

Explorando nuevas termozimas de aguas termales utilizando técnicas de microfluídica

O. López-López

Universidade de Vigo, Ourense, Spain

A. Torrado

Universidade de Vigo, Ourense, Spain

M.L. Rúa

Universidade de Vigo, Ourense, Spain

Keywords: metagenómica, enzimas termófilas, microfluídica.

Introducción

Las aguas termales son el hábitat natural de los microorganismos termófilos, cuyas robustas enzimas, adaptadas a trabajar a altas temperaturas, pueden ser de gran interés para numerosas aplicaciones biotecnológicas e industriales. La forma tradicional de estudiar estas enzimas ha sido mediante el cultivo de los microorganismos que las producen, pero la inmensa mayoría (en torno al 99%) de estos microorganismos no son cultivables.

La solución vino de la mano de la Metagenómica con la elaboración de metagenotecas mediante la purificación y clonación del conjunto de genomas de los microorganismos presente en una muestra ambiental, evitando así el cultivo de los microorganismos.

En la metagenómica funcional se emplean metagenotecas de expresión que pueden ser analizadas para buscar una determinada actividad enzimática con sustratos fluorogénicos o cromogénicos. La frecuencia de clones positivos, que contienen un fragmento de ADN que codifica para una enzima de interés y que se expresa correctamente, suele ser muy baja, por lo que se necesita un método de búsqueda que permita analizar un gran número de clones.

En nuestro laboratorio hemos implantado un equipo de microfluídica con el que somos capaces de realizar microemulsiones monodispersas de microgotas con un volumen del rango de picolitros (ver figura 1) Podemos, por ejemplo, encapsular células junto con un agente de lisis, un sustrato fluorogénico y cada microgota actuaría a modo de microrreactor, disminuyendo el volumen de cada reacción y simplificando el análisis de un gran número de clones. Las microgotas con positivo serían fluorescentes y se podrían separar mediante FACS.

Las microemulsiones son muy estables y se pueden incubar a altas temperaturas para así poder detectar

enzimas termófilas. Además, empleamos aceites y surfactantes fluorados compatibles con ensayos biológicos y que incluso permitirían el cultivo de las células dentro de las microgotas.

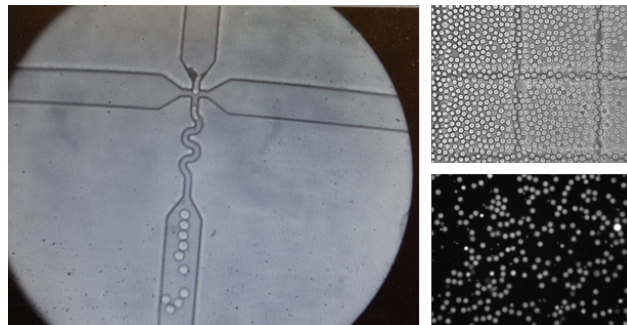


Figura 1: Formación de una microemulsión monodispersa e imágenes en microscopio (campo brillante y fluorescencia)

Conclusión

En nuestro laboratorio contamos con el equipamiento necesario para realizar microemulsiones que permitan la búsqueda de enzima termófilas en metagenotecas.