



## EFECTO DEL AMPc EN LA BIOSÍNTESIS DE CELULASAS Y XILANASAS DE *Cellulomonas flavigena*.

Odilia Pérez Avalos<sup>1</sup>, Antonio Herrera Herrera, Leticia Mónica Sánchez Herrera, Martha Mercado Morales<sup>2</sup>, Luis Miguel Salgado Rodríguez<sup>2</sup> y Teresa Ponce Noyola<sup>1</sup>.

Departamento de Biotecnología y Bioingeniería<sup>1</sup>, Departamento de Bioquímica<sup>2</sup>. CINVESTAV-IPN. Av. IPN 2508, col. San Pedro Zacatenco, México, D. F. cp 07000. Fax 57473313. Tel

57477000 ext. 4318. e-mail: operez@mail.cinvestav.mx.

Palabras clave: *Cellulomonas flavigena* y *celulasa*, *xilanasas*, AMPc.

**Introducción.** Los residuos lignocelulósicos son la fuente de carbono más abundante de la naturaleza. La degradación de celulosa y hemicelulosa requiere la participación de celulasas y xilanasas que hidrolizan los enlaces glucosídicos  $\beta$ -1,4. El sistema xilanolítico de *Cellulomonas flavigena* es inducible (1). Sin embargo se desconoce como esta regulado el complejo multienzimático en esta bacteria y el papel que juegan los nucleótidos cíclicos en la producción de celulasas y xilanasas. En sistemas enzimáticos inducibles de bacterias y hongos el AMPc controla la velocidad de formación de la enzima (2,3). El objetivo de este trabajo es estudiar el sistema enzimático de celulasas y xilanasas extracelulares de *C. flavigena* en presencia del AMPc.

**Metodología.** El inóculo se creció en medio mineral, 1% (p/v) de glicerol, 1 mg/L tiamina y 10  $\mu$ g/L biotina como factores de crecimiento. Se incubó por 24 h, 37°C, 150 rpm. Los inóculos fueron lavados 2 veces con 0.85% de solución salina y se usó en una relación del 10% para inocular el reactor. La producción de celulasas y xilanasas extracelulares de *C. flavigena* se realizó en reactor Sixfors. Se usaron 3 reactores con 200 ml de medio mineral, 1% de bagazo de caña, operado a 600 rpm, 37°C y 1 vvm. Durante la fase exponencial (13 h); a uno de los reactores se le adicionó 10 mM de glucosa; a otro se le adicionó 1.7  $\mu$ M de AMPc; dejando uno como control positivo. Se tomaron muestras cada 3 h por un periodo de 48 h. El bagazo residual se separó mediante un filtro de vidrio poroso. El sobrenadante se recuperó por centrifugación a 5000 rpm, 4°C, 10 min en una centrifuga endorff. Se determinó actividad de celulasas y xilanasas extracelulares usando 1% CMC y 1% xilana respectivamente como sustratos, cuantificando azúcares reductores por el método de Miller (4). Se determinó proteína por el método de Bradford (5).

**Resultados y Discusión.** Las celulasas y xilanasas extracelulares producidas por *C. flavigena* son

enzimas inducidas por bagazo de caña, obteniéndose un máximo de actividad de celulasas de 320 UI/mL y de xilanasas de 1062 UI/mL; sin embargo en presencia de bajas concentraciones de glucosa la actividad de celulasas y xilanasas se vio incrementada 11 y 300% respectivamente con respecto al control. Por otro lado ambas actividades fueron más altas en presencia de AMPc, la celulasas incrementaron 15% con respecto al control mientras que la xilanasas incrementó 400% con respecto al control. Estos resultados sugieren que la velocidad diferencial de biosíntesis de celulasas y xilanasas de *C. flavigena* incrementa directamente con la presencia de un inductor adecuado. La hidrólisis del bagazo de caña por celulasas y xilanasas genera catabolitos tales como glucosa y xilosa que son los represores naturales del sistema enzimático, sin embargo al adicionar 10 mM de glucosa aumentó la actividad de ambas enzimas. Por otro lado el AMPc favoreció aun más la síntesis de estas proteínas, estimulando la transcripción.

**Conclusiones.** La biosíntesis de celulasas y xilanasas de *Cellulomonas flavigena* es dependiente de AMPc. Lo cual indica que el microorganismo tiene genes que se regulan por AMPc.

**Agradecimientos.** Este trabajo forma parte del proyecto 45678-Z del CONACYT.

### Bibliografía.

1. Pérez Avalos O, Ponce Noyola T, Magaña I, de la Torre M (1996) Induction of xylanase and  $\beta$ -xylosidase in *Cellulomonas flavigena* growing on different carbon sources. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 42: 709-712.
2. Bostford L (1981) Cyclic nucleotides in prokaryotes. *Microbiol. Rev.* 45:620-642.
3. Pall L. (1981) Adenosine 3', 5'-phosphate in fungi. *Microbiol. Rev.* 45:462-480.
4. Miller L (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. *Anal. Chem.* 31:426-428.
5. Bradford 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.