



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## GENERACIÓN DE UN ANTICUERPO MONOCLONAL CONTRA LA ENZIMA GLUCOLÍTICA $\alpha$ -ENOLASA HUMANA

Elibeth Mirasol Meléndez<sup>1</sup>, Yolanda Medina Flores<sup>2</sup>, Araceli Zavala Carballo<sup>2</sup>, Juan Carlos Carpio Pedroza<sup>2</sup>, Absalom Zamorano Carrillo<sup>1</sup> y Claudia Guadalupe Benítez Cardoza<sup>1</sup>.

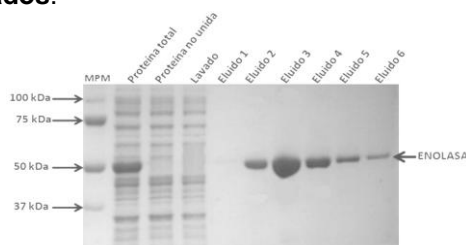
<sup>1</sup>Laboratorio de Investigación Bioquímica, Posgrado en Biomedicina Molecular, ENMyH-Instituto Politécnico Nacional, Guillermo Massieu Helguera No. 239 Fraccionamiento La Escalera-Ticomán. C.P.07320 México D.F. <sup>2</sup>Laboratorio de Anticuerpos Monoclonales, Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica, Prolongación de Carpio 470, Col. Santo Tomás, C.P. 11340, México D.F. E-mail: [emirasolm0800@ipn.mx](mailto:emirasolm0800@ipn.mx)

*Palabras clave:* anticuerpo, enolasa, glucólisis.

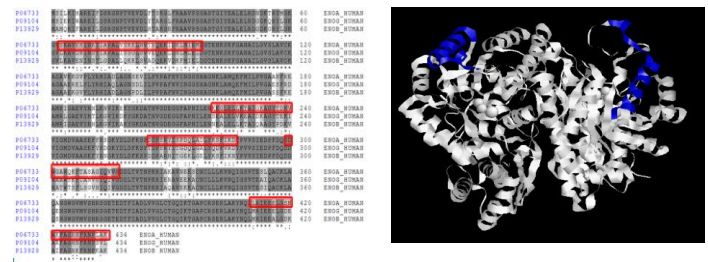
**Introducción.** La enolasa es una enzima clave en la vía glucolítica ya que cataliza la reacción reversible de deshidratación del 2-D-fosfoglicerato a fosfoenolpiruvato. Todos los mamíferos tienen tres isoformas de esta enzima:  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ -enolasa. La  $\alpha$ -enolasa a diferencia de sus isoformas se encuentra en una variedad de tejidos y es una proteína considerada como multifuncional debido a que además de participar en la vía glucolítica también se ha relacionado con otras funciones tanto en el humano como en otros organismos. Así mismo, se han reportado cambios en los niveles de expresión de esta enzima los cuales han sido asociados con diversas enfermedades como el cáncer, considerando a esta enzima como un posible marcador tumoral. Identificar específicamente la presencia de la  $\alpha$ -enolasa en diversos tejidos utilizando como herramienta a los Anticuerpos Monoclonales, podría facilitar el diagnóstico de las enfermedades en las que se ha asociado.

**Metodología.** Se realizaron análisis *in silico* de la secuencia lineal y estructura tridimensional de la  $\alpha$ -enolasa humana para diseñar péptidos inmunogénicos y no conservados de la  $\alpha$ -enolasa humana los cuales fueron mandados a sintetizar. Por otro lado se sobreexpresó y purificó a la  $\alpha$ -enolasa humana *in vitro* y se utilizó como antígeno para generar el Anticuerpo Monoclonal anti- $\alpha$ -enolasa humana inmunizando a un lote de cinco ratones hembra de la cepa Balb/c con una concentración de antígeno igual a 15  $\mu$ g/mL por ratón. La selección clonal fue realizada utilizando los péptidos diseñados y sintetizados anteriormente mencionados.

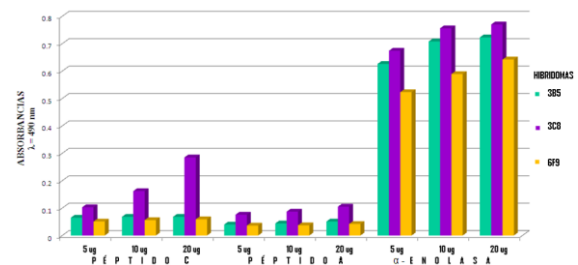
### Resultados.



**Fig. 1.** Análisis mediante SDS-PAGE de las fracciones obtenidas del proceso de purificación de la  $\alpha$ -enolasa humana mediante cromatografía de afinidad Ni-sefarosa.



**Fig. 2.** Análisis *in silico* de la secuencia lineal y estructura tridimensional de la  $\alpha$ -enolasa humana para diseñar péptidos inmunogénicos y menos conservados de la  $\alpha$ -enolasa humana con respecto a sus isoformas.



**Fig. 3.** Absorbancias obtenidas de la evaluación de hibridomas mediante la técnica de ELISA indirecta a una longitud de onda de 490 nm contra el reconocimiento de  $\alpha$ -enolasa humana y los dos péptidos sintetizados a distintas concentraciones.

**Conclusiones.** Se logró sobreexpresar y purificar a la proteína  $\alpha$ -enolasa humana *in vitro* con un rendimiento de 17.93mg/L de cultivo. Por otro lado se identificaron las secuencias más específicas e inmunogénicas de la  $\alpha$ -enolasa humana y con esto fue posible identificar al hibridoma y la clona celular que reconoce a la  $\alpha$ -enolasa humana de forma específica.

**Agradecimientos.** A CONACyT y PIFI por las becas otorgadas para el desarrollo de mi tesis de maestría.

### Bibliografía.

1. Pancholi V. (2001). *Cell. Mol. Life Sci.*, 58 902.
2. Petrak Jirík, et al. (2008), *Proteomics*, 8, 1744-1749
3. Rodríguez H. (2010). *J. Biol. Chem.* 287,20964-20974
4. Gavilondo J. (1990). Hibridomas por fusión celular, *Anticuerpos monoclonales*. Gavilondo J. Elfos. Cuba. p.p. 39-49.