

DISEÑO DE UN SISTEMA LIBRE DE CÉLULAS DE *Bacillus thuringiensis* PARA SÍNTESIS DE THURINCINA H.

María Fernanda Mendoza-Acosta, Luz Edith Casados-Vázquez, José Eleazar Barboza-Corona, Universidad de Guanajuato, Departamento de Posgrado en Biociencias, Irapuato 36500, mf.mendozaacosta@ugto.mx.

Palabras clave: Sistema libre de células, *Bacillus thuringiensis*, Síntesis de Thurincina H.

Introducción. Los sistemas libres de células (CFS) son reacciones que se han convertido en métodos clave para su utilización en biología sintética debido a su importancia en el diseño para manipulación de sistemas biológicos y principalmente por ser una plataforma potente para la producción de proteínas con altos rendimientos. En la actualidad se han reportado CFS a partir de extractos celulares de diferentes organismos, dentro de los cuales se encuentra diferentes tipos de *Bacillus*, que han demostrado potencial para producir proteínas con buenos rendimientos.

El objetivo de este trabajo es diseñar un sistema libre de células de *Bacillus thuringiensis* para producir proteínas de interés biotecnológico.

Metodología. Para la preparación de extractos celulares se realizó el monitoreo y toma de muestra correspondiente al ciclo de vida de *Bacillus thuringiensis* Cry-B, posteriormente se hizo una cuantificación de proteína por el método de Bradford (Kruger N. J., 1994) y se utilizaron como extracto celular para una reacción libre de células.



Fig. 1. Esquema de metodología utilizada para la obtención de extractos crudos de *Bacillus thuringiensis* y reacción libre de células para la producción de proteínas.

Resultados. Se monitoreó el crecimiento de *Bacillus thuringiensis* Cry-B a partir de la hora 3, 4, 9, 12, 15, 18, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108 y 120 horas correspondientes al ciclo de vida de la bacteria (Fig 2.), posteriormente se realizó una cuantificación de Bradford (Fig 3.) para estos extractos celulares con diferentes tiempos de sonicación y se utilizaron en un sistema libre de células para monitorear la producción de la proteína verde fluorescente GFP (Fig 4.)

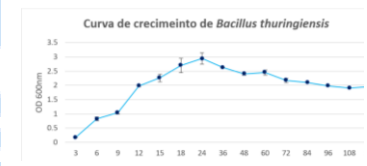


Fig. 2. Curva de crecimiento de *Bacillus thuringiensis* Cry-B monitoreada en un periodo de tiempo de 3 a 120 h leídas a OD 600nm.

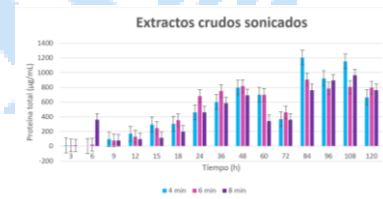


Fig. 3. Cuantificación por el método de Bradford de extractos crudos de 1mL sonicados por un período de tiempo de 4, 6 y 8 min.

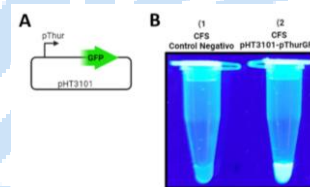


Fig. 4. A) Construcción genética pHT3101-pThurGFP; B) Reacción libre de células 1) Control negativo 2) pHT3101-pThurGFP.

Conclusiones. La proteína verde fluorescente GFP se sintetizó en un sistema libre de células de *Bacillus thuringiensis* utilizando el promotor nativo de Thurincina H.

Agradecimiento. A la Universidad de Guanajuato y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca de doctorado otorgada para la realización de este proyecto.

Bibliografía. Kruger N. J. (1994). The Bradford method for protein quantitation. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 32, 9–15. <https://doi.org/10.1385/0-89603-268-X:9>.