

ANTICUERPO scFv 6009F DE ORIGEN HUMANO EXPRESADO EN *Pichia pastoris*

Mónica Amezcua Castillo¹, Nalleli García Belauzaran¹, Elba Cristina Villegas Villarreal²

¹Estudiante de Maestría en Biotecnología del Centro de Investigación en Biotecnología¹,

²Laboratorio¹ de Estructura-Función e Ingeniería de Proteínas, Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos, México. C.P. 62209. elbav@uaem.mx

Palabras clave: Antiveneno, *Centruroides noxius*, *Pichia pastoris*

Introducción.

Los fragmentos de cadena sencilla (scFv) están formados por las regiones variables de la cadena pesada (V_H) y ligera (V_L) de las inmunoglobulinas, unidos mediante un linker formado de glicinas y serina ((G₄S)₃); al ser uno de los anticuerpos con menor tamaño (~30 kDa) presentan características importantes como tener una mejor penetración en el tejido, una eliminación rápida e inmunogenicidad reducida (1). Algunos de estos anticuerpos han demostrado tener la capacidad de neutralización contra ciertas toxinas; tal es el caso del scFv 6009F que se obtuvo a partir de sangre periférica humana y es capaz de reconocer y neutralizar la toxina Cn2 presente en el veneno de *Centruroides noxius* (2,3). Este Proyecto tiene como objetivo expresar el anticuerpo scFv 6009F de forma activa en las cepas X-33 y GS115 de *Pichia pastoris* utilizando el plásmido de expresión pPICZA α .

Metodología.

Se realizó la construcción del plásmido pPICZA α /6009F, el cual fue transformado en las cepas X-33 y GS115 mediante proceso de electroporación una vez obtenidas las clonas se procedió a la expresión, la cepa GS115 se expresó en matraz de 250ml con un cultivo de 20 ml BMMY, a 200 rpm induciendo con metanol al 0.5% cada 12 horas; la cepa X-33 se expresó en reactor de 1l con un volumen de cultivo de 500 ml BMMY induciendo con metanol al 1% cada 12 horas; ambas expresiones se realizaron a una temperatura de 28°C, se corrieron las muestras en geles SDS-PAGE.

Resultados

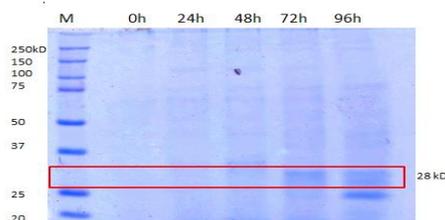


Fig. 1. Gel SDS-PAGE de la expresión de la cepa X-33 en reactor.

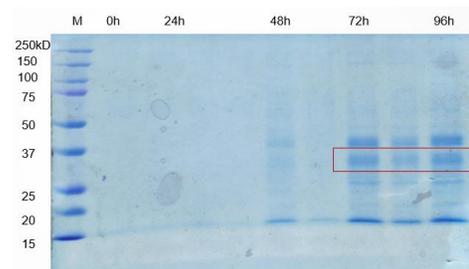


Fig 2. Gel SDS-PAGE de la expresión de la cepa GS115 en matraz.

Conclusiones.

Se logró expresar el fragmento 6009F con ambas cepas produciendo la proteína de manera extracelular. En los geles se observa la banda correspondiente a la proteína con un peso de 28 kDa en ambas cepas expresándose a las 72 y 96h.

Agradecimientos. A CONACYT por la beca otorgada para la realización de este proyecto.

Al Centro de Investigación en Biotecnología CEIB.

Al Laboratorio de Estructura-Función e Ingeniería de Proteínas y tutora de este proyecto Dra. Elba C. Villegas Villarreal por su apoyo.

Bibliografía.

- Ahmad, Z. A., Yeap, S. K., Ali, A. M., Ho, W. Y., Alitheen, N. B. M., & Hamid, M. (2012). scFv antibody: principles and clinical application. *Clinical and developmental immunology*, 2012.
- Riaño-Umbarila, L., Contreras-Ferrat, G., Olamendi-Portugal, T., Morelos-Juárez, C., Corzo, G., Possani, L. D., & Becerril, B. (2011). Exploiting cross-reactivity to neutralize two different scorpion venoms with one single chain antibody fragment. *Journal of Biological Chemistry*, 286(8), 6143-6151.
- Laustsen, A. H., Gutiérrez, J. M., Knudsen, C., Johansen, K. H., Bermúdez-Méndez, E., Cerni, F. A., ... & Pus, U. (2018). Pros and cons of different therapeutic antibody formats for recombinant antivenom development. *Toxicon*, 146, 151-175.