



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



CARACTERIZACIÓN DE UN GEN DE LACASA DE *Pleurotus ostreatus*

Téllez-Téllez M^{1,2}, Fernández FJ² y Díaz-Godínez G¹

¹Laboratorio de Biotecnología Centro de Investigación en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, México. Tel./Fax +(52)2484815482. diazgdo@hotmail.com, tleez2@hotmail.com. ²Laboratorio de Ingeniería Genética y Metabolismo Secundario, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México. Tel. +(52)5558044711, Fax: +(52)5558044712. fjfp@xanum.uam.mx.

Palabras clave: Lacasa, *Pleurotus ostreatus*, fermentación.

Introducción. Las lacasas (EC 1.10.3.2) son glicoproteínas clasificadas como oxidasas multicobre que catalizan la oxidación de varios compuestos orgánicos e inorgánicos, acopladas a la reducción del oxígeno molecular en agua (1). Las lacasas catalizan la remoción de un átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de monofenoles metoxilados, orto y para-difenoles. También pueden oxidar otros sustratos como aminas aromáticas, siringaldazina y compuestos no fenólicos, formando radicales libres (2). Están reguladas por varios factores como son pH, temperatura e iones, entre otros (3). Las lacasas de *Pleurotus ostreatus* están siendo ampliamente estudiadas, se han reportado hasta ahora seis isoenzimas complemente caracterizadas (propiedades fisicoquímicas y secuencia); sin embargo, existen isoenzimas de las cuales se conoce su secuencia pero no su estructura proteica y aun faltan genes de isoenzimas por describir (4).

En este trabajo se caracterizó un gen de una isoenzima de lacasa de *P. ostreatus* no reportado anteriormente.

Metodología. A partir de la secuencia N-terminal de la proteína con actividad de lacasa, se amplificó el gen que la codifica mediante el kit Genome Walking (Clontech Laboratories). El resultado de las amplificaciones se secuenciaron (ABI PRISM 3100 Avant) y alinearon mediante el programa SeqMan (Lasergene). Se realizó análisis de similitud con el banco de genes (Blast, NCBI) y el ADNc se aisló mediante RT-PCR (kit OneStep RT-PCR, QIAGEN).

Resultados. Se obtuvo la secuencia del gen completo. La secuencia del promotor constó de 469 pb, con cuatro posibles elementos de respuesta a metales (MRE), tres a xenobióticos (XRE), uno de respuesta de defensa y uno de repuesta al estrés. El gen presentó un tamaño de 2633 pb, con 17 exones y 16 intrones (Fig. 1). La secuencia de ADNc constó de 1595 pb capaces de codificar una proteína de 531 aminoácidos con un peso molecular de aproximadamente 56.5 KDa. En el análisis de similitud, el gen completo y el ADNc presentaron semejanzas del 86 y el 94%, respectivamente, con genes de lacasas de *Pleurotus ostreatus* previamente reportados (Tabla 1).

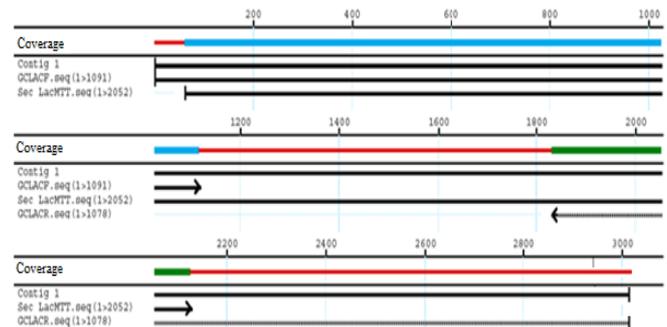


Fig. 1. Alineamiento de las secuencias obtenidas mediante la amplificación de los primers mediante genome Walker.

Tabla 1. Comparación del gen, RNAm y aminoácidos de la lacasa de *Pleurotus ostreatus* con secuencias NCBI (GenBank).

No. Acceso	Descripción	% Max ident
Gen		
GU953215.1	<i>Pleurotus eryngii</i> laccase gene	92
EU031523.1	<i>Pleurotus eryngii</i> laccase (lac4) gene	90
Z34848.1	<i>P.ostreatus</i> pox2 mRNA for diphenol oxidase	86
cDNA		
AY485827.1	<i>Pleurotus ostreatus</i> laccase mRNA,	94
Z34848.1	<i>P.ostreatus</i> pox2 mRNA for diphenol oxidase	84
AB020026.1	<i>P. ostreatus</i> mRNA for bilirubin oxidase,	84
Aminoácidos		
Q12729.1	<i>P. ostreatus</i> diphenol oxidase 1	96
AAR21094.1	laccase [<i>Pleurotus ostreatus</i>]	96
CAO79914.1	laccase [<i>Pleurotus eryngii</i>]	96

Conclusiones. El peso molecular de la lacasa y el promotor del gen (no se habían descrito hasta la fecha posibles elementos de defensa) presentaron diferencias con los ya reportados para lacasas de *P. ostreatus*, lo que sugiere que se trata de una isoenzima no descrita anteriormente.

Agradecimiento. Al CONACYT por la beca de doctorado para Téllez-Téllez M (No. 177867), a la UATx y UAMI.

Bibliografía.

- Solomon E.I., Sundaram U.M. y Machonkin T.E. (1996). Chemical Reviews 96: 2563-2605.
- Claus H. (2003). Archives Microbiology 179: 145-150.
- Faraco V., Giardina P. y Sannia G. (2003). Microbiology 149: 2155-2162.
- Pezzella C., Autore F., Giardina P., Piscitelli A., Sannia G. y Faraco V. (2009). Current Genetics 55: 45-57.