



DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS CINÉTICOS DE LA MUTANTE PR-22 DE *C. flavigena* EN CONDICIONES DE REPRESIÓN E INHIBICIÓN CATABÓLICA

Oscar A. Rojas-Rejón, Héctor M. Poggi-Varaldo, Mayra de la Torre Martínez¹, Ma. Teresa Ponce-Noyola. CINVESTAV, Dpto. Biotecnología y Bioingeniería, Av. IPN 2508 col. Zacatenco C.P. 07360. México, D.F. Fax +52 (55)5061 3313. ¹CIAD, carretera a la Victoria Km. 0.6, C.P. 83000, Hermosillo Sonora. e-mail: ironpanino@yahoo.com

Palabras clave: Celulosa, mutante, represión.

Introducción. La degradación de residuos lignocelulósicos es llevada a cabo por celulasas y xilanasas producidas por hongos y bacterias. La síntesis de estas enzimas se encuentra sujeta a regulación metabólica (1), ya que la acumulación de azúcares simples inhibe o reprime ésta. La mutante PR-22 de *Cellulomonas flavigena* se obtuvo en condiciones de represión y ha incrementado su actividad xilanólítica y celulolítica con respecto a su cepa materna (PN-120), sin embargo no se ha llevado a cabo una caracterización de la misma.

El objetivo de este trabajo es determinar la concentración de glucosa que tolera la cepa PR-22 antes de reprimir y/o inhibir la síntesis de celulasas y xilanasas.

Metodología. Se llevaron a cabo cinéticas de crecimiento en reactores de 500 ml conteniendo 400 ml de medio mineral, 1% bagazo de caña y 0.02% de extracto de levadura (2). Se probaron 10, 15 y 20 mM de glucosa. Las cinéticas se realizaron en paralelo y por triplicado. Se tomaron muestras a diferentes tiempos determinando a cada una: crecimiento, proteína extracelular (Lowry, 1951) y actividad enzimática (3).

Resultados y Discusión. La presencia de glucosa en los cultivos con bagazo de caña incrementó sensiblemente la densidad celular, debido a la disponibilidad de dos fuentes de carbono (Fig. 1A). La velocidad específica de crecimiento no varió significativamente (Fig. 1A), sin embargo disminuyó alrededor del 25% la producción de proteína extracelular en todas las concentraciones de glucosa probadas (Fig. 1B). La actividad específica de xilanasas no se afectó considerablemente con un pulso de 10 mM de glucosa, sin embargo se vio disminuida en un 68% cuando se alcanzó 20 mM de la misma (Fig. 1C). Cabe destacar que los valores de actividad xilanólítica que presenta la mutante PR-22 en condiciones de represión (20 mM), superan a los reportados para la cepa silvestre de *C. flavigena* en condiciones desreprimidas (3). Por otro lado la actividad específica de CMCasas disminuyó 80% a 20 mM de glucosa, mientras que a 10 mM no tuvo un efecto significativo disminuyendo en 15% la actividad (Fig. 1 D). No obstante de los resultados obtenidos, los valores de actividad alcanzados por la mutante PR-22 en condiciones de represión (20 mM glucosa) fueron mejores a los observados para *C. flavigena wt* en 10 mM de glucosa (3).

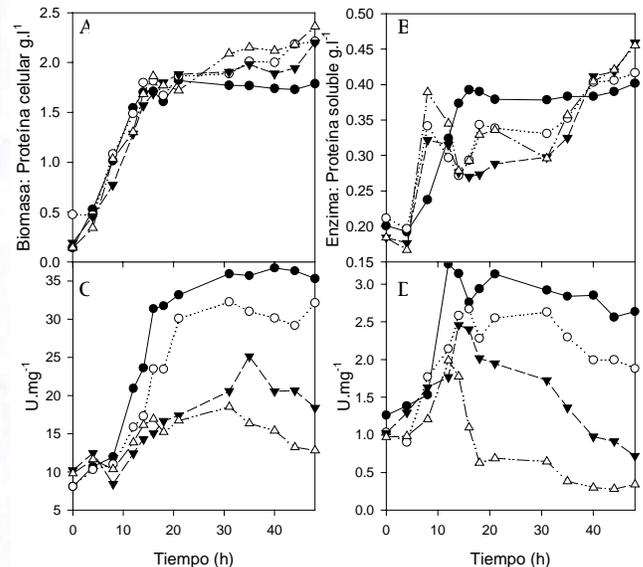


Fig. 1. Cinética de crecimiento y producción de celulasas y xilanasas de la mutante PR-22 en condiciones de represión. (-●-) 1% BC; (-○-) 1% BC + 10 mM; (-▼-) 1% BC + 15 mM y (-Δ-) 1% BC + 20 mM.

Conclusiones. La mutante PR-22 toleró 5 veces más la glucosa respecto a *C. flavigena wt* bajo las mismas condiciones. La actividad enzimática observada en todas las concentraciones supera los valores reportados para *C. flavigena wt* (3) y algunas bacterias anaerobias (4).

Agradecimientos. Al proyecto CONACYT 45678-Z.

Bibliografía.

- Shiang M, Linden J, Mohagheghi A, Grohmann K, Himmel M. (1991). Regulation of Cellulase Synthesis in *Acidothermus Cellulolyticus*. *Biotechnol. Prog.* 7:315-322.
- Ponce-Noyola T., de la Torre M. (1995). Isolation of a high-specific-growth-rate mutant of *Cellulomonas flavigena* on sugar cane bagasse. *Appl Microbiol Biotech.* 42:709-712.
- Ponce-Noyola T., de la Torre M. (2002). Regulation of cellulases and xylanases from a derepressed mutant of *Cellulomonas flavigena* growing on sugar-cane bagasse in continuous culture. *Bioresour Technol.* 78: 285-291.
- Lynd L, Weimer P, Zyl W, Pretorius I. (2002). Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. *Microbiol Mol Rev.* 66(3):506-577.