

**EFFECTO DE LA COMPOSICIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO PARA LA PRODUCCIÓN DE UNA LACASA EXPRESADA EN LA SUPERFICIE DE *Saccharomyces cerevisiae***

Dulce Y. Arenas-Olivares, Zuleima Alpizar-Dávila, Karla V. Teymenet-Ramírez, Daniel Morales-Guzmán, Miguel Alcalde, Fernando Martínez-Morales, María R. Trejo-Hernández. Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, 62209, Morelos, Mexico, [dulce.arenas@uaem.edu.mx](mailto:dulce.arenas@uaem.edu.mx)

*Palabras clave: Lacasa, expresión heteróloga, optimización.*

**Introducción.** La lacasa es una enzima oxidasa multicobre que ha ganado una gran atención debido a sus diversas aplicaciones biotecnológicas. El despliegue en la superficie de levadura es una poderosa herramienta para la ingeniería de proteínas, que permite la expresión e inmovilización de proteínas heterólogas en la superficie celular (1). Uno de los inconvenientes de este sistema es la baja expresión de la enzima en el sistema de despliegue es por ello por lo que se realizó la mejora del medio de cultivo.

**Metodología.** Se utilizó a la levadura EBY100 *S. cerevisiae* que expresa a la lacasa Aga2-OB1 la cual se creció en un medio selectivo y un medio de expresión de lacasa en matraces de 1000 mL con 200 mL de medio a 30°C y 150 rpm. Se evaluó el efecto de la composición del medio de expresión TRPE (Galactosa, peptona de caseína, extracto de levadura y sulfato de cobre) sobre la producción de lacasa Aga2-OB1 se utilizó el software Desing Expert para realizar un diseño central compuesto y análisis estadístico. La actividad se midió en un espectrofotómetro usando ABTS como sustrato y la concentración de biomasa se midió gravimétricamente.

**Resultados y discusión.** En la tabla 1 se muestran la composición de los 30 medios obtenidos en el diseño experimental, así como los resultados de la actividad lacasa y crecimiento. De acuerdo con los datos obtenidos la producción de la lacasa estuvo influenciada por la concentración de los componentes del medio, la máxima actividad lacasa (573 U/g) se obtuvo a concentraciones bajas de galactosa y extracto de levadura y a concentraciones altas de peptona de caseína y media de sulfato de cobre. El ANOVA mostró que el efecto de los factores estudiados fue significativamente diferente de cero (prueba F,  $p < 0,0001$ ).

**Tabla 1.** Producción de biomasa y lacasa por *S. cerevisiae* en los 30 medios de cultivo del diseño experimental.

Corrida	Galactosa	Extracto de levadura	Peptona de caseína	Sulfato de Cobre	Biomasa (g/L)	Actividad específica (U/g)
1	0	0	-2	0	5.05	234.3
2	1	-1	1	1	4.94	339.7
3	-1	1	1	1	5.15	292.9
4	1	1	-1	-1	6.97	145.4
5	-1	-1	-1	1	4.28	374
6	-1	1	1	-1	6.71	125.1
7	-1	1	-1	1	5.36	277.2
8	0	0	0	0	4.70	377.6
9	0	0	0	2	5.46	367.2
10	1	1	-1	1	5.99	269.4
11	0	0	0	0	5.36	331.4
12	2	0	0	0	5.52	300.8
13	1	1	1	1	6.78	237
14	0	0	2	0	5.43	298.3
15	0	2	0	0	5.50	242.8
16	-1	1	-1	-1	5.50	216.9
17	0	0	0	0	4.73	311.9
18	-1	-1	1	-1	3.78	324.7
19	1	-1	1	-1	4.49	300.9
20	1	1	1	-1	5.22	241
21	-1	-1	1	1	3.76	538.3
22	1	-1	-1	-1	3.96	381.7
23	0	-2	0	0	3.26	573.6
24	-1	-1	-1	-1	4.44	398.6
25	0	0	0	0	5.38	276.1
26	0	0	0	0	4.52	318.8
27	0	0	0	0	4.98	306.4
28	-2	0	0	0	3.47	483
29	1	-1	-1	1	4.08	432.5
30	0	0	0	-2	3.80	42.4

**Conclusiones.** Este trabajo demostró que en la expresión de lacasa en el sistema en superficie de levadura hay que tener en cuenta la composición del medio de expresión, para tener una mayor expresión de la enzima en el sistema de despliegue en superficie de levadura, además, de reducir costos de producción al usar una concentración menor de galactosa.

**Agradecimiento.** Se agradece al Centro de Investigación en Biotecnología por permitir llevar a cabo este trabajo en sus instalaciones y al CONACYT por la beca otorgada (CVU 558761). Al proyecto CONACYT A1-S-34559-2018

**Bibliografía.**

1. Brandt Bertrand, María R. Trejo-Hernández, Daniel Morales-Guzmán, Luis Caspeta, Ramón Suárez Rodríguez, Fernando Martínez-Morales, (2016). Functional expression, production, and biochemical characterization of a laccase using yeast surface display technology, Fungal Biology.