



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Caracterización de la fosfoenolpiruvato carboxilasa
(PEPC) de *Lupinus albus***

Por

Luis Arriagada Gaete

Concepción, 2017

I. Resumen

La síntesis de ácidos orgánicos en raíces proteoideas de *Lupinus albus* *L* en respuesta a un déficit de Pi, involucra el aumento en la actividad de algunas enzimas, en especial la fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC) que cataliza la carboxilación del fosfoenolpiruvato (PEP) en oxalacetato y Pi. En esta especie se han descrito tres isogenes (*LaPEPC2*, *LaPEPC3* y *LaPEPC4*) que codifican para tres isoformas de las que no se tiene información acerca sus parámetros cinéticos. Como estas isoformas son expresadas bajo déficit de Pi, al igual que los canales de fósforo de alta afinidad, es posible que las tres isoformas posean una alta afinidad por el sustrato. Especialmente la isoforma PEPC3 tendría mayor afinidad, ya que solo se expresa bajo déficit extremo de Pi. Por esto, se planteó como objetivo de esta tesis determinar y comparar los parámetros cinéticos de las isoformas recombinantes de PEPC expresadas en *E.coli*, como también caracterizar una isoforma de PEPC nativa. Los resultados muestran que *LaPEPC2* nativa de *L. albus*, posee una K_m de 0,19mM para PEP, un valor menor si la comparamos con isoformasde PEPC descritas para otras especies. Con respecto a las isoformas recombinantes de PEPC no fue posible obtener información sobre los parámetros cinéticos ya que la expresión en *Escherichia coli* conllevó a la formación de cuerpos de inclusión. Pese a probar distintas condiciones de expresión que incluyeron variar los tiempos de expresión, la temperatura, la concentración del agente inductor y la cepa de *E. coli*, no se consiguió PEPC recombinante soluble lo que se verificó mediante Wester Blot. Esto hace necesario la búsqueda de otro modelo de expresión para estas isoformas, de manera de obtener PEPC soluble y activa para obtener información acerca de sus parámetros cinéticos.