



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



AISLAMIENTO DE UNA MUTANTE CONSTITUTIVA PARA CELULASAS DE *Cellulomonas flavigena* PR-22 (Cf PR-22)

Franklin J. Estrada Girón, Alfredo Martínez Jiménez, Ana C. Ramos Valdivia, Teresa Ponce Noyola. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. México. D.F. C.P. 07300, tponce@cinvestav.mx

Palabras clave: sacarificación, celulasas, constitutiva.

Introducción. Actualmente, a partir de los residuos lignocelulósicos, mediante la hidrólisis enzimática empleando celulasas y xilanasas, es posible obtener azúcares fermentables que posteriormente pueden ser utilizados para la producción de bioenergéticos como el bioetanol, biometanol, entre otros, siendo una alternativa al uso de combustibles fósiles [1]. Sin embargo, factores como el tipo de sustrato, concentración y calidad de la fuente de carbono pueden afectar el proceso de sacarificación enzimática [2]. El objetivo de este trabajo es obtener una mutante de *C. flavigena* PR-22, productora de celulasas en forma constitutiva.

Metodología. Un cultivo de *Cf* PR-22 se sometió a tratamiento mutagénico con nitrosoguanidina [NTG] (150 µg/mL) [3]. Las células resultantes se sembraron en placas con un sustrato no inductor (glicerol) y una sobrecapa de carboximetil celulosa (CMC). El criterio de selección se basó en la formación de halos de hidrólisis alrededor de las colonias [4]. Las cepas candidatas se cultivaron en matraces con medio mineral adicionado con bagazo de caña y/o glicerol 1%. Se confirmó la producción de holocelulasas evaluando la actividad de carboximetil celulasa (CMCasa) y xilanasas a nivel de matraz.

Resultados. Se aislaron mutantes por exposición de un cultivo de *Cf* PR-22 al tratamiento con NTG durante 47 min. Alrededor de 200 colonias fueron evaluadas y sólo 10 de ellas exhibieron halos de hidrólisis mayores que *Cf* PR-22 en el medio de selección. En la tabla 1 se muestra el diámetro de la zona de hidrólisis de algunas de las mutantes seleccionadas.

Tabla 1. Evaluación de zonas de hidrólisis de mutantes de *Cf* PR-22.

Cepa	Halo de hidrólisis (cm)
<i>Cf</i> PR-22	0
M135	0.15 ± 0.07
M137	0.30 ± 0.00

Esta evaluación fue cualitativa y no existe una relación lineal entre la zona de hidrólisis y la cantidad de producto

liberado [5]. La evaluación de las mutantes candidatas fue llevada a cabo en cultivo sumergido en matraces Erlenmeyer de 25 mL, donde la determinación de las actividades fue más concluyente. Se han aislado mutantes hiperproductoras de celulasas y/o xilanasas que han mostrado una mayor actividad enzimática que *Cf* PR-22 en cultivos creciendo en bagazo de caña 1% (figura 1). La característica constitutiva está siendo evaluada.

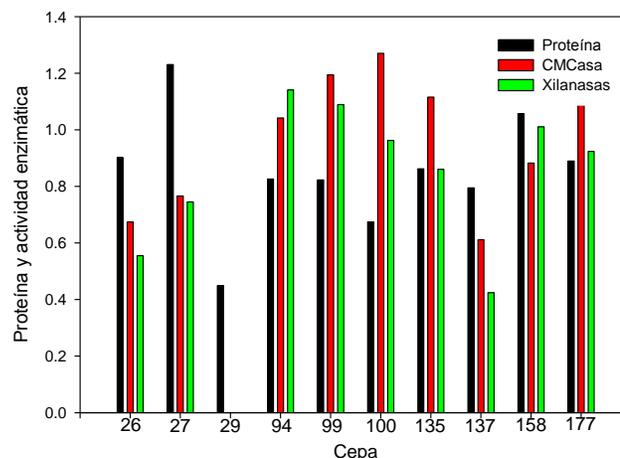


Fig. 1. Comparación de la actividad enzimática específica y proteína soluble de mutantes de *Cf* PR-22. Datos normalizados basándose en los valores de actividad enzimática específica (U/mg) y proteína soluble (g/L) de *Cf* PR-22.

Conclusiones. Las mutantes evaluadas hasta el momento han mostrado ser hiperproductoras pero no constitutivas.

Agradecimiento. Este trabajo es realizado gracias al apoyo del proyecto CONACYT-104333.

Bibliografía.

- Balat M. (2011). *Energy Convers. Manage.* 52: 858-875.
- Maki M., Leung K. T., Qin W. (2009). *Int. J. Biol. Sci.* 5: 500-516.
- Adelberg E.A., Mandel M., Ching-Cheng G. (1965). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 18: 788-795.
- Kasana R.C., Salwan R., Dhar H., Dutt S., Gulati A. (2008). *Curr Microbiol.* 57: 503-507.
- Rowlands R.T. (1984). *Enzyme Microb. Technol.* 6: 3-11.