

## P9

## SÍNTESIS HETERÓLOGA DE QUIMOSINA BOVINA, EN *ESCHERICHIA COLI*, PARA SU USO EN ALIMENTACIÓN

P.G.Gonçalves<sup>1</sup>, Benevides C. Pessela<sup>1</sup>. M. Ladero<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Biotecnología y Microbiología Alimentos Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación CIA(CSIC/UAM) C/Nicolas Cabrera 9 sUniversidad Autonoma dea. Madrid 6, 28049 Madrid España

<sup>2</sup> Departamento Ingeniería Química Universidad Complutense de Madrid. España.

**Palabras clave:** enzima, quimosina bovina, proquimosina, actividad.

### Resumen

La obtención del desarrollo de un nuevo sistema de producción heteróloga de la quimosina bovina en *Escherichia coli*, consistió en la clonación del gen sintético optimizado en el uso de codones de la quimosina B bovina en el vector pBAD/HIS, bajo el control P<sub>BAD</sub> inducible por L-arabinosa. La sobreexpresión del gen, genera cuerpos de inclusión de proquimosina que son desnaturalizados mediante NaOH, para posterior replegar la quimosina mediante su dilución y ajuste de pH con glicina. Una vez plegada la proquimosina se activa mediante cambios de pH.

Las unidades de coagulación de la leche (IMCUS) de la quimosina recombinante que se ha obtenido en la fermentación una vez optimizada son de aproximadamente 1000/L de cultivo por unidad de DO<sub>600</sub>.

Para concentrar la quimosina recombinante obtenida, se eligieron dos estrategias: la primera usando el equipo Speed bac, que nos brinda un porcentaje de 99% de muestras sin actividad, la segunda se utilizó el liofilizador obteniendo una concentración superior a enzima antes de liofilizar de casi 3,4 veces.

**Agradecimientos:** Los autores: agradecen al Ministerio de Enseñanza Superior Ciencia Tecnología e Innovación de Angola y al Centro Nacional de Investigación Científica de Angola por la financiación recibida.

### Bibliografía:

- [1] R. González, R., Muñoz, J.L., García López (2004) REcombinant Bovine and Pepsinogen produced in Prokaryotic and Eucariotic Cells.
- [2] RE. Narclan, Y. Quiñones, J. Morales, J. Torrens y L. Herrera (1991) Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Apart. 6162, La Habana 6 Cuba.
- [3] RT. Swank, and KD. Munkbres (1971) Molecular Analysis of Oligopeptides by Electrophoresis Polyacrylamide Gel With Sodium Dodecyl Sulfate. Analytical Biochemistry, pp. 77-462.