



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Escuela Profesional de Ciencias Biológicas

**Ingeniería del complejo de elongación ternario de la
ARN polimerasa de *Mycobacterium tuberculosis***

TESIS

Para optar el Título Profesional de Biólogo con mención en
Microbiología y Parasitología

AUTOR

Omar Carlos HERRERA ASMAT

ASESOR

Dra. Susana Mónica GUTIÉRREZ MORENO

Lima, Perú

2016

Referencia bibliográfica

Herrera, O. (2016). *Ingeniería del complejo de elongación ternario de la ARN polimerasa de Mycobacterium tuberculosis*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Ciencias Biológicas]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ACTA DE SESIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO CON MENCIÓN EN MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA
(MODALIDAD: SUSTENTACIÓN DE TESIS)

134.

Siendo las 12:10 horas del 09 de agosto de 2016, en el Salón de Grados de la Facultad de Ciencias Biológicas y en presencia del jurado formado por los profesores que suscriben, se dio inicio a la sesión para optar al Título Profesional de Biólogo con mención en **Microbiología y Parasitología** de **OMAR CARLOS HERRERA ASMAT**.

Luego de dar lectura y conformidad al expediente N° **020-EAPCB-2016**, el titulado expuso su tesis: **"INGENIERÍA DEL COMPLEJO DE ELONGACIÓN TERNARIO DE LA ARN POLIMERASA DE *Mycobacterium tuberculosis*"**, y el Jurado efectuó las preguntas del caso, calificando la exposición con la nota 20, calificativo: SOBRESALIENTE... CON MENCIÓN. Finalmente, el expediente será enviado a la Escuela Académico Profesional de Ciencias Biológicas y al Consejo de Facultad para que se apruebe otorgar el Título Profesional de Biólogo con mención en **Microbiología y Parasitología** a **OMAR CARLOS HERRERA ASMAT** y se eleve lo actuado al Rectorado para conferir el respectivo título, conforme a ley.

Siendo las 13:40 horas se levantó la sesión.

Ciudad Universitaria, 09 de agosto de 2016.

Dr. ARMANDO YARLEQUE CHOCAS
(PRESIDENTE)

Dra. SUSANA GUTIÉRREZ MORENO
(ASESORA)

Mg. RUTH GARCIA DE LA GUARDA
(MIEMBRO)

Mg. FERNANDO MERINO RAFAEL
(MIEMBRO)

RESUMEN

La formación del Complejo ternario de elongación de la ARN polimerasa recombinante de *Mycobacterium tuberculosis* (ARNp de *Mtb*) fue establecido por medio de la correcta expresión, purificación y ensamblado del complejo. Primeramente, la expresión y purificación fue evaluada considerando dos estrategias: la reconstitución “in vitro” y la coexpresión “in vivo” en *E. coli*. La comparación de estos dos métodos fue hecha por medio de una burbuja nativa de transcripción (elongación) la cual tiene un ARN marcado con fluoresceína. Se encontró que la coexpresión produce una ARNp de *Mtb* más activa y pura por medio de una purificación rápida y eficiente. Fue también encontrado que esta enzima es capaz de escapar y de reiniciar a partir del estado estancado eficientemente. Finalmente, a nivel de iniciación sus complejos son estabilizados por el factor CarD. Así, estos logros permitirán estudiar a la ARNp de *Mtb* como un posible blanco molecular de drogas y revelará los mecanismos de adaptación del microorganismo durante la infección en la tuberculosis.

Palabras claves: ARN polimerasa, *Mycobacterium tuberculosis*, Complejo Ternario de Elongación, Reconstitución in vitro, Coexpresión, Burbuja de Transcripción Nativa

ABSTRACT

The formation of the ternary elongation complex (TEC) of the recombinant RNA polymerase of *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb* RNAP) was established by making a correct expression, purification and assembling of this complex. Firstly, the expression and purification was assayed by considering two strategies: the “*in vitro*” reconstitution and the “*in vivo*” co-expression in *E. coli*. The comparison of these methods was done at the level of elongation activity with a transcriptional native bubble having a fluorescein-labeled RNA. In this manner, the co-expression yielded a more active and pure ARN polymerase done with a faster and effective purification method. It was also showed that the enzyme was able to escape from the stalled complex and resume the transcription efficiently. Finally, at level of initiation, its complexes can be stabilized with the CarD treatment. These achievements could permit the study of the *Mtb* RNAP as molecular drug target and disclose the adaptation mechanism of the microorganism during the infection of tuberculosis.

Keywords: ARN polymerase, *Mycobacterium tuberculosis*, Ternary Elongation Complex, *In vitro Reconstitution*, Co-expression, Transcriptional Native Bubble.