BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
Facultad de Ciencias Biológicas
Licenciatura en Biotecnología

PERSPECTIVA DE LA *EC* 1.11.1.14. LIGNINA PEROXIDASA (LIP)

Figura 1. Adaptado de *"Creative Commons Cortinarius humincola (Quel.) Maire"* por Arturo Delgado Fuentes, bajo licencia CC BY-NC-ND (1).

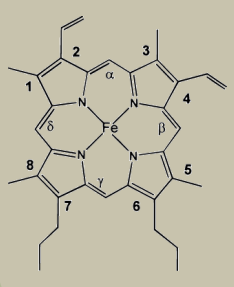
Es una metaloenzima globular extracelular, del tipo oxidorreductasa, de bajo peso molecular (38-43kDa) y aproximadamente 50×40×40Å, encontrada en los fluidos digestivos de algunas especies de hongos basidiomicetos, principalmente del género *Phanerochaete*, y que pertenece a la clase II de la superfamilia de las peroxidasas (2-7).

Figura 2. *Trametes versicolor*. Adaptado de "Creative Commons *Trametes versicolor (Polyporaceae)*" por José Roberto Peruca, bajo licencia CC BY 2.0 (8).

CARACTERÍSTICAS

- *pH óptimo de 3.0 (3–5,7).*
- *Punto isoeléctrico: 3.3–4.6 (4,5,7).*
- *Dependiente del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (3–7).*
- *Sitio activo: grupo hemo (3–7).*

Hierro (II) Protoporfirina IX



Residuos proximales(5,9):

- Fen 46
- His 47
- Asp 238

Quinto Ligando de Fe(III) — Su enlace más largo de lo normal crea una deficiencia electrónica que estabiliza los estados de transición de alta energía (4-7).

Residuos distales(5,9):

- Fen 193
- His 176
- Arg 243

Ion Ca^{+2}

- 2 por subunidad (3,5-9).
- Función estructural (4-7).

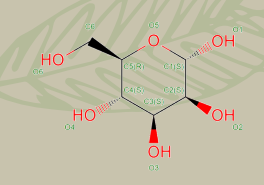
Ion Hidroxilo

- Aumenta potencial reductor (5).

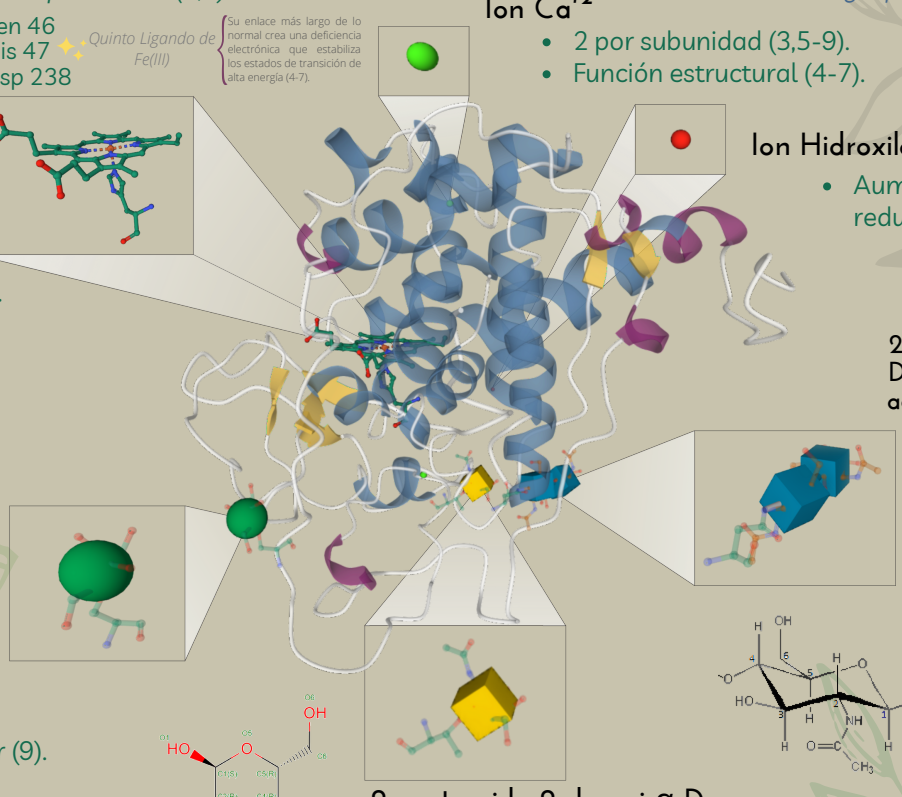
2-acetamido-2-desoxi-β-D-glucopiranosa-(1-4)-2-acetamido-2-desoxi-β-D-glucopiranosa

