



### EL AMPc REGULA LA PRODUCCIÓN DE CELULASAS EN *Cellulomonas flavigena*

Irais Sánchez Gutiérrez<sup>1</sup>, Odilia Pérez<sup>2</sup>, Teresa Ponce Noyola<sup>2</sup>, Luis M. Salgado<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CICATA-IPN, Cerro Blanco 141, Col. Colinas del Cimatarío, 76090, Querétaro, Qro.  
Tel. 442-2291291, e-mail: [msalgador@ipn.mx](mailto:msalgador@ipn.mx); <sup>2</sup>CINVESTAV-IPN, Departamento de Biotecnología y Bioingeniería.

Palabras clave: *Cellulomonas flavigena*, Celulasas, AMPc

#### Introducción.

La celulosa es el principal componente de las plantas, siendo el polisacárido más abundante en la tierra, para su completa degradación requiere un complejo enzimático con efecto sinergista. *Cellulomonas flavigena*, una bacteria Gram positiva capaz de crecer en cualquier residuo agrícola o medio mineral formulado con sales grado industrial, tiene un potencial industrial interesante ya que produce un complejo enzimático compuesto por una gran variedad de glicosil hidrolasas, principalmente xilanasas y celulasas (1). Dichas enzimas se usan principalmente en la industria alimenticia y papelera, actualmente llaman la atención por la posible aplicación en la producción de biocombustibles (2). La síntesis de celulasas y  $\beta$ -glucosidasas se encuentra sujeta a represión por glucosa y otros sustratos fácilmente metabolizables. Se sugiere que la presencia de este tipo de sustratos causa una disminución en los niveles de AMP cíclico (AMPc) reprimiendo la síntesis enzimática, por lo que se requieren altas concentraciones de AMPc para la producción de enzimas inducibles.

El objetivo fue demostrar que el AMPc regula positivamente la producción de celulasas a nivel transcripcional en *Cellulomonas flavigena* crecida en diferentes fuentes de carbono.

#### Metodología.

*C. flavigena* CDBB-531 (Colección Microbiana, departamento de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV) fue crecida en medio mineral suplementado con biotina (0.01g/l), tiamina (0.001g/l) y glucosa (1%,W/V) (2). Las células fueron recuperadas de los cultivos anteriormente mencionados, a las cuales se les hicieron lavados con solución salina, posteriormente se procedió con la extracción y cuantificación del RNA total. Una vez obtenido el material, se procedió a preparar geles de agarosa en condiciones desnaturalizantes, los cuales se usaron en el proceso de Northern Blot. Además, el RNA obtenido se utilizó para sintetizar cDNA por medio de la transcriptasa reversa. Este cDNA se utilizó como molde para detectar y cuantificar la expresión de varios genes mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Los genes *celcflA*, *celcflB*, *cexO*, *celR* y *xyncflA* de *Cellulomonas flavigena* fueron analizados y cuantificados.

#### Resultados y discusión.

*Cellulomonas flavigena* fue crecida en medio mineral suplementado con bagazo de caña de azúcar al 1%, después de 13 h de cultivo se les adiciono glucosa, AMPc o N<sup>6</sup>, 2'-O-dibutiriladenosina 3',5-monofosfato cíclico. (Br-AMPc) y se determinó la actividad de algunas enzimas celulolíticas. A los cultivos a los que se les añadió glucosa presentan una disminución considerable de la actividad enzimática medida en los sobrenadantes, sin embargo, al adicionar AMPc o su análogo no metabolizable, las actividades enzimáticas se mantienen en niveles casi constantes.

Una posibilidad, para explicar éste efecto, es que la producción de las enzimas este regulada positivamente por el AMPc a nivel transcripcional. Lo cual se ve apoyado por el efecto que este nucleótido cíclico tiene sobre la expresión de genes que codifican para celulasas en *Cellulomonas flavigena*. La glucosa ejerce un efecto represor sobre la transcripción de los genes analizados, esto comparado con los niveles de transcritos encontrados al crecer a la bacteria en bagazo de caña de azúcar. Tanto el AMPc, como su análogo no metabolizable, contrarrestan el efecto represor de la glucosa sobre los genes analizados.

#### Conclusiones.

El AMPc regula a nivel transcripcional la producción de celulasas en *Cellulomonas flavigena* crecida en bagazo de caña de azúcar.

#### Agradecimiento.

Este trabajo fue financiado por el CONACYT, México (Ref. 45678-Z, TP), SIP del IPN (Ref. 20090947, LMS), IS es becaria del CONACYT, México.

#### Bibliografía.

- Herrera-Herrera, JA, Pérez-Avalos, O, Salgado, LM, and Ponce-Noyola T (2008), cAMP regulates the production of a cellobiohidrolase, the product of the gene *cel A*, in *Cellulomonas flavigena*. Manuscrito enviado.
- Sánchez-Herrera, L, Ramos-Valdivia A, de la Torre A, Salgado, LM, Ponce-Noyola, T (2007), Differential expression of cellulases and xylanases by *Cellulomonas flavigena* grown on different carbon sources. *Appl Microbiol Biotechnol.* Vol (77). 589-595.