

## Obtención e identificación de la lipasa de 24 kDa (Lip24) del hongo termófilo *Thielavia terrestris* Co3Bag1.

Oscar Antonio Rendón Zabalza, Brenda Anabel López Ruíz, Alejandro Santiago Hernández y María Eugenia Hidalgo Lara  
 Departamento de Biotecnología y Bioingeniería CINVESTAV. Av. Instituto Politécnico Nacional No. 2508. C.P. 07360.  
 Tel. 5747-3800 ext. 4360. e-mail: [ehidalgo@cinvestav.mx](mailto:ehidalgo@cinvestav.mx)

*Lipasa, Identificación, Thielavia terrestris.*

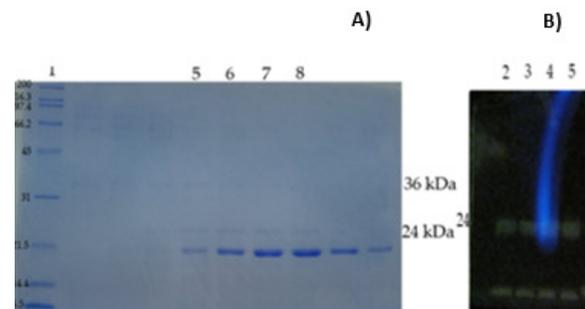
**Introducción.** Las lipasas conforman un grupo muy importante de enzimas, estas tienen la capacidad de catalizar la hidrólisis de los triacilglicérols a ácidos grasos y glicerol [1]. Las lipasas muestran su mayor actividad enzimática cuando se encuentran en una interface aceite-agua [2]. Esta interface permite un arreglo estructural de la enzima, que deja expuesto su sitio activo, dado que el sustrato natural de las lipasas son las grasas y los aceites, la actividad en la interface es un requerimiento para su función biológica [3]. Estas enzimas se utilizan en diversas industrias, tales como la farmacéutica, detergentes, alimentos, papel, cosméticos entre otros [3]. El hongo termófilo, *T. terrestris* es de gran interés debido a la capacidad para crecer a temperaturas superiores a 45 °C y ser fuente de enzimas termoestables.

El objetivo de este trabajo es obtener e identificar la lipasa Lip24 del hongo termófilo *T. terrestris* Co3Bag1.

**Metodología.** *Thielavia terrestris* Co3Bag1 se obtuvo de la Colección Nacional de Cepas Microbianas y Cultivos Celulares CINVESTAV, México. La lipasa lip24 fue purificada a partir del sobrenadante de cultivo de *T. terrestris* Co3Bag1 cultivado en medio líquido descrito por López, (2014), añadiendo al medio aceite de oliva al 1% como fuente de carbono. La purificación de Lip24 se llevó a cabo mediante Cromatografía de Intercambio aniónico y Cromatografía de Filtración en Gel. Se corroboró la obtención de Lip24 mediante un zimograma en condiciones desnaturizantes, utilizando MUF-butirato 1.6mM. Las bandas que presentan esta enzima fueron parcialmente secuenciadas por Espectrometría de Masas (MS) en el Laboratorio Nacional de Servicios Experimentales del CINVESTAV, para su posterior análisis bioinformático.

**Resultados.** El análisis mediante SDS-PAGE de la enzima purificada parcialmente mostró una banda con un peso molecular estimado de 24 kDa, como se observa en la Figura 1. De igual forma, en el zimograma (Figura 2) se puede apreciar una zona de hidrólisis que corresponde a la banda de 24 kDa. Con la finalidad de identificar la banda de 24 kDa, ésta se secuenció parcialmente por MS. Los péptidos obtenidos se analizaron por bioinformática, y se

encontró que la Lip24 tiene alto porcentaje de similitud con una proteína de *T. terrestris* NRRL 8126 no caracterizada, y también con otras proteínas fúngicas no caracterizadas de pesos moleculares muy cercanos a los 24 kDa. Por lo anteriormente descrito, nos hemos propuesto clonar el gen codificante para la lipasa Lip24 del hongo termófilo *T. terrestris* Co3Bag1, y expresar la lipasa recombinante de forma heteróloga, para posteriormente demostrar su actividad enzimática.



**Figure 1** **Figura A.** Fracción. 1 Marcador de peso molecular. Fracciones 5-8 fracciones con actividad de lipasa. Se detecta una banda de 24 kDa ( Lip24). **Figura B.** Fracción 2. Lipasa dializada. Fracción 3. Lipasa precipitada. Fracción 4 y 5. fracciones obtenidas de cromatografía de intercambio aniónico.

**Conclusiones.** Lp24 de *T. Terrestris* Co3Bag1 se purificó parcialmente. Los péptidos obtenidos mostraron 95 % de identidad con una enzima no identificada de la familia de *T. terrestris* NRRL8126

### Bibliografía.

- [1] Ulker S & Alpay S, K. (2012). <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2012.04.023>
- [2] Flavia, D. et al. 2019 *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.10.002>
- [3] López. B, A. (2014). *Purificación y caracterización bioquímica de la lipasa Lip24 del hongo termófilo Corynascus sepedonium cepa CoBag1*. Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.

