120 h. Empleando el medio salino con la fracción seleccionada se evaluó el efecto de dextrosa, sacarosa y lactosa en concentraciones de 5, 15 y 25 g/L, sobre la producción de la PGA, usando como controles suero lácteo con y sin inductor (penicilina G 0.05g/L). Durante la fermentación se cuantificaron actividad enzimática (1), concentración de proteínas (3) y azúcares totales (1). Al final de ensayo se evaluó la cantidad de biomasa seca producida (1).

Resultados y discusión. En el ensayo de fermentación de hongo de interés se utilizaron los sobrenadantes y precipitados obtenidos a partir de suero lácteo. La mayor actividad de enzima se detectó a las 24 h o 36 h de fermentación. Se observó que con el precipitado correspondiente a la fracción de 60% de sal, se logran los mayores niveles de actividad enzimática incluso sobre los controles (Fig. 1). Esto demuestra que esta fracción contiene el componente responsable de la mayor inducción de la PGA. Cabe mencionar que Silva y col. (2) no lograron obtener un medio de fermentación para *Bacillus spp.* que permita la inducción de PGA a niveles mayores que en suero lácteo. En el presente trabajo la actividad de enzima de interés en presencia de la

fracción seleccionada fue más de 2 veces mayor que en suero lácteo en presencia del inductor exógeno.

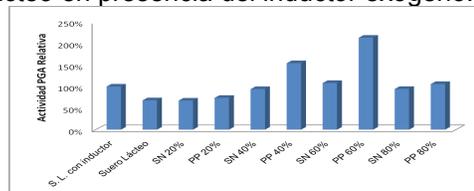


Fig. 1. Actividad relativa de PGA en presencia de diferentes fracciones del suero lácteo y suero lácteo con y sin inductor. (PP: precipitado; SN sobrenadante.)

Posteriormente se realizaron las fermentaciones en presencia de carbohidratos y la fracción seleccionada. La Fig. 2 muestra los resultados obtenidos a las 24 h de fermentación (el tiempo correspondiente a mayor actividad detectada). La mayor actividad específica de PGA se observó en el medio con dextrosa a 15 g/L, a pesar de que la mayor cantidad de biomasa se obtuvo con dextrosa a 25 g/L. La actividad volumétrica en todos casos fue menor que en el ensayo anterior con la fracción seleccionada.

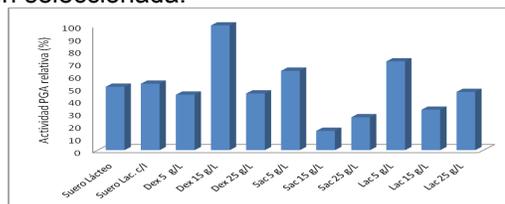


Fig. 2. Actividad específica relativa de PGA en los diferentes medios usados. (Dex: dextrosa; Sac: sacarosa; Lac: lactosa)

Conclusiones. Se demostró una mayor producción de PGA en presencia de la fracción de suero obtenida a 60% de sulfato de amonio, además la adición de azúcares conduce a un decremento de la actividad volumétrica, mientras que la actividad específica se aumenta.

Bibliografía.

- Martínez Hernández J.L., Ilyina A., Domínguez Malfavón L., Dustet M. J.C. (2003). Partial characterization of penicillin acylase from fungi *Aspergillus fumigatus* and *Mucor griseocyanus*. *Vest. Mosk. Unive. Khim.* 44 (1): 53-56.
- Silva R. G., Souza V. R., Nucci E., Pinotti L. M., Cruz A. J., Giordano R. C. and Giordano L.C. (2006). Using a medium of free amino acids to produce penicillin G acylase in fedbatch cultivations of *Bacillus megaterium* ATCC 14945. *Brazilian J. Chem. Engin.* 23 (1): 37-43.
- Bradford M.M. (1976). A rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.