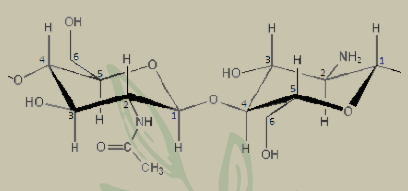
- Glicosilación con Asn 238 (285 para lG5 & 286 en H2) (9).

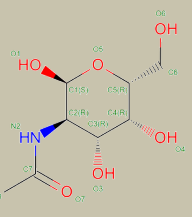
α-D-manopiranosa



- Glicosilación con Ser (9).







2-acetamido-2-desoxi-α-D-galactopiranosa

- Glicosilación con Thr (9).

Figura 3. Estructura de la LiP (isozima H2). Adaptado de "1LLP LIGNIN PEROXIDASE (ISOZYME H2) PI 4.15" (10).

3 α-hélices mayores. 8 hélices menores. 3 pares de láminas beta antiparalelas.

- El grupo hemo se encuentra embebido en la enzima.
- Los dos sitios de unión al sustrato son *"canales"* que permiten el acceso al grupo hemo (3,6,7).
- *Residuos catalíticos:* His 75 y Trp 171 hidroxilado estereoespecíficamente en su carbono β (3,5,7,9).
- *Residuo estabilizador del estado de transición:* Arg 71 (9).

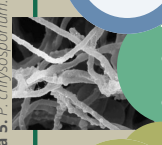
Excepto en isozimas H2 & LG5.

- Un aminoácido dicarboxílico da estabilidad al bolsillo hemo mediante un puente de hidrógeno con el grupo propionato (4,9).
- Cuatro puentes disulfuro conservados que otorgan rigidez (3-7,9).

Figura 4. *Agrocybe pediades.* Adaptado de *"Creative Commons Agrocybe pediades (Fr.) Fayod (361248)"* por Terri Clements & Donna Fulton (pinonbistro), bajo licencia CC BY-SA 3.0 (11).

HISTORIA

70's-80's — Laboratorios de investigación desarrollan un interés por la biodegradación de la lignina (12).



1978 — T. Kenk Kirk y colaboradores determinan las condiciones lignolíticas para *Phanerochaete chrysosporium*: pH ácido, fuente de carbono y energía y una atmósfera saturada de O_2 (5,12).

1983 — Faison y Kirk establecen la relación entre la producción de especies reductoras y la importancia del H_2O_2 durante la deslignifiación (5,12).

Se anuncia el descubrimiento de la "*lignasa*" (4,12).

1984 — Karen E. Murtagh y Roberta Lee Farrell clasifican, diferencian y caracterizan 6 de las isozimas de la LiP (4,5,12).

Posteriormente, se demostró su capacidad para romper dímeros no fenólicos y degradar sustratos solo atacados por oxidantes fuertes (4,5,12). Se comprobó su capacidad de repolimerización y la existencia de un equilibrio regulada por otras enzimas (1,12).

Figura 5. *P. chrysosporium.* (13).

©[Sketchify] a través de Canva.com.

©[Sketchify] a través de Canva.com.

ISOZIMAS

Formas moleculares distintas, una misma actividad catalítica (14).

