

Tabla de contenido

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.2. Objetivo General	2
1.3. Objetivos Específicos.....	2
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Flavoproteínas monooxigenasas (FPMOs) de clase B.....	3
2.2 Expresión heteróloga de FPMOs de clase B	6
2.3 <i>Tm</i> CHMO, una FPMOs de clase B y subclase BVMO; B1	9
2.4 Microorganismos del desierto de Atacama	10
3. METODOLOGÍA	11
3.1 Resumen gráfico de metodología analítica y experimental	11
3.2 Metodología analítica	12
3.3 Metodología experimental	15
3.3.1 Búsqueda bioinformática de FPMOs putativos.....	15
3.3.2 Clonación de FPMOs putativas.....	15
3.3.3 Expresión de <i>Tm</i> CHMO y de FPMOs putativas	16
3.3.4 Purificación de <i>Tm</i> CHMO y de FPMOs putativas.....	17
3.3.5 Evaluación actividad para la enzima <i>Tm</i> CHMO purificada y en el extracto clarificado.....	17
3.3.6 Producción de <i>Tm</i> CHMO en biorreactor a escala laboratorio en <i>Escherichia coli</i> TOP10-pBad-His-Tag-SUMO- <i>Tm</i> CHMO.....	18
3.4 Análisis estadístico	19
4. RESULTADOS.....	20
4.1 Producción de <i>Tm</i> CHMO a escala Biorreactor en <i>Escherichia coli</i> TOP10-pBAD-His-Tag-SUMO- <i>Tm</i> CHMO.....	20
4.2 Evaluación actividad de oxidación de Clomifeno, Tamoxifeno y Dasatinib para la enzima <i>Tm</i> CHMO.	21
4.3 Búsqueda bioinformática de FPMOs putativas.....	22
4.4 Clonación, Expresión y Purificación de FPMOs putativas	26
5. DISCUSIÓN.....	30
6. CONCLUSIONES.....	34
7. RECOMENDACIONES	35
8. BIBLIOGRAFÍA	36

9. ANEXOS	43
Anexo A: Sobre clonación de FPMOs putativas	43
Anexo B: Curvas de calibrado	45
Anexo C: SDS-PAGE sobre condiciones de expresión de MO1 y MO4 putativas	49
Anexo D: ejemplo de cálculo para actividad enzimática.	52