

Biosíntesis y regulación de antibióticos β -lactámicos en *Penicillium chrysogenum*

Carlos Ontiveros Arredondo

Departamento de Genética y Biología Molecular
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
Instituto Politécnico Nacional

En 1941, cuando se inició la extracción de penicilina, el hongo *Penicillium notatum* se hacía crecer sobre la superficie de un medio de cultivo simple durante cinco-diez días. El líquido sobre el cual crecía el hongo contenía penicilina con una actividad real equivalente a 0.006-0.012 mg/l de penicilina benzoica pura.¹ Actualmente la producción de penicilina utilizando cepas industriales de *P. chrysogenum* es de 10-20 g/l.^{2,3}

El *Penicillium chrysogenum* es un hongo filamentoso ampliamente utilizado para la producción comercial de penicilinas y cefalosporinas a nivel industrial.

El gran avance en la producción de penicilina se obtuvo gracias a los métodos de mutación y selección de cepas de *P. chrysogenum* productoras de penicilina⁴, así como al desarrollo de medios de cultivo específicos y al avance tecnológico en la industria de fermentación.¹

Biosíntesis de los antibióticos β -lactámicos

Las vías metabólicas microbianas de la biosíntesis de la penicilina y otros antibióticos β -lactámicos, incluyendo las enzimas involucradas en los principales pasos metabólicos, se determinaron a finales de la década de los ochenta.^{7,8,9}

Un esquema general de las vías biosintéticas microbianas de la penicilina y la cefalosporina se muestran en la Figura 1, el cual fue elaborado a partir de datos obtenidos con varios microorganismos que producen estos antibióticos. Ningún microorganismo es capaz de llevar a cabo

toda la serie de reacciones mostradas, pero todos ellos son capaces de realizar la serie de pasos metabólicos iniciales hasta isopenicilina N, el intermediario común para la formación de todos los antibióticos β -lactámicos.¹⁰ La vía metabólica está dividida en dos ramas, la rama metabólica del lado izquierdo la lleva a cabo *P. chrysogenum* y otros hongos filamentosos que producen penicilinas hidrofóbicas, como la penicilina benzoica, también llamada penicilina G. La rama metabólica del lado derecho se encuentra en los microorganismos productores de antibióticos β -lactámicos hidrofílicos, como la penicilina N y las cefalosporinas.

Enzimas involucradas en la biosíntesis de los antibióticos β -lactámicos

La elaboración microbiana de las penicilinas y las cefalosporinas (véase Figura 1) se lleva a cabo por una serie de reacciones que incluyen, en todos los casos, dos pasos comunes:⁸ primero, la formación del tripéptido \dot{U} -(L-Ó-aminoadipil)-L-cisteinil-D-valina (ACV) por medio de la enzima ACV sintetasa y segundo, la enzima isopenicilina N sintetasa o ciclase lleva a cabo la conversión del tripéptido ACV a isopenicilina N. En la biosíntesis de la penicilina, la isopenicilina N es convertida a penicilina G por medio de la enzima penicilina aciltransferasa.

En la vía biosintética de la cefalosporina, la isopenicilina N es convertida a penicilina N por la enzima isopenicilina N isomerasa. Posteriormente, la penicilina N es convertida a desacetoxicefalosporina C