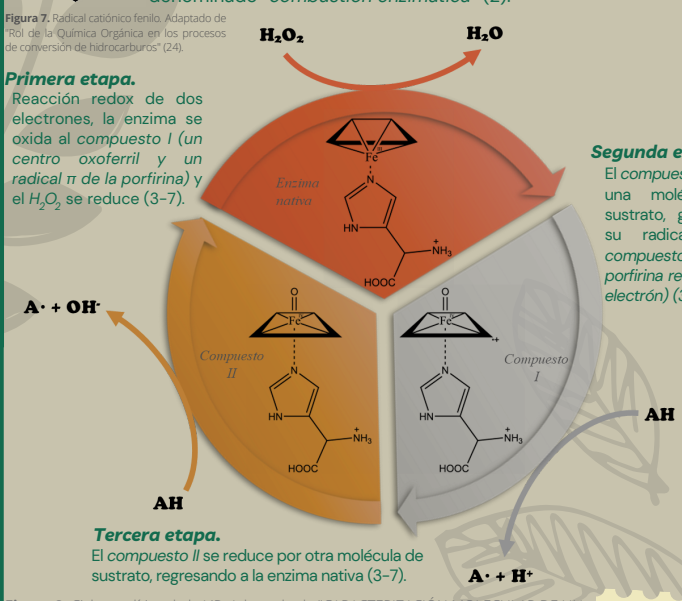
- *LG2.* Dos cadenas similares, 371 aminoácidos (15).
- *LG3.* Dos subunidades, 372 aminoácidos (16).
- *H2.* Dos cadenas, 372 aminoácidos: residuo catalítico 76 y residuo 72 estabilizador (10,17).
- *LG5.* Una subunidad, de 371 aminoácidos: residuo catalítico 74 y residuo estabilizador 70 (18).
- *LG6.* Proteína monomérica de 372 aminoácidos (19).
- *H8.* Dos subunidades, 349 aminoácidos (20).
- *A.* Una única cadena, 372 aminoácidos (21).
- *B.* Una subunidad, 372 aminoácidos (22).

Figura 6. Isozimas. Adaptado de "Creative Commons Complejo enzima-sustrato.jpg" por María Fernanda Pazmiño, bajo licencia CC BY-SA 3.0 (23).

"COMBUSTIÓN ENZIMÁTICA"

La LiP genera radicales catiónicos aromáticos que degradan a la lignina oxidando el enlace Cα-Cβ presente en las cadenas laterales de sus unidades fenilpropilo (>80% del polímero), así como otros compuestos recalcitrantes tanto fenólicos como no fenólicos, a la par que genera nuevos radicales (2-7). Provocando que, una vez iniciado este proceso, continue hasta mineralizar el sustrato sin una intervención directa de la enzima; motivo por el que se le ha denominado *"combustión enzimática"* (2).

Figura 7. Radical catiónico fenilo. Adaptado de "Rol de la Química Orgánica en los procesos de conversión de hidrocarburos" (24).



Primera etapa. Reacción redox de dos electrones, la enzima se oxida al *compuesto I (un centro oxoferril y un radical π de la porfirina)* y el H_2O_2 se reduce (3-7).

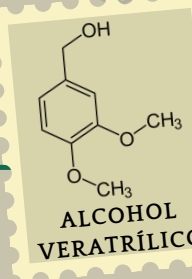
Segunda etapa. El *compuesto I* oxida una molécula de sustrato, generando su radical y el *compuesto II (la porfirina recupera su electrón) (3-7).*

Tercera etapa. El *compuesto II* se reduce por otra molécula de sustrato, regresando a la enzima nativa (3-7).

Figura 8. Ciclo catalítico de la LiP. Adaptado de "CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE UN NUEVO TIPO DE PEROXIDASA LIGNINOLÍTICA" (5).

Nota.

Un exceso de H_2O_2 y falta de un buen sustrato reductor generan un compuesto III, con lo que se pierde toda capacidad enzimática (5).



Sustrato predilecto, su radical se aloja en una sección específica para formar un complejo de mayor potencial redox, alargar el tiempo de vida del radical (60ms) y proteger la enzima de su inhibición.

Figura 9. Alcohol veratrílico (25).

APLICACIONES

©[Eucalyp] a través de Canva.com.

Tiene un alto potencial industrial debido a su poca especificidad para degradar sustancias xenobióticas (2,4,5,26), así como permitir un mejor aprovechamiento de la lignina residual de la industria forestal o su implementación en el ámbito energético (2,4,5,27).

- *Obtención de fibras, papel y biocombustibles.* Desde inicios de los 80's se ha aplicado durante el *biopulping* y *bioblanqueo* de papel (2,4,5,12,27) y en la obtención de fibras vegetales para lino, cáñamo y yute (2). Por otro lado, se ha empleado para obtener azúcares fácilmente fermentables para la producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica a bajo costo y con mayor eficiencia que con cultivos deslignificantes microbianos (2,4,5).

