Optimización de la energía de lisis en extractos *cell-free* de *E. coli* para la expresión de proteínas bajo control de σ^{70} y T7 RNA polimerasa

Resumen

El sistema de transcripción y traducción libres de células (*cell-free system*, CFS, por sus siglas en inglés) es un sistema versátil para la síntesis de proteínas y el desarrollo de biosensores. La calidad del extracto celular de *E. coli* es un factor determinante en la eficiencia del CFS; la forma y la intensidad de lisis influyen directamente en su rendimiento.

En este trabajo se compararon dos métodos de lisis celular: por beads y por sonicación. En el primer método se evaluaron distintos tiempos y, en el segundo, la cantidad de energía aplicada. Los extractos se prepararon a partir de *E. coli* BL21, para evaluar la actividad de la polimerasa σ^{70}, y de BL21(DE3), para evaluar la actividad de la polimerasa T7. Se cuantificó la cantidad de proteína total mediante el método de Bradford. La actividad del extracto se determinó mediante la expresión de la *superfolder* GFP.

Se logró establecer una relación entre la energía de sonicación, el tiempo de lisis por beads y la actividad de expresión, identificando condiciones que maximizan el rendimiento del sistema. Estos resultados permitirán optimizar protocolos de preparación de extractos de bajo costo con potencial aplicación en biosensores basados en CFS.