



## PRODUCCION DE LIPASAS Y ESTERASAS A PARTIR DE LAS ARQUEAS HALOFILAS

### *Halobacterium* sp. NRC-1 Y *Haloarcula marismortui*

Rosa María Camacho<sup>1</sup>, Juan Carlos Mateos, Orfil González<sup>1</sup>, Arely Prado<sup>2</sup>, Jesús Córdova<sup>1</sup>

Universidad de Guadalajara. Depto. de Ing. Química. García Barragán 1421, 44480 Guadalajara, Jal.

UAM-Iztapalapa. Depto. de Biotecnología. San Rafael Atlixco No. 186 Col. Vicentina, Del. Iztapalapa, DF.

jesuscordovaudg@yahoo.com.mx

Palabras clave: extremófilos, haloarqueas, lipasas y esterases.

**Introducción.** Las esterases y lipasas son enzimas de gran interés industrial, debido a que en medios no acuosos catalizan reacciones de síntesis de compuestos tales como fármacos, alimentos, cosméticos, etc.<sup>1</sup>. Sin embargo, en general, las lipasas y esterases no presentan una adecuada estabilidad en solventes orgánicos, por lo que su empleo en procesos de biosíntesis industriales es limitado. Las arqueas halófilas adaptadas a desarrollarse en ambientes altamente salinos en los que la actividad de agua es muy baja, son consideradas como fuentes potenciales de biocatalizadores activos en medios no acuosos<sup>2</sup>. Los genomas de las arqueas halófilas *Halobacterium* sp. NRC-1 (*H*) y *Haloarcula marismortui* (*Hm*), han sido secuenciados<sup>3,4</sup>, detectándose genes que codificarían para esterases y lipasas putativas (<http://www.genome.ad.jp>). Sin embargo, hasta la fecha la síntesis de ambas actividades enzimáticas, no ha sido confirmada en el caso de ambas haloarqueas.

El objetivo de la presente investigación es el detectar la actividad esterasa y lipasa de estas haloarqueas.

**Metodología.** *H* y *Hm* (ATCC) fueron cultivadas en matraces con medios líquidos hipersalinos (NaCl, 250g/l) a 37°C y 200rpm. A los extractos crudos intracelulares y extracelulares, se les detectó la actividad esterasa y lipasa empleando como sustratos respectivamente, el *p*-nitrofenil-valerato (pNPV) y el *p*-nitrofenil-laurato (pNPL). Estas actividades fueron ensayadas a 30°C, pH 7.5 y 2M de NaCl. Además, las actividades esterasa y lipasa intracelulares fueron monitoreadas durante el cultivo de *Hm* en biorreactores de 2 l, 1vvm de aire, 300 rpm, 37°C y pH 7.4. Una unidad de actividad enzimática fue definida como 1 μmol de *p*-nitrofenol liberado por minuto a 410nm.

**Resultados y discusión.** Los extractos intracelulares de *H* y de *Hm* hidrolizaron preferentemente pNPV (esterasas) alcanzando respectivamente, una actividad máxima de 29.8 U/l al cabo de 45 h y de 17.5 U/l al cabo de 50 h (Cuadro 1).

Cuadro 1. Producción de esterases y lipasas en cultivos líquidos de *Halobacterium* sp. NRC-1 y *Haloarcula marismortui*

	Intracelular U/l		Extracelular U/l	
	pNPV	pNPL	pNPV	pNPL
<i>H</i>	29.8 ± 0.5	3.3 ± 0.6	ND	ND
<i>Hm</i>	17.5 ± 0.1	7.3 ± 0.4	3.1 ± 0.8	3.9 ± 0.2

ND = No detectable

Además, ambas haloarqueas sintetizaron lipasas intracelulares alcanzando una actividad máxima de 3.3 y de 7.3 U/l, respectivamente para *H* y *Hm*. Este resultado sugirió que *H* sintetiza esencialmente esterases; mientras que, *Hm* sintetiza

tanto esterases como lipasas, lo cual concuerda con el pronóstico establecido a nivel genómico. Por otro lado, no se detectó actividad esterasa o lipasa en los extractos extracelulares de *H*; mientras que, *Hm* si fue capaz de secretar ambas enzimas.

La Fig. 1 muestra la producción de biomasa y de enzimas intracelulares durante el cultivo de *Hm* en biorreactor. En esta figura se observa que las síntesis enzimáticas están asociadas al crecimiento. Las producciones máximas fueron de 2.4 g/l, 3.7 U/l y 11.3 U/l, respectivamente para la biomasa, la lipasa y la esterasa, siendo alcanzadas a las 48 horas de cultivo.

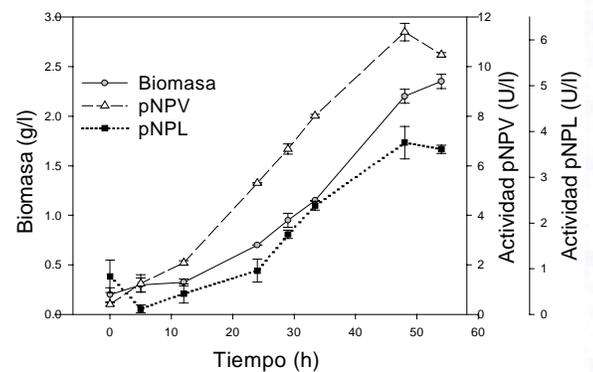


Fig. 1. Producción de lipasa y esterasa intracelulares durante el cultivo de *Haloarcula marismortui*.

**Conclusiones.** Se detectó una actividad esterasa en los cultivos de *Halobacterium* sp. NRC-1 y actividades esterasa y lipasa en los cultivos de *Haloarcula marismortui*. La función fisiológica de las lipasas y esterases en arqueas aun no ha sido elucidada; sin embargo, este estudio revela que estas haloarqueas tienen la capacidad de sintetizar constitutivamente estas enzimas. Notablemente, estas enzimas mostraron una elevada actividad en condiciones altamente salinas (4M NaCl), lo que las convierte en enzimas interesantes para investigaciones futuras, empleando solventes no acuosos.

**Agradecimientos.** Rosa Camacho agradece la beca de doctorado de CONACyT y a la UAM Iztapalapa por la estancia de investigación en la PP4.

#### Bibliografía.

- (1) Jaeger, K.E. y Eggert T. (2002) Lipases for biotechnology. *Curr. Opin. Biotechnol.* 13: 390-397.
- (2) Eichler, J. (2001) Biotechnological uses of archaeal extremozymes. *Biotechnol. Adv.* 19: 261-278.
- (3) Ng, W.V., y col. (2000). Genome sequence of *Halobacterium* species NRC-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 97: 12176-12181.
- (4) Baliga, N.S. y col. (2004). Genome sequence of *Haloarcula marismortui*: A halophilic archaeon from the Dead Sea. *Genome Res.* 14: 2221-2234.