



## CARACTERIZACIÓN DE ISOFORMAS DE *Trametes versicolor* PRODUCIDAS MEDIANTE INDUCCIÓN QUÍMICA

Karla Verónica Teymennet Ramírez, Fernando Martínez Morales, María del Refugio Trejo Hernández

Centro de Investigación en Biotecnología-Laboratorio de Biotecnología Ambiental

Universidad Autónoma del Estado de Morelos

Av. Universidad No. 1001 C.P. 62209. Tel (777) 329 70 00 karla.teymennet@uaem.mx

*Palabras clave: inductores, isoformas, lacasas*

**Introducción.** Las lacasas (EC 1.10.3.2, p-difenol: dioxígeno oxidorreductasas) son fenoloxidasas multicobre ampliamente distribuidas en el reino fungi; las lacasas catalizan la oxidación de una amplia variedad de sustratos como mono-, di- y polifenoles, aminofenoles, metoxifenoles y aminas aromáticas (1). En los hongos de pudrición blanca, las lacasas son producidas como múltiples isoenzimas codificadas por familias de genes y se ha sugerido que los genes que codifican varias isoenzimas son reguladas diferencialmente, también pueden ser expresadas constitutivamente o pueden ser inducidas (2). El uso de inductores ha sido investigado en las últimas décadas ya que permite incrementar la actividad volumétrica de lacasas lo que favorece su aplicación en procesos de mayor escala (3). En este trabajo se evaluó el efecto de la adición de inductores químicos sobre la actividad volumétrica y el perfil de isoformas de lacasas.

**Metodología.** El efecto de diferentes inductores sobre la producción de lacasas de *Trametes versicolor* HEMIM-9 se determinó en diferentes tiempos de adición (día 0, 3 y 5) de cuatro compuestos químicos: alcohol veratrílico (2 mM), anilina (0.5 mM), etanol (0.35 M) y sulfato de cobre (0.3 mM), las cinéticas se mantuvieron durante 8 días. Para cada condición se realizaron zimogramas (12%) revelando con ABTS. Para la medición de la actividad también se utilizó ABTS como sustrato (pH 3.8). Una unidad de enzima (U) se define como la cantidad de enzima que oxida 1  $\mu$ mol de ABTS por minuto.

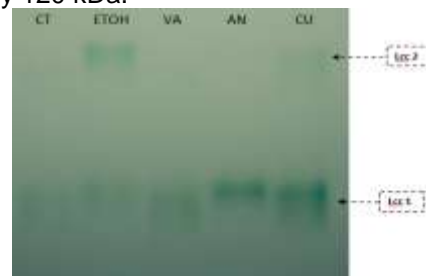
**Resultados y Discusión.** Se adicionó cada inductor en 3 diferentes tiempos del cultivo (día 0, 3 y 5). La adición al inicio del cultivo mostró un efecto negativo en el crecimiento del hongo y la producción de lacasas es menor a la del control, posiblemente debido al estado fisiológico del hongo en ese tiempo. Al adicionar los inductores en el día 3 se observó un incremento en la actividad volumétrica de lacasas, los cultivos inducidos con alcohol veratrílico, anilina, etanol y cobre incrementaron la actividad volumétrica (con respecto al control) 2, 5.4, 3.6 y 1.1, respectivamente. La mayor actividad se presentó en los cultivos de anilina, aunque probablemente la acción de proteasas sea la responsable de la disminución en la actividad después de 72 horas. La inducción en el tiempo 5 muestra un efecto positivo aunque menor al obtenido en el tiempo 3; las actividades volumétricas después de 48 horas (donde se observa la

mayor actividad para todos los cultivos) se resumen en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Inducción de lacasas con compuestos químicos al día 0, 3 y 5.

Inductor	Actividad volumétrica (U/mL)		
	Día 0	Día 3	Día 5
Etanol	0.19 $\pm$ 0.01	2.47 $\pm$ 0.29	0.89 $\pm$ 0.08
Alcohol veratrílico	0.25 $\pm$ 0.04	1.41 $\pm$ 0.27	0.48 $\pm$ 0.05
Anilina	0.48 $\pm$ 0.03	3.7 $\pm$ 0.42	1.072 $\pm$ 0.1
Cobre	0.36 $\pm$ 0.05	0.75 $\pm$ 0.06	0.54 $\pm$ 0.09

Se realizaron geles de los 3 tiempos de inducción, en el día 0 no se observaron diferencias en el perfil de isoformas (datos no mostrados); en cuanto al día 3 y día 5 se encontró un patrón similar. En la Figura 1 se muestra el zimograma del día 3, en éste se presentan en todos los cultivos lacasas monoméricas (Lcc 1) que comprenden pesos moleculares entre 50 y 55 kDa y en los cultivos con etanol y cobre se favorece la producción de lacasas oligoméricas (Lcc 2) con pesos moleculares entre 100 y 120 kDa.



**Fig 1.** Perfil de isoformas de lacasas de *T. versicolor* con la adición de los diferentes inductores al día 3 de cultivo. Las muestras se presentan en el siguiente orden: control (carril 1), etanol (carril 2), alcohol veratrílico (carril 3), anilina (carril 4) y cobre (carril 5).

### Conclusiones.

Los compuestos utilizados han mostrado inducir la producción de lacasas y también permiten obtener un perfil diferente de isoformas, lo que podría determinar diferencias en sus características bioquímicas y catalíticas.

**Agradecimiento.** A CONACyT por la beca otorgada a Verónica Teymennet Ramírez.

### Bibliografía.

- Rodriguez-Couto S, Toca-Herrera J (2006). *Biotechnol Adv* 24 (5):500-513.
- Piscitelli A, Giardina P (2011). *Curr Genomics* 12(2): 104-112.
- Galhaup C, Goller S, Peterbauer C, Strauss J, Haltrich D (2002). *Microbiology* 148 (7):2159-2169