

Palabras clave: RNA mensajero, celulasas, Cellulomonas

Introducción. Se ha demostrado que tanto las celulasas como las xilanasas son enzimas sujetas a regulación metabólica (3). Prácticamente en todos los microorganismos celulolíticos la síntesis de las celulasas y xilanasas es inducida por la presencia de celulosa o xilana, y reprimida por la presencia de glucosa u otros azúcares rápidamente metabolizables o por los productos finales de su hidrólisis, como la xilosa o celobiosa (1, 2). En *Cellulomonas flavigena* se ha observado que tanto celulasas como xilanasas son inducidas por bagazo de caña y solka floc, mientras que la xilana sólo induce xilanasas. Es por ello, que el objetivo principal de este trabajo es identificar mediante sondas el RNAm de una endoglucanasa y una xilanasas (*celcflB*, *xylcflA*) al crecer *C. flavigena* en diferentes fuentes de carbono.

Metodología. *C. flavigena*, (cepas silvestre y mutante PN-120) se hizo crecer en medio mineral con biotina y tiamina adicionando como fuente de carbono: glicerol, bagazo de caña, solka-floc, xilana o celobiosa al 1%. El crecimiento se llevó a cabo a 37°C, 200 rpm por 48 h. Al sobrenadante se le determinó xilanasas y celulasas. Se realizó la extracción de RNA total del paquete celular. Los experimentos de Northern blot se llevaron a cabo empleando membranas de nitrocelulosa para su posterior hibridación con la sonda respectiva marcada previamente. Finalmente se realizó la autorradiografía de las membranas.

Resultados y discusión. Se observó que en los diferentes sustratos probados la mayor actividad de xilanasas, así como de celulasas se presentó cuando *C. flavigena* cepa silvestre y su mutante, crecieron en bagazo de caña. No obstante en cualquiera de los sustratos probados la cepa mutante presentó las mayores actividades tanto de xilanasas como de celulasas con respecto a la cepa silvestre. Se llevó a cabo la hibridación con las sondas *celcflB* y *xylcflA*, encontrándose diferencia en la expresión de estos genes en función del sustrato de crecimiento, lo cual indica que estos genes se regulan a nivel transcripcional.

Fig.1. Actividades enzimáticas. A. Xilanasas B. Celulasas cepa silvestre ■ cepa mutante. 1.Glicerol, 2.Bagazo, 3.Solka-floc,

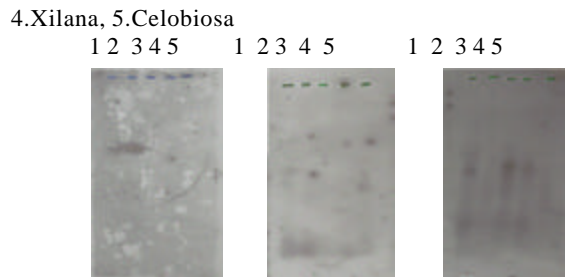
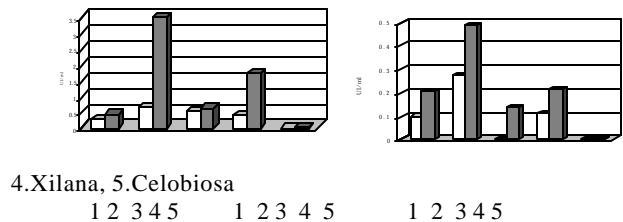


Fig.2. Hibridación del RNA de *C. flavigena*: A. cepa silvestre, sonda *xylcflA*; B. cepa silvestre, sonda *celcflB*; C. cepa mutante, sonda *celcflB*. 1. Glicerol, 2. Bagazo, 3. Solka floc, 4. Xilana, 5. Celobiosa

Conclusión. El gen *xylcflA* sólo se expresó cuando la cepa creció en bagazo de caña, mientras que el gen *celcflB* en estas condiciones no se logra detectar. No obstante si se observó transcrito del gen *celcflB* en los demás sustratos, lo cual indica que la expresión de este gen está en función del sustrato de crecimiento.

Agradecimientos. Parte de este proyecto fue financiado por CONACYT 28784-B.

Bibliografía.

1. Canevascini, G., M.D. Coudray, J.P. Rey, R.J.G. Southgate, and H. Meier. 1979. Induction and catabolite repression of cellulase biosynthesis in the thermophilic fungus *Sporotrichum termophile*, *J. Gen. Microbiol.*, 110: 291-303.
2. Coughlan, M., P. Hazlewood. 1993. β-1,4-D-Xylan-degrading enzyme systems. *Biochemistry, molecular biology and applications. Biotechnol. Appl. Biochem.* 17: 259-289.
3. Stewart, B.J., J.N. Leatherwood. 1976. Derepressed synthesis of cellulase by *Cellulomonas*. *J. Bacteriol.* 128(2): 609-615.

A

1 2 3 4 5

B

1 2 3 4 5