

## RESUMEN

Autor [Rebaza Cardenas, T.D.](#)

Autor corporativo [Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima \(Peru\). Facultad de Ciencias](#)

Título **Verificación de la condición seprófito de la cepa productora de celulasas neuroalcalinas *Aspergillus fumigatus* LMB-35Aa y sus mutantes mejorados mediante análisis de expresión diferencial de genes de celulasas y genes de patogenicidad**

Impreso Lima : UNALM, 2019

### Copias

Ubicación	Código	Estado
Sala Tesis	<a href="#">T10. R4 - T</a>	USO EN SALA
Descripción	73 p. : 18 fig., 4 tablas, 76 ref. Incluye CDROM	
Tesis	Tesis (Biólogo)	
Bibliografía	Facultad : Ciencias	
Sumario	Sumarios (En, Es)	
Materia	<a href="#">ASPERGILLUS FUMIGATUS</a> <a href="#">CELULASA</a> <a href="#">IDENTIFICACION</a> <a href="#">GENBES LETALES</a> <a href="#">PATOGENICIDAD</a> <a href="#">VIRULENCIA</a> <a href="#">TECNICAS ANALITICAS</a> <a href="#">EXPERIMENTACION EN LABORATORIO</a> <a href="#">MUTANTES</a> <a href="#">ENFERMEDADES HUMANAS</a> <a href="#">ENFERMEDADES FUNGOSAS</a> <a href="#">PERU</a> <a href="#">CONDICION SAPROFITA</a> <a href="#">CEPAS</a> <a href="#">CELULASAS NEUROALCALINAS</a> <a href="#">ANALISIS DE EXPRESION DIFERENCIAL</a> <a href="#">GENES DE CELULASAS</a> <a href="#">GENES DE PATOGENICIDAD</a>	

En la actualidad las celulasas ocupan el tercer lugar dentro del grupo de enzimas industriales de mayor importancia en el mercado. Su aplicación se extiende a diferentes industrias, siendo el sector textil una de las industrias con mayor demanda, especialmente de celulasas que presenten actividad óptima a pH neutro-alkalino. El Laboratorio de Micología y Biotecnología aisló una cepa productora de celulasas neutro-alkalinas, *Aspergillus fumigatus* LMB-35Aa y obtuvo cepas mejoradas por mutagénesis al azar. En el presente trabajo se realizó un análisis de expresión diferencial de 10 genes de endoglucanasas y LMPOs entre la cepa silvestre y mutantes, mostrando una sobreexpresión de los genes Afu7g06150 y Afu3g03950 en el mutante *A. fumigatus* LMB-35Aa-6I, mientras que en el mutante *A. fumigatus* LMB-35Aa-12II no se observó diferencias respecto a la cepa silvestre. Asimismo, se logró identificar un gen candidato de  $\beta$ -endoglucanasas neutro-alkalinas, mediante el análisis de expresión de estos 10 genes bajo dos condiciones de temperatura (28 °C y 37 °C) en las cuales se evidenció, previamente, una diferencia significativa en la actividad enzimática a pH neutro-alkalino. Pese a que estas cepas mostraron características prometedoras, *Aspergillus fumigatus* se ha reportado como un patógeno oportunista capaz de causar infecciones agudas en los pulmones de mamíferos. Es así, que resulta imprescindible la verificación de la condición saprófita de esta cepa y mutantes en las condiciones de producción de celulasas neutro-alkalinas. Para este fin, se estudió la influencia de la condición de cultivo (sumergido y biopelículas) y temperatura (28 °C y 37 °C) en la expresión de 15 genes indicadores de patogenicidad. Los resultados mostraron que los genes más importantes asociados a la virulencia, como los que codifican micotoxinas (gliZ), moléculas extracelulares (agd3 y glfA) y el regulador de metabolismo secundario (laeA), se encuentran reprimidos en biopelículas respecto al cultivo sumergido; mientras que el crecimiento a 37 °C no favoreció la sobreexpresión de los genes de patogenicidad evaluados. El comportamiento observado difiere ampliamente de los resultados obtenidos en estudios con una cepa clínica *Aspergillus fumigatus* Af293, reportada como virulenta. Los resultados obtenidos favorecerían el empleo de la cepa saprófita *A. fumigatus* LMB-35Aa y su mutante *A. fumigatus* LMB-35Aa-6I a nivel industrial, como cepas de uso seguro.

## ABSTRACT

At present, cellulases occupy the third place in the group of most important industrial enzymes market. Applications extends to several industries, being the textile industry the one with the highest demand among others, especially for cellulases with optimal activity at neutral-alkaline pH. The Laboratory of Mycology and Biotechnology isolated neutral-alkaline cellulase producer, *Aspergillus fumigatus* LMB-35Aa and obtained improved mutant strains by random mutagenesis. In the present work an analysis of differential expression of 10 endoglucanases and LMPOs genes between the wild type strain and mutants

was performed. This showed an overexpression of the Afu7g06150 and Afu3g03950 genes in the mutant *A. fumigatus* LMB-35Aa-6I, whereas in the mutant *A. fumigatus* LMB-35Aa-12II no differences were observed in comparison with the wild strain. Likewise, it was possible to identify a candidate neutral-alkaline  $\beta$ -endoglucanase gene, by analyzing the expression of these 10 genes under two temperature conditions (28 °C and 37 °C) in which a significant difference in the enzymatic activity at neutral-alkaline pH was previously shown. Although these strains showed promising characteristics, *Aspergillus fumigatus* has been reported as an opportunistic pathogen capable of causing acute infections in the mammalian lung. For this reason, it was mandatory to verify the saprophytic condition of this strain and its mutants in conditions for the neutral-alkaline cellulase production. The influence of the culture condition (submerged and biofilms) and temperature (28 °C and 37 °C) on the expression of 15 pathogenicity indicator genes was studied. The results showed that the most important genes associated with virulence such as those encoding mycotoxin (*gliZ*), extracellular molecules (*agd3* and *glfA*) and secondary metabolism regulator (*laeA*), are repressed in biofilms respect to the submerged culture; whereas the fungi growth at 37 °C did not drive the overexpression of the pathogenicity genes evaluated. The observed behaviour differs widely from the results obtained in studies with the clinical *Aspergillus fumigatus* Af293 strain, reported as virulent. The results obtained suggest the use of the saprophytic strain *A. fumigatus* LMB-35Aa and its mutant *A. fumigatus* LMB-35Aa-6I at the industrial level, as safety-use strains.