



## **Estudio de la recuperación de la lipasa recombinante termoalcalófila de *Geobacillus thermoleovorans* CCR11 a partir de cuerpos de inclusión**

Daniel Sierra-Cacho<sup>1</sup>, Macario de Jesus Tiburcio Guzmán<sup>1</sup>, Giselle Lilian Badillo-Zeferino<sup>2</sup>, María Guadalupe Sánchez-Otero<sup>1</sup>, Rodolfo Quintana Castro<sup>1</sup> y Rosa María Oliart Ros<sup>2</sup>

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

Las lipasas debido a su enantio, estéreo y regio selectividad constituyen una parte fundamental en el desarrollo de bioprocesos en diversos rubros industriales. Sin embargo, debido al rango limitado de condiciones físicas que las lipasas mesófilas pueden resistir, el estudio de aquellas lipasas provenientes de microorganismos extremófilos ha tomado relevancia en épocas recientes.

*Geobacillus thermoleovorans* CCR11 es una bacteria termófila, que produce una lipasa termoalcalófila extracelular. El gen de esta lipasa fue recuperado por PCR y clonado en *Escherichia coli*, lo cual produjo una lipasa recombinante de un peso molecular de 43kDa (LipMatCCR11).

El principal problema observado en la producción de proteínas recombinantes es la formación de cuerpos de inclusión; esta situación es debida a la sobreproducción proteica e incapacidad de la misma de adoptar su estructura nativa, disminuyendo así su solubilidad. Estos cuerpos de inclusión son sometidos a diferentes tratamientos con la finalidad de solubilizar y replegar la proteína, recuperando así su actividad biológica.

El objetivo del trabajo fue la recuperación de lipasa recombinante de *Geobacillus thermoleovorans* CCR11 a partir de cuerpos de inclusión obtenidos en *Escherichia coli* BL21 (DE3). Los cuerpos de inclusión fueron aislados a partir de la fracción insoluble obtenida tras la lisis de células de *Escherichia coli* BL21 que contenían el gen de la proteína de interés. Posteriormente estos fueron solubilizados con urea 4M y DTT 0.05 mM por 12 horas a 4°C. Finalmente el producto solubilizado fue dializado contra buffer Tris-HCl 20mM pH 8 con cambios cada 4 horas por 24 horas, obteniéndose un factor de purificación de 6.92 con un porcentaje de recuperación de cuerpos de inclusión del 22% valores que a pesar de desviarse de lo reportado por otros autores resultan prometedores para efectuar posteriores aproximaciones racionales que permitan maximizar el porcentaje de recuperación de estos agregados proteicos.