

ISOPENICILINA N EPIMERASA DE *Streptomyces lactamdurans*

L. Lajz, P. Liras, M. García-Domínguez, J.G. Calzada, J.R. Coque, M. Ludovice y J.F. Martín.

Area de Microbiología, Facultad de Biología, Universidad de León, 24071 León.

La isopenicilina N epimerasa (IPNE) es la actividad enzimática que cataliza el cambio de configuración L a D de la cadena lateral del ácido L- α -aminoadípico de la isopenicilina N para formar penicilina N. Se trata de una enzima que está presente en microorganismos productores de cefalosporinas y cefamicinas. Es muy inestable, tanto en *Acetomonium chrysoogenum* (1) como en *Streptomyces clavuligerus* (2) y *Streptomyces lactamdurans*, por lo que aún no ha sido purificada a homogeneidad.

En *Streptomyces* la enzima se estabiliza parcialmente con fosfato de piridoxal y no requiere cofactores para su actividad. La epimerasa fue purificada a partir de 12 litros de células mediante precipitación con sulfato amónico (30-50%), filtración en Sephadex G-75, ultrafiltración en Amicon con PM30, intercambio iónico en Mono Q-HPLC utilizando gradientes de 25-250 mM Tris-HCl y filtración en Superosa 12 por FPLC. De esta forma se ha conseguido una purificación de 88 veces. El peso molecular de la enzima calculado a partir de filtración en Sephadex G-75 es de 585001000 (K_{av} 0.095), similar al descrito para la enzima de *S. clavuligerus* que es de 60000 (2). Sin embargo una banda de este tamaño no se aprecia en gels PAGE más que a partir de la segunda purificación por intercambio iónico y especialmente después de la filtración en Superosa 12. El punto isoeléctrico de la epimerasa es 5.5.

La enzima de *S. lactamdurans* es estable en un amplio rango de pH (4-9). Sin embargo es bastante sensible a procesos de diálisis ya que pierde totalmente la actividad si se mantiene dializando a 4C durante 6 horas.

(1) C. Lübbe, S. Wolfe y A. L. Demain. Appl. Microbiol. Biotechnol. (1986) 23:367-368.

(2) S.E. Jensen, D.W.S. Westlake y S. Wolfe. Can. J. Microbiol. (1983) 29:1526-1531