

ZYMOMADRID XXXII

Viernes, 9 DE MARZO DE 2018

9:15 horas

**Salón de Grados “Colegio Oficial de
Farmacéuticos de Madrid”**

(aula 220, planta baja)

**Nuevo Aulario de la Facultad de Farmacia
Universidad Complutense**

**Coordinadores:
Olivier Vincent
María Molina**

Análisis de la actividad de transglucosilación de la α -glucosidasa GAM1 de la levadura *Schwanniomyces occidentalis*

Zoran Merdzo^{1*}, Tom Halmos¹, María Gimeno-Pérez¹, David Rodrigo-Frutos¹, D. Piedrabuena¹, F.J. Plou², and M. Fernández-Lobato¹.

¹Departamento de Biología Molecular. Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (UAM-CSIC). Universidad Autónoma de Madrid. Campus Cantoblanco, 28049 Madrid.

zoran@cbm.csic.es

²Departamento de Biocatálisis. Instituto de Catálisis y Petroleoquímica (CSIC). Campus Cantoblanco, 28049 Madrid.

La microbiota intestinal tiene un impacto directo en la salud del hospedador, lo que genera un gran interés en encontrar nuevas formas de manipular la composición y la actividad de determinados tipos de bacterias para mejorar la calidad de vida¹. Por esta razón, existe un creciente interés industrial en el desarrollo de nuevos productos con nuevas y/o mejores propiedades. En este contexto, los carbohidratos prebióticos estimulan selectivamente el crecimiento y/o la actividad de bacterias del tracto intestinal que son consideradas beneficiosas para la salud, entre ellas algunas especies de los géneros *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*. Los isomaltooligosacáridos (IMOS) son azúcares prebióticos con un grado de polimerización de unos 2 a 10 monómeros de glucosa unidos mediante enlaces glucosídicos $\alpha(1-2, -3, \text{ ó } -6)$, aunque también pueden contener uniones $\alpha(1-4)$. Para la producción de IMOS se pueden utilizar principalmente 2 tipos de enzimas: glucosidasas y glucosil-transferasas². Las α -glucosidasas (EC 3.2.1.20) por su estructura tridimensional y su secuencia se incluyen dentro de la familia 31 de las Glicosil Hidrolasas (GH31) (<http://www.cazy.org/>). Estas enzimas hidrolizan, por lo general, los enlaces $\alpha(1-4)$ del extremo no reductor de polímeros de glucosa y liberan las unidades constituyentes. Algunas de ellas muestran actividad de transglucosilación (TG) en condiciones saturantes de sustrato. La α -glucosidasa GAM1 de *Schwanniomyces occidentalis* además de hidrolizar maltooligosacáridos presenta actividad TG sobre maltosa. Por transferencia produce isomaltosa, kojibiosa, panosa, maltotriosa y otros productos de mayor tamaño³.

En este estudio, el gen de *Gam1* (2883pb), responsable de la actividad α -glucosidasa GAM1, fue aislado a partir de DNA genómico de *Sw. occidentalis*, clonado en pIB4 bajo el control del promotor inducible por metanol *AOX1p* y transformado en *Pichia pastoris*. La proteína heteróloga fue expresada y utilizada en reacciones de TG basadas en maltosa y distintos aceptores no hidrolizables por la enzima. Los productos obtenidos fueron analizados mediante HPLC. Además, se realizó un estudio preliminar de la estructura 3D de la proteína y se obtuvieron distintos mutantes puntuales de la misma que fueron bioquímicamente analizados.

Referencias bibliográficas

1. Louis P, Scott KP, Duncan SH, Flint HJ. J. Appl. Microbiol. 2007, 102, 1197–208.
2. Goffin, D., Delzenne, N., Blecker, C., Hanon, E., Deroanne, C., & Paquot, M. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2011 51, 394–409.
3. Song, K.-M., Okuyama, M., Nishimura, M., Tagami, T., Mori, H., & Kimura, A. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2013, 77, 1759–65.