

NANORREACTOR CON ACTIVIDAD LACASA PARA LA BIOTRANSFORMACION DE CONTAMINANTES EMERGENTES

Carlos A. Medrano-Villagómez, Rafael Vazquez –Duhalt. Departamento de Bionanotecnología, Centro de Nanociencias y Nanotecnología - UNAM / Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada. Ensenada, Baja California, 22860. cmedrano@ens.cyn.unam.mx

Palabras clave: Nanorreector, Contaminantes emergentes, Lacasa

Introducción. Recientemente se ha reportado la presencia de moléculas consideradas contaminantes emergentes con concentraciones preocupantes en diversas muestras ambientales (1). El uso de enzimas para la biorremediación enzimática es una propuesta que se ha usado por muchos años, sin embargo, presentan ciertas desventajas, las cuales se propone pueden ser mitigadas con la nanoimmobilización de estas proteínas, específicamente de las enzimas tipo lacasa, las cuales tienen la capacidad de biotransformar una gran variedad de sustratos (2).

En este trabajo se sintetizó un nanorreactor (NanoLac), en el cual se confinó la lacasa de *Coriopsis gallica* dentro de la cápside viral del virus de mosaico del bromo (BMV); se realizó la caracterización fisicoquímica y catalítica, además de evaluar la biotransformación de contaminantes emergentes.

Metodología. El ensamble del nanorreactor se realizó bajo el fundamento de complementariedad de cargas (3). La Lacasa del hongo *Coriopsis gallica* UAMH 8260 fue donada por Instituto de Biotecnología-UNAM. La cinética de saturación fue realizada con una concentración de 10 nM de enzima y un rango de 10 a 2000 μM del sustrato modelo ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)). Las pruebas de biotransformación se realizaron con un equipo de HPLC (Alligent) acoplado a un detector UV-visible, con una columna de fase reversa.

Resultados. El ensamble del nanorreactor se realizó con una relación molar (μg) de 1:9 (Lacasa:BMV), obteniendo nanopartículas esféricas catalíticas con características semejantes al virus nativas, es decir, un tamaño promedio de 30 nm (DLS), una morfología semiesférica (TEM). Respecto a la actividad, fue evaluada con el sustrato ABTS después de su purificación por diáfiltración y SEC, con el objetivo de disminuir la señal catalítica de la enzima no confinada (Figura 1). En este caso se compararon las constantes catalíticas del nanorreactor (NanoLac) y de la enzima libre (Lac) (Tabla 1).

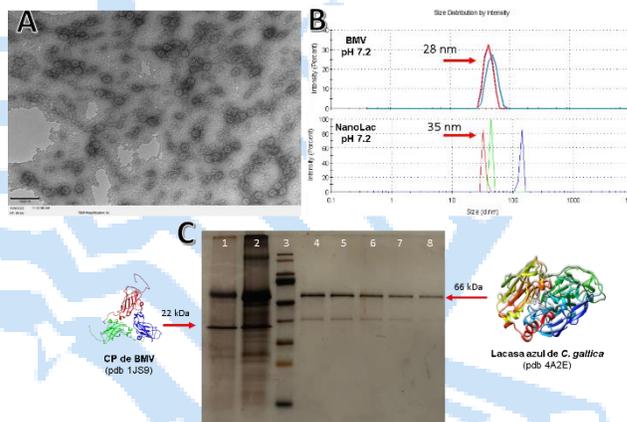


Fig. 1. A) Fotografía por TEM del virus nativo BMV. B) Distribución de tamaños del virus y de NanoLac. C) SDS-PAGE de NanoLac (carril 1 y 2).

Tabla 1. Contantes catalíticas con ABTS de Lacasa libre y NanoLac.

	V_{\max}	K_M	k_{cat}	k_{cat}/K_M
Lacasa	0.25 $\mu\text{M}/\text{s}$	94.81 μM	250 s^{-1}	2.6 $\mu\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$
NanoLac	720 $\mu\text{M}/\text{s}$	622 μM	188 s^{-1}	0.3 $\mu\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$

Conclusiones. El confinamiento de una enzima dentro de una cápside es un proceso innovador de inmovilización que genera nuevos retos a solucionar e interrogantes que deben de contestadas. Específicamente profundizar en el fenómeno de la cinética enzimática en alto confinamiento y dimensiones nanométricas.

Agradecimiento. El proyecto ha sido financiado por el proyecto UNAM (PAPIIT IN209722).

Bibliografía.

- Peña-Guzmán C, Ulloa-Sánchez S, Mora K, Helena-Bustos R, López-Barrera E, Álvarez J, Rodríguez-Pinzón M. (2019) *Journal of Environmental Management*. 237 (1) 408-423.
- García-Morales R, García-García A, Orona-Navar C, Osma J, Nigman K.D.P., Ornelas-Soto N. (2018). *Journal of Environmental Chemical Engineering* 6 (1) 710–717.
- Cadena-Nava R, Comas-García M, Garmann R, Rao A, Knobler C, Gelbart W. (2012) *Journal of Virology* 86 (6) 3318-3326.