



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



IDENTIFICACION DE XILANASAS DE *Aspergillus flavipes* FP-500 CRECIENDO EN FUENTES DE CARBONO COMPLEJAS

Lizzete R Torres- Barajas, Guillermo Aguilar Osorio, Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. Conjunto E. Circuito de la Investigación Científica s/n. Ciudad Universitaria. Delegación Coyoacán. C.P. 04510. México, D.F. e-mail: gao@unam.mx

Palabras clave: *Aspergillus*, xilanasas, sustratos complejos

Introducción. La lista de materiales que los hongos son capaces de utilizar es amplia e incluye desechos agroindustriales. Su habilidad para utilizarlos radica en la gama de enzimas que pueden secretar y que utilizan para volverlos disponibles. Entre estas se encuentran algunas hidrolasas como las galacturonasas, amilasas y xilanasas ⁽¹⁾. Los hongos del género *Aspergillus*, son capaces de secretar una infinidad de proteínas, lo que se confirma con la información de los genomas recientemente publicados. Sin embargo, el tipo y número de proteínas que se secretan en determinadas condiciones está sujeto a las características de los sustratos disponibles y a los complejos sistema regulatorios que determinan su síntesis. El presente trabajo muestra que la heterogeneidad y complejidad de los sustratos tiene un efecto directo en el perfil de proteínas que *A. flavipes* es capaz de secretar.

Metodología. Se utilizaron cultivos de *Aspergillus flavipes* FP-500 en olote de maíz 1%, salvado de trigo 1% y xilano de abedul 1% en medio basal a 72 h de cultivo en agitación orbital a 200 rpm y 37 °C. Los cultivos fueron concentrados por ultrafiltración, dializados, liofilizados, posteriormente re suspendidos en buffer RN y separados en geles SDS-PAGE 12% y 15%, teñidos con azul de Coomassie para observar el perfil de proteínas o renaturalizados y teñidos con rojo congo para obtener zimogramas. La actividad xilanólítica de los concentrados se determinó con el método de azúcares reductores (DNS).

Resultados. La figura 1a muestra el SDS-PAGE 15% obtenido a partir de los cultivos de *A. flavipes* en olote de maíz, salvado de trigo y xilano de abedul. La figura muestra una clara diferencia entre los perfiles de proteína obtenidos en los tres cultivos. Las bandas con peso de 24 y 26 kDa encontradas en olote de maíz, fueron identificadas y mostraron ser semejantes al precursor de β -1,4 xilanasas de *A. niger* y a una xilanasas de *A. terreus* respectivamente. La banda, con un peso de 33 kDa que aparece claramente solo en olote de maíz fue identificada como acetil xilano esterasa, similar a una de *A. terreus*. En la figura 1b se muestra el zimograma en SDS-PAGE 12% de los cultivos de *A. flavipes* en los mismos sustratos. Los concentrados de los cultivos obtenidos con cada sustrato mostraron actividad xilanólítica *in vitro*. Sin

embargo, como se puede observar las proteínas que presentan tal actividad son distintas en cada caso. La actividad en olote de maíz está dada por enzimas de peso molecular relativamente bajo, en salvado de trigo la actividad más importante se concentra entre 45 y 90 kDa, mientras que xilano de abedul, el sustrato menos heterogéneo, muestra solo dos bandas que son aparentemente comunes en los tres sustratos, lo que sugiere que su papel es fundamental en la degradación del xilano y su utilización por parte del hongo. Esto confirma que la heterogeneidad en la composición del sustrato, tiene un efecto directo en el tipo de proteínas secretadas por el hongo, ya que la relación de xilano con respecto a otros polisacáridos es diferente en cada sustrato (menor en salvado que en olote), incluso el grado de sustitución del xilano presente en cada uno también es distinto.

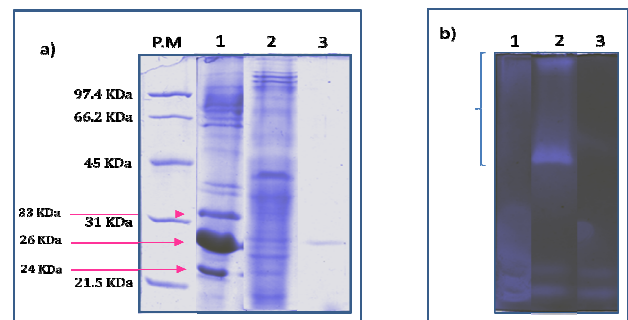


Fig. 1. Cultivos de *A. flavipes*. a) SDS-PAGE 15% teñido con azul de Coomassie, b) Zimograma en SDS-PAGE 12%, 1. Olote de maíz, 2) Salvado de trigo, 3) Xilano de abedul.

Conclusiones. La heterogeneidad en la composición del sustrato influye directamente en el número y tipo de xilanasas que son secretadas por *A. flavipes*, permitiendo la obtención de perfiles proteicos característicos de cada sustrato.

Agradecimientos. LRTB agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo recibido beca N° 161255.

Bibliografía.

- 1) Bauer, S., Vasu, P., Persson, S., Mort, A., Somerville, C.R. 2006. *PNAS*. 103. No 30. pp 11417-11422
- 2) Graham, H., Hasselman, K., Aman, P. 1986. *Jour Nutr*. 116. pp 195-198.