

Tabla de contenido

| | |
|--|-----------|
| 1. Introducción | 1 |
| 1.1. Marco Teórico | 1 |
| 1.1.1. Biomasa Lignocelulósica | 1 |
| 1.1.2. Xilano | 2 |
| 1.1.3. Endo-1,4- β -xilanasa EC 3.2.1.8 | 4 |
| 1.1.4. Sistemas de producción nativos | 8 |
| 1.1.5. Sistemas de producción recombinante | 9 |
| 1.1.6. Sistemas de producción <i>in situ</i> | 12 |
| 1.1.7. Modelos Matemáticos | 13 |
| 1.2. Motivación | 15 |
| 1.3. Objetivos | 15 |
| 1.3.1. Objetivo General | 15 |
| 1.3.2. Objetivos Específicos | 15 |
| 2. Materiales y Metodología | 16 |
| 2.1. Materiales | 16 |
| 2.1.1. Reactivos | 16 |
| 2.1.2. Equipos | 17 |
| 2.1.3. Herramientas Computacionales | 17 |
| 2.1.4. Microorganismo | 17 |
| 2.1.5. Composición Medios de Cultivo | 18 |
| 2.2. Metodología | 19 |
| 2.2.1. Ensayo de Actividad | 19 |
| 2.2.2. Análisis Estadístico | 20 |
| 2.2.3. Medición de Concentración de Proteínas | 22 |
| 2.2.4. Cultivo de <i>Pichia pastoris</i> | 22 |
| 2.2.5. Medición de Peso Seco | 22 |
| 2.2.6. Filtración por columnas PD10 | 23 |
| 2.2.7. Análisis de Flujos Metabólicos (MFA) | 24 |
| 2.2.8. Modelamiento Matemático de <i>Pichia pastoris</i> | 25 |
| 3. Resultados y Discusión | 27 |
| 3.1. Evaluación de las condiciones de cultivo de <i>Pichia pastoris</i> sobre la actividad enzimática. | 27 |
| 3.1.1. Efecto de la concentración de metanol sobre la actividad enzimática | 27 |
| 3.1.2. Efecto del pH sobre la actividad enzimática | 29 |

| | | |
|-----------|--|------------|
| 3.1.3. | Efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática | 30 |
| 3.1.4. | Efecto del <i>buffer</i> sobre la actividad enzimática | 31 |
| 3.1.5. | Evaluación del efecto de los componentes del medio de inducción sobre la actividad enzimática | 33 |
| 3.2. | Evaluación del efecto de componentes del medio BMMY sobre el crecimiento de <i>P. pastoris</i> y la producción de xilanasa recombinante. | 35 |
| 3.2.1. | Efecto de los medios de cultivos sobre el crecimiento de <i>Pichia pastoris</i> | 36 |
| 3.2.2. | Efecto de la composición del medio de cultivo sobre la producción de xilanasa | 39 |
| 3.3. | Construcción de la reacción de producción de xilanasa. | 49 |
| 3.4. | Resultado del Modelo Matemático de <i>Pichia pastoris</i> | 56 |
| 4. | Conclusiones | 59 |
| | Bibliografía | 75 |
| | Anexos | 75 |
| A. | Secuencia GtXyn10A | 76 |
| A.1. | Secuencia Aminoacídica | 76 |
| A.2. | Secuencia Nucleotídica | 77 |
| B. | Preparación Materiales y Soluciones | 79 |
| B.1. | Preparación Buffers | 79 |
| B.2. | Preparación Soluciones Stock | 80 |
| B.3. | Preparación Medios de Cultivo | 80 |
| B.3.1. | Medio MM | 80 |
| B.3.2. | Medio BMGY | 81 |
| B.3.3. | Medio BMMY | 81 |
| C. | Curvas de Calibración | 82 |
| C.1. | Curva de Calibración de DNS | 82 |
| C.2. | Curva de Calibración de Bradford | 83 |
| D. | Imágenes complementarias | 84 |
| D.1. | Cultivo y Crecimiento de <i>Pichia pastoris</i> | 84 |
| D.2. | Medición Peso Seco | 86 |
| D.3. | Filtración Columnas PD10 | 88 |
| E. | Aminoácidos Recomendados y Aportados | 89 |
| F. | Gráficos complementarios | 90 |
| F.1. | Crecimiento de <i>P. pastoris</i> | 90 |
| F.2. | Producción de Enzima Recombinante | 96 |
| F.3. | Relaciones | 103 |
| F.4. | Proporciones | 110 |
| G. | Modelo Matemático | 117 |

| | |
|---------------------------------------|-----|
| G.1. Metabolitos | 117 |
| G.2. Reacciones | 118 |
| G.3. Matriz Estequiométrica | 120 |
| G.4. Código | 124 |