
Charla

Identificación de cepas bacterianas mediante el uso de microencapsulación



Mercedes Sánchez Infante(1,*), Aroa López Sánchez(2), Miguel Arévalo Rodríguez(1)

(1)Biomedal S.L., Centro Andaluz de Biología del Desarrollo (CABD), Universidad Pablo de Olavide (Sevilla)

(2)Departamento de Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica. Área de Microbiología, Centro Andaluz de Biología del Desarrollo (CABD), Universidad Pablo de Olavide (Sevilla)

Palabras clave: microencapsulación; PCR; inmunoensayo.

RESUMEN

Motivación: La microencapsulación, una técnica actualmente en desarrollo, puede facilitar y agilizar muchos de los procesos que se utilizan en investigación, abaratando costes y reduciendo el tiempo necesario para la realización de ciertos ensayos. Esto puede suponer un gran avance en el campo de la investigación clínica (1), así como para el desarrollo de la industria biotecnológica (2).

Métodos: Se ha utilizado el equipo Cellena (Ingeniatrics) para la microencapsulación de diferentes cepas bacterianas en cápsulas de alginato 1,5 % (p/v) que gelifican en CaCl₂ 3 % (p/v). Con estas microesferas pueden llevarse a cabo procesos como PCR de colonias (3) o inmunoensayos (4). La realización de PCR usando como molde colonias microencapsuladas, tiene como objetivo la amplificación de una secuencia de ADN para identificar aquellos clones que la presentan. Se utiliza SYBR-Green I para teñir el ADN bicatenario y poder observar los resultados mediante microscopía de fluorescencia. Esta tecnología constituye una forma rápida de localizar dentro de una genoteca una determinada secuencia o de comprobar que una cepa transformada mantiene el plásmido durante su cultivo. En el caso del inmunoensayo se pretende, al igual que en el caso anterior, diferenciar unas cepas de otras, pero en este caso en función de la producción de un péptido de interés. Se ha utilizado un anticuerpo con marcaje fluorescente para visualizar los resultados.

Resultados: Las muestras de microcápsulas que contenían colonias de la cepa transformada con la secuencia de interés, mostraron fluorescencia verde cuya localización coincidía con la superficie de la microesfera. En cambio, en el caso de la muestra de microcápsulas que contenían una cepa sin la secuencia de interés, sólo se apreció fluorescencia en la parte correspondiente al lugar donde se encuentra la colonia, pero no en el resto de la microesfera. En el caso del inmunoensayo, pudo observarse en la muestra de cápsulas con la cepa que expresa la proteína de interés, fluorescencia de color rojo cubriendo la superficie de la microesfera. En el resto de muestras que contenían otra cepa que no expresa dicha proteína, sólo pudo apreciarse un fondo negro.

Conclusiones: La microencapsulación es una técnica barata y fácil de realizar, que abre las puertas a una nueva forma de investigación, optimizando protocolos y haciendo posible la realización de nuevos ensayos.

BIBLIOGRAFIA

1. Xu X, Liu C, Liu Y, et al. Encapsulated human hepatocellular carcinoma cells by alginate gel beads as an in vitro metastasis model. *Exp Cell Res.* 2013;319(14):2135-2144.
2. Lee KH, Choi IS, Kim Y, Yang D, Bae H. Enhanced production of bioethanol and ultrastructural characteristics of reused *Saccharomyces cerevisiae* immobilized calcium alginate beads. *Bioresour Technol.* 2011;102(17):8191-8198.
3. Walser M, Pellaux R, Meyer A, et al. Novel method for high-throughput colony PCR screening in nanoliter-reactors. *Nucleic Acids Research.* 2009;37(8):e57-e57.
4. Alegria-Schaffer A, Lodge A, Vattem K. Chapter 33 performing and optimizing western blots with an emphasis on chemiluminescent detection. In: *Methods in enzymology.* Vol Volume 463. Academic Press:573-599. [http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879\(09\)63033-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(09)63033-0).

Las actividades descritas se han desarrollado en el marco del proyecto Bio-AndaluS, apoyado por el CDTI y por la Agencia IDEA y cofinanciado por el programa FEDER - INNTERCONECTA 2012