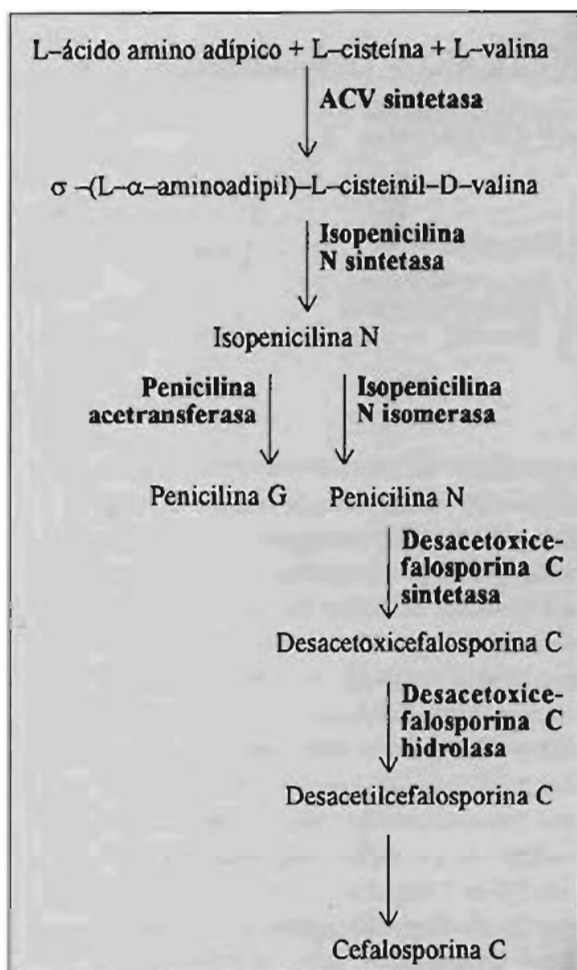


Figura 1. Vías para la biosíntesis de la penicilina y la cefalosporina.

(DAOC) por acción de la enzima desacetoxicefalosporina C sintetasa, también llamada expandasa. La siguiente reacción es la hidroxilación de DAOC con la enzima desacetoxicefalosporina C hidrolasa para formar la desacetoxicefalosporina C (DAC). La reacción final en los microorganismos productores de la cefalosporina es la acetilación de DAC por medio de la enzima acetiltransferasa para formar la cefalosporina C.

En *P. chrysogenum* los genes que codifican para las enzimas ACV sintetasa, isopenicilina N sintetasa y penicilina aciltransferasa (designados en este trabajo como *acvA*, *pcbC* y *penDE* respectivamente) se localizan en el genoma del hongo en forma contigua¹¹ en el orden *acvA-pcbC-penDE*. Los genes *acvA* y *pcbC* se transcriben en forma divergente, aparente-

mente controlados por el mismo promotor, mientras que el gen *penDE* se transcribe en la misma orientación que el gen *pcbC*.

Represión catabólica por glucosa

La glucosa es la mejor fuente de carbono y energía para sostener el crecimiento de los microorganismos productores de antibióticos. Sin embargo, la utilización de glucosa como fuente de carbono disminuye notablemente la biosíntesis de los antibióticos β-lactámicos. En un medio de cultivo que contiene dos fuentes de carbono, una de ellas glucosa, ésta se utiliza primero, suprimiendo la biosíntesis de antibiótico. Cuando la glucosa se agota o su concentración llega abajo de los niveles mínimos de represión, la segunda fuente de carbono es utilizada y entonces comienza la biosíntesis del antibiótico.¹²

La regulación catabólica por carbono de la biosíntesis de la penicilina en *P. chrysogenum* se lleva a cabo por la glucosa y otros azúcares, excepto lactosa. Este mecanismo de regulación reprime la formación de las enzimas ACV sintetasa e isopenicilina N sintetasa, pero no es capaz de reprimir a la enzima penicilina aciltransferasa.^{7,12} En la producción industrial de la penicilina usualmente se utiliza la lactosa como fuente de carbono, con la cual se obtienen los rendimientos más altos de penicilina, pero también se utilizan medios de producción industrial que contienen glucosa a una concentración que no reprime la producción del antibiótico, o se utilizan mezclas de glucosa y lactosa como fuentes de carbono.

Perspectivas

Es cierto que el progreso obtenido en el conocimiento de la biosíntesis y regulación de los antibióticos β-lactámicos en *P. chrysogenum* ha aumentado notablemente en los últimos años, pero queda mucho por hacer y entender, ya que el mecanismo molecular exacto por el cual la glucosa reprime la biosíntesis de penicilina es aún

desconocido. Quizás el desarrollo de la tecnología del DNA recombinante y su aplicación a los hongos filamentosos abra una nueva vía para estudiar y comprender los mecanismos de represión en la biosíntesis de antibióticos β -lactámicos en *P. chrysogenum*.