- *Biorremediación.* Esta enzima ha demostrado gran capacidad para mineralizar una amplia variedad de compuestos aromáticos recalcitrantes, incluidos: fenoles, clorofenoles, el bifenilo policlorado, colorantes azoicos, trifenilmetanos y tintes heterocíclicos y poliméricos, con una eficiencia del 75% en presencia de alcohol de veratrol; así como azul de metileno y dimetil-derivados (2,4,5,26).

Figura 10. Adaptado de "Creative Commons Stock Industry Concept Graphics.ai Vector Icon" por VectorPortal, bajo licencia CC BY 4.0. (28).

©[Sketchify] a través de Canva.com.

- *Cosmética.* La marca europea *Elure* la utiliza como principio activo de sus cremas aclarantes, las cuales disminuyen la hiperpigmentación de la piel, aumentan su brillo y luminosidad, reducen su aspereza y mejora su apariencia general descomponiendo la eumelanina, sin presentar afectos adversos contra la salud (4,5,29).

REFERENCIAS

1. Delgado Fuentes A. Glosario ilustrado de los terminos morfodescriptivos de los caracteres macroscopicos en el orden Agaricales (Basidiomycetes) [Internet]. D.F.; 1989 [citado 2022 nov 08]. Available from: https://repositorio.unam.mx/contenidos/188120
2. Levin L, Forchiassin F. Aplicaciones biotecnológicas de los hongos lignocelulolíticos. INDUSTRIA & QUIMICA [Internet]. 2006 [citado 2022 sep 29];352(12):28–31. Available from: https://www.aqa.org.ar/index.php/ediciones/25-revista-i-q-contenido/375-revista-i-q-n-352
3. Piontek K, Smith AT, Blodig W. Lignin peroxidase structure and function. Biochem Soc Trans [Internet]. 2001 may 1 [citado 2022 sep 29];29(2):111–6. Available from: https://doi.org/10.1042/bst0290111
4. Falade AO, Nwodo UU, Iweriebor BC, Green E, Mabinya L v, Okoh AI. Lignin peroxidase functionalities and prospective applications. Microbiologyopen [Internet]. 2017 [citado 2022 sep 29];6(1). Available from: https://doi.org/10.1002%2fmbo3.394
5. Javier F, Dueñas R. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE UN NUEVO TIPO DE PEROXIDASA LIGNINOLÍTICA [Internet]. Madrid; 1998 dic [citado 2022 sep 29]. Available from: https://eprints.ucm.es/id/eprint/4209/
6. Choinowski TH, Blodig W, Winterhalter KH, Piontek K. The crystal structure of lignin peroxidase at 1.70 Å resolution reveals a hydroxy group on the C β of tryptophan 171: A novel radical site formed during the redox cycle 1 1Edited by R. Huber. J Mol Biol [Internet]. 1999 feb [citado 2022 sep 29];286(3):809–27. Available from: https://doi.org/10.1006/jmbi.1998.2507
7. Martínez AT. Molecular biology and structure-function of lignin-degrading heme peroxidases. Enzyme Microb Technol [Internet]. 2002 abr [citado 2022 oct 5];30(4):425–44. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/S0141-0229(01)00521-X
8. Peruca JR. Trametes versicolor (Polyporaceae) [Imagen de Internet]. Flickr. [citado 2022 nov 08]. Available from: https://www.flickr.com/photos/jose_roberto_peruca/14987548050
9. Worldwide Protein Data Bank. Full wwPDB X-ray Structure Validation Report [Internet]. 2020 [citado 2022 sep 29]. Available from: https://ftp.wwpdb.org/pub/pdb/validation_reports/lj/1ljs/
10. Choinowski TH, Piontek K, Grusoff T. 1LLP. LIGNIN PEROXIDASE (ISOZYME H2) PI 4.15 [Internet]. RSCB Protein Data Bank. 1995 [citado 2022 sep 29]. Available from: http://doi.org/10.2210/pdb1LLP/pdb
11. Clements T, Fulton D. Agrocybe pediades (Fr.) Fayod (361248) [Imagen de Internet]. Mushroom Observer. [citado 2022 nov 08]. Available from: https://mushroomobserver.org/image/show_image/361248?obs=138500&o=1rwlm
