

EFECTO DEL COBRE SOBRE LAS ISOFORMAS DE LACASAS PRODUCIDAS POR *Pleurotus ostreatus* EN CULTIVO LÍQUIDO

Elizet Cuatecontzi Cuahutle^{1,2}, Octavio Loera⁴, María Mercedes Rodríguez Palma¹, Gerardo Díaz-Godínez³, Francisco J. Fernández⁴ y Alba Mónica Montiel-González¹.

¹Laboratorio de biología molecular. Centro de Investigación en Ciencias Biológicas. Univ. Autónoma de Tlaxcala. ²Maestría en Ciencias Biológicas, UATx. ³Lab. de biotecnología, CICB, UATx. ⁴UAM-Iztapalapa, Depto. de Biotecnología.

Km. 10.5 autopista Texmelucan-Tlaxcala. Tel/Fax. (01) 248 4815482. amonicamg@yahoo.com

Palabras clave: Isoformas de lacasas, *Pleurotus ostreatus*, cobre.

Introducción. Las lacasas (E.C. 1.10.3.2, *p*-oxígeno oxido-reductasas), enzimas útiles en biorremediación, son secretadas por varias especies de hongos de pudrición blanca, como *Pleurotus ostreatus*. En esta especie, las lacasas se presentan en distintas isoformas, respondiendo a los estímulos ambientales (1), y utilizan cobre y oxígeno para oxidar compuestos como polifenoles, aminas aromáticas y otros sustratos no fenólicos (2). La adición de cobre al medio de cultivo se ha empleado para incrementar la actividad, aunque independientemente de la actividad total de las lacasas producidas, en estas condiciones se han observado diferencias en cuanto a la presencia y actividad de cada isoforma.

El objetivo de este trabajo fue determinar los perfiles de isoformas producidas por *Pleurotus ostreatus* en fermentación líquida, en presencia y ausencia de cobre, con el fin de poder contar con criterios para elegir la mejor isoforma para su posterior manejo.

Metodología. Se utilizó la cepa *Pleurotus ostreatus* ATCC-32783, incubada en un medio mineral líquido con glucosa, extracto de levadura y sales minerales. Cuando se adicionó cobre, se hizo como CuSO₄. El hongo fue incubado a 25°C y 120 rpm durante 20 días. Las isoformas se determinaron por el método zimográfico modificado descrito por Laemmli en 1970(3).

Resultados y discusión. En la Fig. 1 (A), se muestra el perfil de isoformas de lacasa producidas por el hongo en el medio sin adición de cobre.

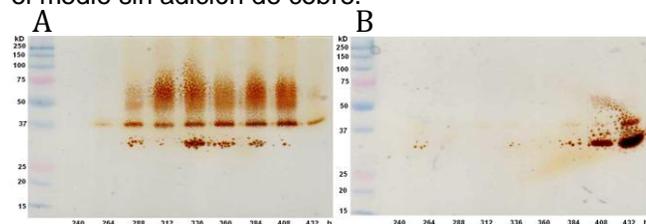


Fig. 1 Perfil de isoformas de lacasas producidas por *Pleurotus ostreatus* en A) medio líquido y B) en medio líquido adicionado con CuSO₄.

Se observa la presencia de una isoforma de aproximadamente 37 kDa a partir de las 120 h y que incrementan su actividad con el tiempo.

Otra isoforma, de aproximadamente 30 kDa se detecta a partir de las 192 h, e incrementa su actividad hasta que desaparece a las 408 h. A las 288 h se empieza a observar lo que parece una nueva isoforma, de alrededor de 50 kDa, que se mantiene hasta el final de la fermentación, con un incremento gradual en su actividad.

En la Fig. 1 (B) se observa el perfil de las lacasas producidas en presencia de cobre. Coincide con lo reportado en otros trabajos, observándose un incremento en la actividad enzimática en el extracto crudo y una disminución en el número de isoformas.

Conclusiones. La adición de cobre al medio reduce el número de isoformas, sin embargo la actividad que muestra la isoforma de 30 kDa que se encuentra en el cultivo con cobre es atractiva para iniciar con ella estudios para su posible utilización.

Agradecimientos. Al CONACYT por su apoyo en el financiamiento del proyecto No. 61796, al programa de becas de posgrado PNP por la beca otorgada a la Nut. Elizet Cuatecontzi. Al PROMEP por el apoyo a la reincorporación de exbecarios.

Bibliografía.

- 1.- Giardina P, Palmieri G, Scaloni A, Fontanella B, Faraco V, Cennamo G y Sanna G. (1999). Protein and gene structure of a blue laccase from *Pleurotus ostreatus*. *Bioch. J.* 341: 655-663.
- 2.- Claus H. (2003). Laccases and their occurrence in prokaryotes. *Arch. Microb.* 179:145-150.
- 3.- Téllez-Téllez M, Sánchez C, Loera O, Díaz-Godínez G. (2005). Differential patterns of constitutive intracellular laccases of the vegetative phase of *Pleurotus* species. *Biotech. Letters.* 27(18):1391-1394.