

**CHARACTERIZATION OF A NOVEL ENZYME ISOLATED FROM *Bacillus cereus* 6P RESPONSIBLE FOR GLYPHOSATE BIODEGRADATION BY AN ALTERNATIVE PATHWAY TO C-P LYASE**

Elena Guadalupe Verduzco Suárez, UANL-Facultad de Ciencias Químicas, San Nicolás de los Garza, C.P. 66455, elena.verduzcos@uanl.edu.mx

*Palabras clave: glifosato, enzima, purificación*

**Introducción.** El glifosato (GP) es una molécula con presencia de un enlace C-P estable y es el herbicida más utilizado en el mundo por su papel central en el cultivo de cultivos genéticamente modificados (1). La presencia de GP está muy extendida en diversos ecosistemas, lo que ha causado una afectación negativa en humanos y otros organismos dentro de las cadenas tróficas (2). Al día de hoy, no existe un proceso estandarizado para remediar los efectos medioambientales del GP por lo que es necesario aprovechar los recursos biológicos disponibles para buscar la mitigación del problema.

El objetivo de este proyecto es aislar una nueva enzima de origen bacteriano capaz de biodegradar GP por una vía alternativa a la C-P liasa, independiente de los niveles de fosfato, que podría ofrecer una herramienta de biorremediación de aplicación práctica.

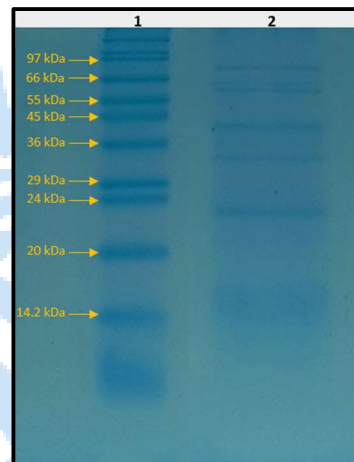
**Metodología.** La producción de la enzima fue inducida cultivando la cepa *B. cereus* 6P en medio mínimo con 1 mM GP como única fuente de P a 28 °C, 150 rpm. Después de 120 h, las células se separaron del medio por centrifugación, se lavaron dos veces y se resuspendieron en buffer 50 mM Tris-HCl, pH 7. El extracto enzimático (EC) se obtuvo por sonicación: 15 min, 80% amplitud. Se determinó la composición proteica del EC mediante SDS-PAGE (15% poliacrilamida [PA]). La actividad enzimática del EC se determinó midiendo la liberación de fosfato a 620 nm usando la formación del complejo Verde Malaquita después de 1 hora de incubación a 30 °C. El medio de reacción contenía: 50 mM Tris-HCl (pH 7 u 8), 0.01 mM FAD, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.035 mM GP y EC (concentración en medio de reacción 3 mg/mL proteína).

**Resultados.**

**Tabla 1.** Ensayos de actividad enzimática de EC, tiempo de incubación 1 h, 30°C.

Muestra	Actividad específica* (U/mg)	% degradación
pH 7.0	2.24	91.63
pH 8.0	2.32	95.28

\*U= cantidad de enzima que libera 1µM de fosfato·min<sup>-1</sup>.



**Fig. 1. SDS-PAGE.** Se llevó a cabo en un gel PA 15%, 80/120 V. Carril 1: marcador de estándares proteicos con distintos pesos moleculares (en kDa), proteínas usadas: miosina (200), β-galactosidasa (116), fosforilasa B (97), albúmina (66), deshidrogenasa glutámica (55), ovoalbúmina (45), gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (36), anhidrasa carbónica (29), tripsinógeno (24), inhibidor de tripsina (20), α-lactoalbúmina (14.2), aprotinina (6.5); carril 2: preparación de enzima degradadora de GP.

**Conclusiones.** El extracto crudo obtenido de la homogenización del cultivo *B. cereus* 6P logró una degradación de 91.63% y 95.28% del glifosato en 1 h a 30°C a pH 7.0 y 8.0, respectivamente. El gel SDS-PAGE muestra la presencia de 6 bandas proteicas bien diferenciadas de las cuales al menos una es la responsable de la actividad de degradación observada. Se pretende realizar una cromatografía de exclusión por tamaño para obtener una fracción pura de la enzima de interés.

**Agradecimiento.** A PAICYT CN1694-21, FONCICYT 266482 por permitir el desarrollo del presente proyecto.

**Bibliografía.**

1. Benbrook, C. M. (2016) *Environ. Sci. Eur.* 28 (1): 1-15. <https://doi.org/10.1186/s12302-016-0070-0>  
 2. Singh, S., Kumar, V., Gill, J., Datta, S., Singh, S., Dhaka, V., Kapoor, D., Wani, A. B., Dhanjal, D., Kumar, M., Harikumar, S., & Singh, J. (2020) *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 17 (20): 7519. <https://doi.org/10.3390/IJERPH17207519>