

## XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## "INCREMENTO DE LA PRODUCCIÓN DE LIPASA DE Serratia marcescens SM3 POR MUTAGÉNESIS QUÍMICA"

Mariana Sánchez Ramos, <sup>1</sup> Fernando Martínez Morales, Daniel Morales Guzmán <sup>1</sup> y María del Refugio Trejo Hernández. <sup>1</sup>

Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001. Col. Chamilpa. Cuernavaca, Morelos. C. P. 62209. marianasan 06@hotmail.com

Palabras clave: lipasa, Serratia marcescens, mutagénesis.

**Introducción.** Las hidrolasas, son un grupo que incluye al mayor número de enzimas con gran potencial aplicación industrial (más del 80%). Este grupo incluye las lipasas (3.1.1.3) también conocidas como acilglicerolasas o acil-hidrolasas, cuya función biológica es catalizar la hidrólisis de triglicéridos para obtener como productos finales ácidos grasos libres y glicerol o sus productos intermedios como mono y diglicéridos. <sup>1</sup>

Serratia marcescens es un bacilo gram-negativo pigmentado que pertenece a la familia de las enterobacterias, no esporulado anaerobio facultativo, el cual se adapta a una amplia variedad de nichos ecológicos. De entre las bacterias entéricas, Serratia es única en muchos aspectos; este microorganismo es capaz de secretar enzimas extracelulares, quitinasas, nucleasas, proteasas y lipasas. <sup>2</sup> El objetivo del trabajo es determinar la actividad lipolítica presente en Serratia marcescens SM3 e incrementar la producción de lipasas mediante mutagénesis química.

**Metodología**. Cepa *Serratia marcescens* SM3. Para demostrar la actividad lipolítica de la cepa *S. marcescens* SM3 se utilizaron dos medios de cultivo agar: yema de huevo-manitol y con Tween-80 al 1%. <sup>3-5</sup> La actividad lipolítica fue evaluada por el vire de color del medio de cultivo y la formación de un halo alrededor de las colonias de bacterias, respectivamente. Una vez corroborada la actividad lipolítica de la SM3 en estos medios se procedió a realizar la mutagénesis química con el reactivo EMS de la cepa con la finalidad de incrementar la producción de la enzima.

Resultados. El medio agar yema de huevo manitol presentó halos de precipitación claros, este resultado indica una prueba positiva, la actividad en este medio fue corroborada 4 veces resembrando clonas semanalmente (Fig. 1). El medio Tween-80 al 1% también mostró halos de precipitación positivos (Fig. 2).







Control S. marcescens SM3 Clonas Fig. 1. Serratia marcescens en el medio agar yema de huevo-manitol.







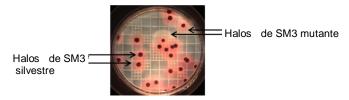
Control E.coli DH5a S. marcescens SM3 S. marcescens SM3

S. marcescens to 24 Hrs

S. marcescens SM3 48 Hrs

Fig. 2. Actividad lipolítica de S. marcescens en medio agar-Tween 80

Una vez demostrada la actividad enzimática lipolítica se realizó la mutagénesis química con el reactivo EMS (a 30 min de exposición), se obtuvo una mutante que presentó el mayor halo de precipitación. La actividad lipolítica de la mutante fue confirmada en el medio de agar con Tween-80 al 1% (Fig. 3).



**Figura 3.** Caja comparativa de halos de precipitación de *S. marcescens* SM3 silvestre y mutante en el medio de cultivo con agar- Tween-80 (1%) a 48 horas.

**Conclusiones**. La actividad lipolítica de las cepas de SM3 y su mutante fue demostrada en dos medios de cultivo diferenciales obteniendo halos de precipitación. La mutagenésis química permitió obtener una mutante con mayor halo de precipitación probada en el medio Tween-80 al 1%. Esta mutante será purificada y posteriormente caracterizada.

**Agradecimiento**. M.S.R. Beca CONACYT No. 252140. **Bibliografía**.

- Torres, Gavilán A (2004). Síntesis e hidrólisis de amidas por medio de lipasas. Tesis de maestría, Instituto de Biotecnología. UNAM. México.
- 2. Heller K B (1979). Lipolytic Activity Copurified with the Outer Membrane of Serratia marcescens. Journal of Bacteriology. 140 (3): 1120-1122.
- 3.- Rodríguez Cavallini E et al (2005). Bacteriología general: Principios y Prácticas de Laboratorio. Universidad de Costa Rica. Pp 475.
- 4.- Allert Vandevenne C et al (2002). Métodos de análisis Microbiológicos de los alimentos. Ed. Díaz de Santos. Pp 248.
- 5.- **Slifkin M** (2000). Tween-80 Opacity Test Responses of Various Candida Species. Journal of Clinical Microbiology. 38 (12): 4626-28.