



Caracterización bioquímica de la lipasa recombinante de *Bacillus licheniformis* LipUVAB01

Gerardo Román-De Groot¹, Rodolfo Quintana-Castro¹, Deny de Jesús Velasco-Vique¹, Rosa María Oliart-Ros², Alfonso Alexander-Aguilera¹ y María Guadalupe* Sánchez-Otero¹

1 Universidad Veracruzana, 2 UNIDA-ITVER. gerardordg96@hotmail.com

Las lipasas (triacilglicerolhidrolasas E.C. 3.1.1.3) poseen gran versatilidad biotecnológica, sin embargo, la inestabilidad de algunas lipasas en condiciones industriales limita su aplicación; la utilización de enzimas de organismos extremófilos representa una alternativa viable; en el proceso de obtener un nuevo biocatalizador, la caracterización bioquímica es fundamental para poder explotar su potencial de manera óptima. Por ello, el objetivo de este trabajo fue caracterizar bioquímicamente una lipasa recombinante proveniente de una cepa termófila de *Bacillus licheniformis* UVAB01, previamente clonada y expresada en *E. coli* BL21 (DE3) con el vector pET-3b. La lipasa recombinante fue obtenida por cultivo de la cepa recombinante en medio LB líquido con ampicilina y la expresión fue inducida con IPTG, seguido de la ruptura celular y la recuperación de la enzima soluble por centrifugación. La temperatura óptima de actividad lipolítica fue de 50°C, esta enzima presenta actividad hidrolítica a 90°C, el pH óptimo para la hidrólisis en las condiciones analizadas fue de 8.0, con actividad hidrolítica en pH alcalinos, lo que demuestra que es una lipasa termoalcalófila. La lipasa recombinante es estable a 30-40°C durante una hora, disminuyendo drásticamente su actividad a 50°C. La lipasa muestra una alta especificidad por sustratos de cadena media, media para sustratos de cadena larga, y poca o nula actividad en sustratos de cadena corta, lo que la coloca como una "lipasa verdadera". Al ser sometida a solventes orgánicos, la actividad hidrolítica de la lipasa se ve reducida, sin embargo, en presencia de hexano, mantiene un 49% de actividad residual, hecho que hace a la LipUVAB01 una buena candidata para catalizar reacciones de esterificación y síntesis en medios no acuosos. Esta enzima conserva su capacidad hidrolítica en presencia de Triton X-100 y Tween 20, pero fue inhibida casi por completo en presencia de SDS. El peso molecular de la lipasa fue determinado mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) siendo este de 25 kDa, coincidiendo con el PM predicho tras el análisis in silico de la secuencia de aminoácidos realizado en investigaciones previas (MK849614.1). Actualmente se realizan estudios para su purificación y uso en síntesis en disolventes orgánicos.

Referencias

Gupta R, Gupta N, Rathi P. Bacterial lipases: An overview of production, purification and biochemical properties. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2004;64(6):763-81.

Hasan F, Shah AA, Hameed A. Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme Microb Technol.* 2006;39(2):235-51.