Bibliografía

¹ Swartz, R.W., "Penicillins", *Comprehensive Biotechnology. The principles, applications and regulation of biotechnology in industry, agriculture and medicine*, Vol.3, Editores Blanch H.W., Drew S. y Wang D.I.C., Pergamon Press, Oxford, 1985, pp. 7-47.

² Pirt, S.J., "Microbial physiology in the penicillin fermentation", *Trends Biotechnology*, Vol. 5, 1987, pp. 69-72.

³ Stahl, U., Leitner, E. y Esser, K., "Transformation of *Penicillium chrysogenum* by a vector containing a mitochondrial origin of replication", *Applied Microbiology Biotechnology*, Vol. 26, 1987, pp. 237-241.

⁴ Elander, R.P., "Strain improvement programs in antibiotic - producing microorganisms- present and future strategies", *Advances in Biotechnology*, Vol. 1, Scientific and Engineering Principles, Editores Moo-Young, M., Robinson, C.W. y Vézina, C., Pergamon Press, New York, 1981, pp. 3-9.

⁵ Veenstra, A.E., van Solingen, P., Huininga-Muurling, H., Koeman, B.P., Groenen, M.A.M., Smaal, E.B., Kattevilder, A., Álvarez, E. y Martín, J.F., "Cloning of penicillin biosynthetic genes", *Genetics and Molecular Biology of Industrial Microorganisms*, Editores Hershberger, C.L., Queener, S.W. y Hegeman, G., American Society for Microbiology, Washington D.C., 1989, pp. 262-269.

⁶ Luengo, J.M., "Recent advances in the enzymatic synthesis of penicillins", *Progress Industrial Microbiology*, Vol. 27, 1989, pp. 315-332.

⁷ Martín, J.F., López-Nieto, J., Castro, J.M., Cortés, J., Romero, J., Ramos, F.R., Cantoral, J.M., Álvarez, E., Domínguez, M.G., Barredo, J.L. y Liras, P., "Enzymes involved in β -lactam biosynthesis controlled by carbon and nitrogen regulation", *Regulation of Secondary Metabolite Formation*, Editores Kleinkauf, H., von Döhren, H., Dornauer, H. y Nesseman, G., V.C.H. Weinheim, 1986, pp. 41-76.

⁸ Martín, J.F. y Liras, P., "Enzymes involved in penicillin, cephalosporin and cephamycin biosynthesis", *Advances Biochemical Engineering*, Editor Fiechter, A., Springer-Verlag, New York, 1988, pp. 153-187.

⁹ Nüesch, J., Heim, J. y Treichler, H.J., "The biosynthesis of sulfur-containing β -lactam antibiotics", *Annual Review Microbiology*, Vol. 41, 1987, pp. 51-75.

¹⁰ Demain, A.L., Kupka, J., Shen, Y.Q. y Wolfe, S., "Microbiological synthesis of β -lactam antibiotics", *Trends in Antibiotic Research. Genetics, biosynthesis, action and new substances*, Editor Humezawa, H., Japan Ant Res Assoc. Tokio, 1982, pp. 233-246.

¹¹ Smith, D.J., Burnham, M.K.R., Bull, J.H., Hodgson, J.E., Ward, J.M., Browne, P., Brown, J., Barton, B., Earl, J.A. y Turner, G., " β -lactam antibiotic biosynthetic genes have been conserved in clusters in prokaryotes and eukaryotes", *EMBO Journal*, Vol. 9, 1990, pp. 741-747.

¹² Revilla, G., López-Nieto, M.J., Luengo, J.M. y Martín, J.F., "Carbon catabolite repression of penicillin biosynthesis by *Penicillium chrysogenum*", *Journal Antibiotics*, Vol. 37, 1984, pp. 781-789.

