

# EXPRESION DE LA *Taq* POLIMERASA REGULADA POR EL PROMOTOR DE *Lac* MEDIANTE AUTOINDUCCION EN CULTIVOS DE *E. coli* DH5 $\alpha$ /pB9.

Francisco Jaime Rodriguez y Antonio De León Rodríguez.

Instituto Tecnológico de Celaya, Av. Tecnológico y Antonio García Cubas S/N, C.P. 38010 Celaya, Gto.

Tel: 01(4)6117575 ext 325. Fax: 01(4)6117979. E-mail: [aleonr@itc.mx](mailto:aleonr@itc.mx)

*Taq* polimerasa, galactosa, *E.coli* recombinante

**Introducción.** De los promotores utilizados en la construcción de cepas hiperproductoras, el promotor *Lac* es uno de las más utilizados, ya que permite la inducción externa mediante la adición de isopropil- $\beta$ -D-tio-galactósido (IPTG), que actúa como un homólogo de la alolactosa. Sin embargo, el IPTG es un compuesto muy costoso para ser utilizado en cultivos de gran escala. Se ha demostrado que la lactosa puede remplazar el uso de IPTG como inductor en ciertos cultivos (Neubauer y Hofmann, 1994), sin embargo, no funciona en cepas que no pueden introducir lactosa al interior de la célula. En este trabajo se demuestra que es posible la inducción de la *Taq* polimerasa regulada por el promotor *Lac* en una cepa de *E. coli* DH5 $\alpha$ /pB9, mediante el uso de galactosa como única fuente de carbono.

**Metodología.** Se realizaron cultivos a 37°C y 200 rpm utilizando un medio mineral y como fuente de carbono glucosa (m-A) y galactosa (m-C) a una concentración de 5 g/l en ambos casos. Como control positivo se utilizó medio de con glucosa e IPTG a 25  $\mu$ M (m-B). La biomasa se midió a 620 nm en un espectrofotómetro (Jenway). La presencia de la proteína se demostró con un gel de poliácridamida al 11%.

**Resultados y discusión.** En la figura 1 se muestran las cinéticas de crecimiento de los cultivos en diferentes condiciones. Se observa que los cultivos presentaron un comportamiento similar, tanto el cultivo m-A como el cultivo m-B muestran una absorbancia máxima de 1.7 a las 9 h, mientras que el cultivo m-C presentó una absorbancia de 1.5. La velocidad específica de crecimiento para los diferentes cultivos fue de 0.28 h<sup>-1</sup>.

En la figura 2 se muestra el patrón electroforético de proteínas de los diferentes cultivos realizados. Se observa la presencia de *Taq* polimerasa en los cultivos m-B y m-C (carriles 3 y 4, respectivamente) y que corresponden con la *Taq* polimerasa comercial (Gibco) de 92kDa (carril 5). También se puede observar que hay algunas diferencias en el patrón de proteínas en función de la fuente de carbono utilizada.

**Conclusiones.** Este trabajo de demuestra que es posible la inducción de la *Taq* polimerasa regulada por el promotor *Lac* en *E. coli* H5 $\alpha$ /pB9, utilizando galactosa como única fuente de carbono y sin afectar la cinética ni el rendimiento celular del proceso. Este trabajo puede ser de interés para el

desarrollo de bioprocesos con microorganismos recombinantes en gran escala a bajo costo.

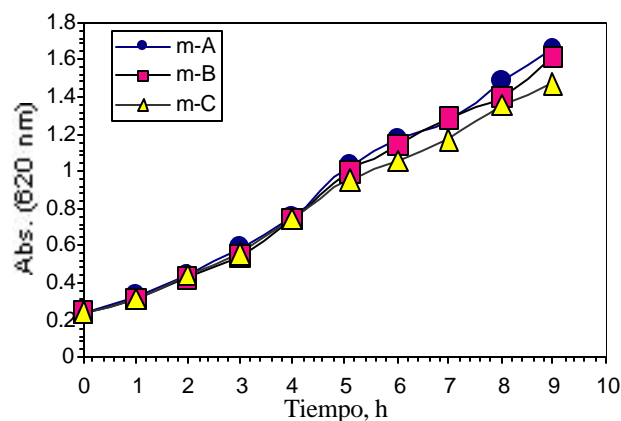


Fig. 1. Cinética de crecimiento y producción de penicilina acilasa de *E. coli* DH5 $\alpha$ /pB9 en diferentes medios de cultivo.

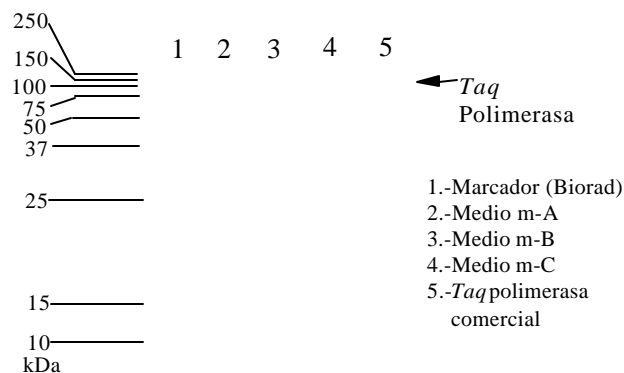


Fig 2. Patrón de proteínas de *E. coli* DH5 $\alpha$ /pB9 cultivada en diferentes medios de cultivo.

**Agradecimientos.** Al Financiamiento de CONACyT 32908-N y CONCYTEG 0009/076-3. La cepa fue donada por la Dra. B. Xoconostle.

## Bibliografía.

1.- Neubauer, P., and Hofmann K. "Efficient use of lactose for the *lac* promoter-controlled overexpression of the main antigenic protein of the foot and mouth disease virus in *E. coli* under fed-batch fermentation conditions". (1994). *FEMS Microbiol. Rev.* 14(1): 99-102.