

# Evaluación de la actividad amilolítica a temperatura ambiente de $\alpha$ y $\beta$ -amilasas de *Bacillus* modificadas genéticamente



Valeria Giraldo López<sup>1</sup>, Diego Guerra<sup>2</sup>

1. Estudiante Biotecnología. Semillero SIFACS. 2. Docente Facultad Ciencias de la Salud. I.U. Colegio Mayor de Antioquia  
Autor de correspondencia: valeria.giraldo03@gmail.com

## ESTADO DEL ARTE Y MARCO TEÓRICO



**Energía eléctrica:**  $\pm 70\%$  de los gastos relacionados con los costos de producción [4].



### Enzimas comerciales



El proceso de elaboración de cerveza requiere cebada como materia prima esencial [1].

Pocas malterías producen y comercializan cebada malteada con los requerimientos de calidad exigidos [1].

¿Cómo es la actividad amilolítica a temperatura ambiente de alfa y beta amilasas modificadas comparada con la actividad de alfa y beta amilasas microbianas nativas?

## OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad catalítica a temperatura ambiente de amilasas nativas de *Bacillus licheniformis* y *Bacillus cereus* modificadas genéticamente.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar los posibles sitios para mutagénesis que generen enzimas activas a temperatura ambiente de amilasas nativas a partir de modelaciones bioinformáticas y evolución dirigida.
2. Comparar la actividad amilolítica de las enzimas mutantes con las enzimas de los organismos silvestres por medio de pruebas bioquímicas.

## METODOLOGÍA

### Etapa 1: Análisis bioinformático

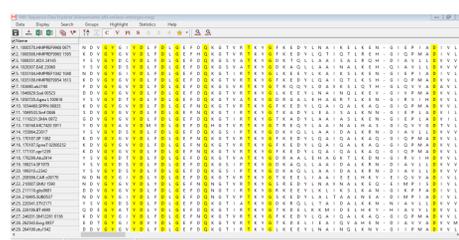
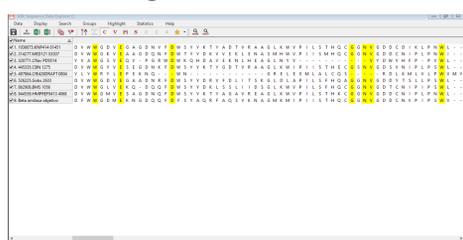


### Etapa 2: Producción y ensayo enzimático



## RESULTADOS PRELIMINARES

1. Se realizó la búsqueda de organismos ortólogos para cada una de las secuencias proteicas:
  - $\beta$ -amilasa de *Bacillus cereus*: 8 proteínas en 8 especies de ortólogos.
  - $\alpha$ -amilasa de *Bacillus licheniformis*: 250 proteínas en 230 especies de ortólogos.
2. Construcción de alineamientos que permitieron identificar regiones no conservadas como posibles sitios para mutagénesis.



## CONCLUSIÓN PARCIAL

El análisis de la información suministrada por los alineamientos, permitió elaborar una lista de aminoácidos que pueden ser reemplazados en las posiciones específicas de las regiones no conservadas entre especies bacterianas, facilitando la clasificación de la información necesaria para la inducción de mutagénesis dirigida.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Espitia-Rocha, C., Gutiérrez-Rojas, I., & Espitia-Rivera, H. (2009). Producción de etanol a partir de cebada no malteada hidrolizada con  $\alpha$  y  $\beta$  amilasas comerciales. *Universitas Scientarium*, 14:164-172.
- [2] Gillam, E., Copp, J.N., & Ackerley, D.F. (2014). Probabilistic methods in directed evolution: library size, mutation rate, and diversity. Directed evolution library creation. 2da ed. New York. Humana Press; p. 261-278.
- [3] Arriola, A., & La Spina, B. (2017). Producción de malta cervecera: estudio de prefactibilidad. Tesis de pregrado. Argentina. Universidad Nacional de Cuyo. Disponible en: <https://cutt.ly/rvHG6JC>.
- [4] Becerra, M.A. (2019). Análisis de los recursos energéticos en el proceso de producción en una cervecería local. Tesis de especialización. Bogotá. Universidad Distrital Francisco José de Caldas.
- [5] Khajeh, K., Naderi-Manesh, H., Ranjbar, B., & Moosavi-Movahedi, A. (2001). Chemical modification of lysine residues in *Bacillus*  $\alpha$ -amylases: effect on activity and stability. *Enzyme and Microbial Technology*. 28:543-549.

