



AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE ω -AMINOTRANSFERASA A PARTIR DE *Fusarium Oxysporum*

Rita María Campa-Ramos^a, Abraham Rogelio Martín-García^a, Patricia Guerrero-German^a, Juan Antonio Noriega-Rodríguez^a, Elisa Miriam Valenzuela-Soto^b

^a Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Sonora, Blvd. Luis Encinas y Rosales s/n, Col. Centro, Hermosillo, Sonora, México. CP 83000. Rinos14@hotmail.com

^b Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Carretera a la Victoria 71, Col. San Luis, Hermosillo, Sonora, México. CP 83000. elisa@ciad.mx

Palabras clave: compuestos quirales, ω -Aminotransferasa, Fusarium oxysporum

Introducción. La importancia característica de las enzimas es su alta especificidad sobre la reacción que catalizan. La eficacia de un enzima se mide por la velocidad de transformación del sustrato en producto. Las transferasas son las enzimas que catalizan aquellas reacciones celulares donde un grupo de átomos se transfieren de un sustrato a otro. La importancia de la biosíntesis de aminoácidos y aminoras con actividad óptica ha crecido en los últimos veinte años porque aminoras quirales se utilizan como productos farmacéuticos intermedios y finales, y en síntesis asimétrica y la resolución de químicos (1). Las aminotransferasas intervienen en la síntesis de compuestos con actividad óptica. La síntesis asimétrica ha adquirido una gran importancia; esta incluye métodos enzimáticos, estereoquímicos y también catalíticos (2). En la preparación de aminoras enantioméricamente puras la importancia de las ω -aminotransferasas está aumentando debido a su enantioselectividad (3).

Identificar y caracterizar ω -Aminotransferasas con estereoespecificidad selectiva en organismos del reino fungi.

Metodología. La producción de *Fusarium oxysporum* fue en 500mL que contenía 0.5 g de urea, 0.5 g de fosfato de potasio, 5.0 g de azúcar. La biomasa fue obtenida por filtración en vacío con filtro Whatman de 150mm, obteniendo un rendimiento de 1.55g/500mL. Dado que la enzima de nuestro interés está en el interior de la célula, se prosiguió a un rompimiento de pared celular del *Fusarium oxysporum*, se utilizó nitrógeno líquido, el cual al congelarse forma cristales muy fríos que rompen células cuando esta se descongela rápidamente a 37°C, este método es eficiente para tejidos animales, vegetales y masas microbianas, que se pueden congelar con nitrógeno líquido y molerlos en un mortero común. Se pusieron en contacto 1.2g de células libres en un mortero en la campana de flujo laminar, se cubrieron con nitrógeno líquido, se evaporó el nitrógeno y se cristalizaron las células, después se molieron bien en el mortero para después ponerse en contacto con la reacción de transaminación en las condiciones necesarias, para después ser analizadas por HPLC.

Resultados. En la Figura 1 se muestra el gel de agarosa al 1.0% mostrando los resultados de la prueba de PCR para la detección de hongos, dando positivo para el hongo tipo *Fusarium oxysporum*.

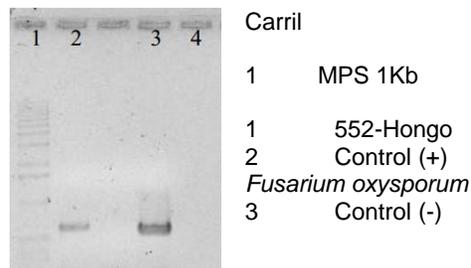


Figura 1. Prueba de PCR para la detección de hongos

La actividad de R-AT se midió directamente con la velocidad inicial de la generación de la acetofenona (Figura 2), la cual se obtuvo a los 19.8 minutos por HPLC, dando una velocidad de producción de 0.301 μ M/min, en sus condiciones óptimas de 32.5°C y pH de 6.28.

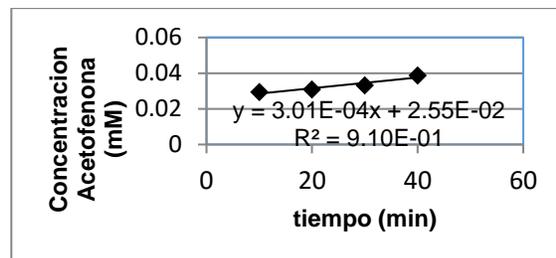


Figura 2. Velocidad de Acetofenona a 32.5°C y pH de 6.28

Conclusiones. Se identificó una enzima aminotransferasa con actividad estereoeslectiva; con la cual fue posible convertir R-MBA a acetofenona. La estereoeslectividad de ω -AT fue con R-AT ya que fue donde se mostró actividad. La R-AT detectada presentó la mayor actividad a 32.5°C y pH de 6.28; obteniéndose una velocidad de reacción de 0.301 μ M/min.

Bibliografía. 1. Martín, Abraham R.; DiSanto, Rocco; Plotnikov, Irina; Kamat, Sanjay; Shonnard, David; Pannuri, Sachin. "Improved activity and thermostability of (S)-aminotransferase by error-prone polymerase chain reaction for the production of a chiral amine". *Biochemical Engineering Journal* (2007), 37(3), 246-255.
2. Gerlach, Matthias; Pütz, Claudia; Enders, D. and Gaube, Gero. "Procedimiento de síntesis de compuestos quirales". Patente Europea. Numero: 2234908. (2005.07.01).
3. Koszelewski, Clay, Dorina; Grischek, Dominik; Gross, Barbara; Lavandera, Ivan; Wolfgang, Kroutil. "Testing of microorganisms for ω -transaminase activity". *Tetrahedron: Asymmetry* (2010), 21(16), 2005-2009.