12. Gutiérrez Suárez A, Martínez AT. Mecanismo de biodegradación de la lignina. Revista iberoamericana de Micología [Internet]. 1996 [citado 2022 sep 29];13:18–23. Available from: https://digital.csic.es/handle/10261/71580
13. Anónimo. Phanerochaete chrysosporium [Imagen de Internet]. Microbe Wiki. 2008 [citado 2022 sep 29]. Available from: https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Phanerochaete_chrysosporium
14. Rodwell VW. Enzimas: Propiedades generales. En: Bioquímica de Harper. 13a ed. D. F., México: Manual Moderno; 1994. p. 73–84.
15. UniProt. P49012 - LIG2_PHACH [Internet]. UniProt.org. 1996 [citado 2022 sep 29]. Available from: https://www.uniprot.org/uniprotkb/P49012/entry
16. UniProt. P21764 - LIG3_PHACH [Internet]. UniProt.org. 1991 [citado 2022 sep 29]. Available from: https://www.uniprot.org/uniprotkb/P21764/entry
17. UniProt. P11542 - LIG4_PHACH [Internet]. UniProt.org. 1989 [citado 2022 sep 29]. Available from: https://www.uniprot.org/uniprotkb/P11542/entry
18. UniProt. P11543 - LIG5_PHACH [Internet]. UniProt. org. 1989 [citado 2022 sep 29]. Available from: https://www.uniprot.org/uniprotkb/P11543/entry
19. UniProt. P50622 - LIG6_PHACH [Internet]. UniProt.org. 1996 [citado 2022 sep 29]. Available from: https://www.uniprot.org/uniprotkb/P50622/entry
20. UniProt. P06181 - LIG8_PHACH [Internet]. UniProt.org. 1988 [citado 2022 sep 29]. Available from: https://www.uniprot.org/uniprotkb/P06181/entry
21. UniProt. P31837 - LIGA_PHACH [Internet]. UniProt.org. 1993 [citado 2022 sep 29]. Available from: https://www.uniprot.org/uniprotkb/P31837/entry
22. UniProt. P31838 - LIGB_PHACH [Internet]. UniProt.org. 1993 [citado 2022 sep 29]. Available from: https://www.uniprot.org/uniprotkb/P31838/entry
23. Pazmiño MF. Complejo enzima-sustrato.jpg [Imagen de Internet]. Wikimedia Commons. 2016 [citado 2022 nov 08]. Available from: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Complejo_enzima-sustrato.jpg
24. Alvarado JG, Delgado Linares JG, Medina HR. Rol de la Química Orgánica en los procesos de conversión de hidrocarburos. Educación Química [Internet]. 2015 oct [citado 2022 sep 29];26(4):288–98. Available from: https://doi.org/10.1016/j.eq.2015.08.001
25. NEUROtiker. Veratrylalkohol.svg [Imagen de Internet]. Wikimedia Commons. 2009 [citado 2022 sep 29]. Available from: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Veratrylalkohol.svg
26. Alma K, Blanca N, Maritza P. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LACASAS Y LIGNINA PEROXIDASAS DE HONGOS DEGRADADORES DE COLORANTES SELECCIONADOS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA INDUSTRIA TEXTIL [Internet]. Sangolquí; 2009 [citado 2022 sep 28]. Available from: http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/5261
27. Téllez Jurado A, Arana Cuenca A, Anducho Reyes MÁ, Mercado Flores Y. Panorama de la Industria de Celulosa y Papel y Materiales Lignocelulósicos 2016. En: Area MC, Park SW, editores. 1a ed. São Pablo: Universidad Nacional de Misiones; 2017 [citado 2022 sep 29]. Available from: https://www.researchgate.net/publication/317094519
28. VectorPortal. Stock Industry Concept Graphics.ai Vector Icon [Imagen de Internet]. Vectorportal.com. [citado 2022 nov 08]. Available from: https://vectorportal.com/vector/industry-concept-vector-graphics.ai/23339
29. Elure [Internet]. 2019 [citado 2022 sep 29]. Available from: https://www.elureskin.eu/.

Oscar Díaz Cuaya