

### EFECTO DE LA ACTIVACIÓN CONSTITUTIVA DE LA SUBUNIDAD ALFA DE UNA PROTEÍNA G HETEROTRIMÉRICA HETERÓLOGA SOBRE LA ESPORULACIÓN Y LA PRODUCCIÓN DE CEFALOSPORINA C EN *Acremonium chrysogenum*

Jessica Ramón, Francisco Fierro, Armando Mejía y Francisco J. Fernández.

Universidad Autónoma Metropolitana, Laboratorio de Ingeniería Genética y Metabolismo Secundario. Av. Sn Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina, Iztapalapa. Fax 5804-4712, fjfp@xanum.uam.mx.

Palabras clave: *cefalosporina C*, *conidiogénesis*, *proteínas G*.

**Introducción.** El hongo *Acremonium chrysogenum* es el único microorganismo productor de cefalosporina C, un antibiótico  $\beta$ -lactámico de gran interés biotecnológico a nivel mundial. A pesar de su gran importancia en la industria, el conocimiento acerca de los mecanismos moleculares que regulan la biosíntesis de cefalosporina aun es limitado. Las proteínas G heterotriméricas regulan varios procesos morfogénicos de los hongos, como el crecimiento de la colonia, la esporulación asexual (principal mecanismo de propagación de los hongos filamentosos) e, incluso, la producción de metabolitos secundarios.

En el presente trabajo se estudió el papel de la subunidad  $\alpha$  de una proteína G heterotrimérica en la regulación de la conidiogénesis y la biosíntesis de cefalosporina en *A. chrysogenum*.

**Metodología.** Se utilizó el plásmido pG42Rb (1), que posee el gen de la subunidad  $\alpha$  Pga1 de *Penicillium chrysogenum* con una mutación que la hace constitutivamente activa (*pga1<sup>G42R</sup>*). Protoplastos de la cepa ATCC 11550 de *A. chrysogenum* fueron transformados con dicho plásmido y con el plásmido control pJL43b1 (sin el alelo *pga1* mutado). Una vez que las transformantes fueron confirmadas, se determinó su comportamiento en relación con el desarrollo asexual (conidiación) en cultivo sumergido. La biosíntesis de cefalosporina C se evaluó mediante bioensayos en placa.

**Resultados y discusión.** Las transformantes Pga1G42R mostraron una reducción en su producción de conidios de alrededor del 90%, a lo largo de 7 días de crecimiento en medio CCM (Figura 1).

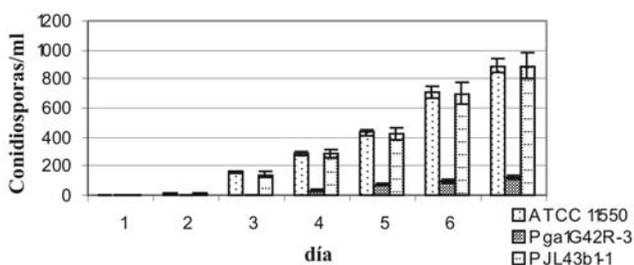


Fig. 1. Producción de conidiosporas de *A. chrysogenum* ATCC 11550, transformantes Pga1G42R-3 y PjL43b1-1 en cultivo sumergido.

Por su parte, las transformantes PjL43b1 no mostraron diferencias apreciables con respecto a la cepa parental ATCC 11550. Este resultado indica que la presencia de la subunidad  $\alpha$  Pga1 activa constitutivamente provoca en *Acremonium chrysogenum* una drástica disminución del desarrollo asexual.

La cepa parental y las cepas transformantes con el plásmido control (PjL43b1) no mostraron diferencias significativas entre sí en cuanto a la producción de cefalosporina, iniciándose la producción del antibiótico a las 24 horas de fermentación. En cambio, la cepa Pga1G42R comenzó a producir cefalosporina C sólo a partir del cuarto día de fermentación, y acumuló al final de la misma un 25% de la concentración producida por la cepa control (Figura 2).

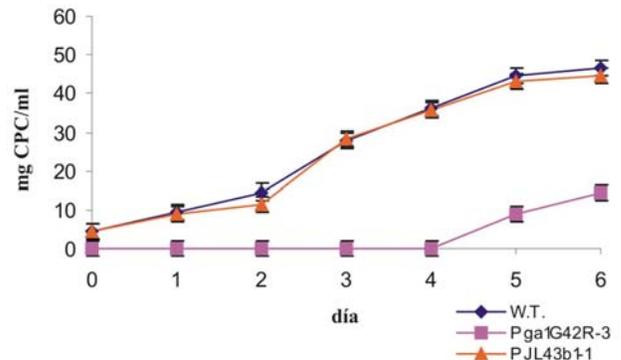


Figura 2. Producción de cefalosporina C por las cepas ATCC 11550, Pga1G42R-3 y PjL43b1-1 de *A. chrysogenum*.

**Conclusión.** La expresión de Pga1<sup>G42R</sup> en *A. chrysogenum* provocó una disminución en la producción de conidios en cultivo sumergido de un 80-100%, en comparación con la cepa silvestre ATCC 11550; y una drástica disminución en la biosíntesis de cefalosporina C, inhibiendo totalmente la producción del antibiótico durante las primeras 96 h de cultivo.

#### Bibliografía.

1. García-Rico, R.O., Martín, J.F. y Fierro, F. (2007). The *pga1* gene of *Penicillium chrysogenum* NRRL 1951 encodes heterotrimeric G protein alpha subunit that controls growth and development. *Res. Microbiol.* 158: 437-446.