

P42

Los fosfopéptidos de caseína aumentan drásticamente la secreción de proteínas extracelulares en *Aspergillus awamori*. Estudios de proteómica revelan cambios en la vía secretora

Katarina Kosalková¹, Carlos García-Estrada¹, Carlos Barreiro¹, Martha-Griselda Flórez², Mohammad-Saeid Jami², Miguel-Ángel Paniagua¹, Juan-Francisco Martín^{1,2}

¹ INBIOTEC, Instituto de Biotecnología de León, Avda. Real nº. 1, Parque Científico de León, 24006 León; ² Área de Microbiología, Departamento de Biología Molecular, Universidad de León, Campus de Vegazana s/n; 24071 León

c.barreiro@unileon.es

La secreción de proteínas animales heterólogas en hongos filamentosos está normalmente limitada por la vía secretora mediada por vesículas. Utilizando la secreción de quimosina bovina en *Aspergillus awamori* como modelo, encontramos que hay un aumento drástico (de 40 a 80 veces) cuando las células son cultivadas en presencia de caseína o los fosfopéptidos de caseína (CPP), los cuales son ricos en fosfoserina. El efecto estimulante de la caseína se reduce en un 50% cuando se utiliza la caseína parcialmente desfosforilada y no es ejercido por los casaminoácidos. El efecto de los fosfopéptidos no se ejerce a nivel transcripcional, sino que se observa claramente sobre la secreción de quimosina mediante análisis de inmunodetección. Los estudios de proteómica mediante geles 2D y posterior identificación por espectrometría de masas (MALDI TOF/TOF) han revelado interesantes cambios metabólicos en respuesta a la suplementación con CPPs. El metabolismo oxidativo se ha reducido aumentando las enzimas involucradas en los procesos fermentativos. Una proteína de unión de oxígeno a la hemoglobina aparece sobreexpresada en las condiciones de suplementación con CPPs. Lo más interesante es que las pre-enzimas intracelulares aparecen agotadas (incluyendo la pre-proquimosina), mientras que las formas maduras de varias proteínas extracelulares y de la pared celular estaban muy representadas en las condiciones de suplementación con CPPs. Una proteína, con varias funciones (*moonlighting*) glicerolaldehído-3-fosfato deshidrogenasa que ha sido descrita por su actividad moduladora en la formación del citoesqueleto también aparece sobreexpresada en condiciones de suplementación con CPP. En resumen, la adición de CPP causa una reprogramación del metabolismo celular que conduce a la secreción masiva de proteínas extracelulares.