



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



BUSQUEDA DE LIPASAS ROBUSTAS EN ARQUEAS HALÓFILAS PARA SU APLICACIÓN EN BIOCATÁLISIS.

Rosa María Camacho, Juan Carlos Mateos, Jorge Rodríguez y Jesús Córdova*

CIATEJ Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Guadalajara, 44270.

*Universidad de Guadalajara, Dep. de Química, Guadalajara, Jalisco, 44430. jesuscordovaudg@yahoo.com.mx.

Palabras clave: Lipasas, arqueas halófilas, estabilidad enzimática.

Las lipasas son las enzimas más versátiles desde el punto de vista de su aplicación en biocatálisis. Estas enzimas poseen una exquisita especificidad (quimio-, regio- y enantio-selectividad), siendo usadas tanto en reacciones de hidrólisis como de síntesis.

Para llevar a cabo reacciones de síntesis, es usualmente necesario, sustituir al agua como medio de reacción, por un solvente no acuoso. Sin embargo, se ha observado que las enzimas son poco estables en presencia de estos solventes e inevitablemente son desnaturalizadas; además, su actividad sintética es más baja comparada con su actividad en agua.

Para volver una realidad la aplicación potencial de lipasas en procesos industriales de síntesis, es necesario contar con un catalizador estable a los solventes no acuosos. La inmovilización de las lipasas ha resultado en un aumento de la estabilidad enzimática comparada con su forma libre; sin embargo, este aumento en estabilidad no ha sido satisfactorio para posibilitar su aplicación industrial.

En los últimos años, nuestro grupo de trabajo se ha dedicado a la búsqueda, producción, purificación y caracterización bioquímica de lipasas, mediante el cultivo de hongos termófilos y arqueas halófilas, empleando frecuentemente el cultivo en medio sólido.

Nuestros resultados han mostrado que las lipasas de hongos termófilos son ligeramente más estables que las lipasas de hongos mesófilos (1) y que las enzimas más prometedoras en términos de estabilidad, son las lipasas de arqueas halófilas (2, 3).

Las arqueas halófilas son microorganismos considerados como extremófilos, causando gran expectación en la comunidad científica respecto a la posibilidad de aplicación de sus componentes (incluido sus enzimas), los cuales comparten la misma estabilidad y robustez que el organismo íntegro.

La hipótesis inicial de nuestro trabajo de investigación hace alusión a que las arqueas halófilas (incluyendo sus enzimas) se encuentran rodeadas de iones de Na^+ , K^+ y Cl^- , desarrollando mecanismos para hacer frente a muy elevadas concentraciones de estas sales (siendo activas incluso en soluciones saturadas), donde los iones se encuentran hidratados, disminuyendo en gran medida el agua disponible (A_w). Esta observación parece indicar que, las enzimas de arqueas halófilas (haloenzimas) pueden catalizar reacciones en ambientes donde la actividad de agua es reducida (*i.e.* en solventes no

acuosos), mostrando una estabilidad catalítica superior a las lipasas conocidas.

La investigación de nuestro grupo de trabajo ha permitido el aislamiento de la primera cepa productora de lipasas dentro del dominio arquea (*Natronococcus* sp TC6) (4). Hemos estudiado las condiciones de cultivo necesarias para el aumento en la producción de biomasa y de lipasas-esterasas de las arqueas halófilas de *Haloarcula marismortui* y *Halobacterium* sp. NRC-1. Hemos purificado y caracterizado bioquímicamente las enzimas de estas arqueas y en particular, hemos determinado su estabilidad a solventes y a la temperatura (2,3).

En el curso de nuestra investigación, nos hemos enfrentado a graves problemas metodológicos, originados: i) por la presencia de altas concentraciones de sales, que afectan el manejo de los cultivos de arqueas y la purificación de sus enzimas, ii) por la baja producción enzimática, teniendo que realizar cultivos en grandes biorreactores (12 L) para lograr obtener una detectable actividad.

Actualmente, no se ha logrado la aplicación de las haloenzimas en biocatálisis debido a la muy baja concentración enzimática alcanzada, empleando cultivos convencionales con las arqueas (incluso empleando cultivos en medio sólido) y estamos recurriendo a la clonación de las enzimas de interés en huéspedes fácilmente cultivables y productores de una alta actividad enzimática para corroborar la hipótesis que sustenta nuestro trabajo.

Agradecimiento. Los autores agradecen a Sep-Conacyt por el financiamiento al proyecto J1-61207.

Bibliografía. 1. Hernández B., Córdova J., Bárzana E., Favela E. (2009). *J. Mol. Catal. B: Enzym.* 61: 136-142.
2. Camacho R. M., Mateos J. C., González O., Prado L.A., Córdova J. (2009). *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* (36) 901-909.
3. Camacho R. M., Mateos J. C., González O., Díaz D. M., Córdova J. (2010). *Extremophiles.* 14: 99-106.
Muller
4. Bhatnagar T., Boutaiba S., et al. (2005). *FEMS Microbiol. Lett.* 248 (2): 133-140.