



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



EFECTO DE LA GEOMETRÍA DEL MATRAZ EN LA MORFOLOGÍA Y PRODUCCIÓN DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES EN *Streptomyces lividans*

Gamboa-Suasnavart RA, Marin-Palacio LD, Servín-González L, Espitia C, Trujillo-Roldán MA.
Instituto de Investigaciones Biomédicas, Unidad de Bioprocesos, México D. F., 04510.
maurotru@biomedicas.unam.mx ramsesgamboa@gmail.com

Oxígeno disuelto, APA 45/47 kDa, morfología agregación.

Introducción. *Streptomyces lividans* es una bacteria filamentosa del género de las Actinobacterias, ampliamente reportada para la producción de proteínas heterólogas [1,2]. *S. lividans* en cultivos sumergidos presenta una morfología que va desde micelio disperso hasta pellets [3]. Se ha reportado que estas diferencias morfológicas afectan la producción de proteínas recombinantes [3]. Sin embargo, no se conoce como las variaciones en la hidrodinámica presente en el matraz afectan la morfología y consecuentemente la productividad. La glicoproteína APA de 45/47 kDa ha sido reportada con alto nivel inmunogénico asociado a su patrón de glicosilación [4,5], y es una alternativa para la producción de una nueva vacuna contra tuberculosis y kits de diagnóstico. En este trabajo se evaluaron los cambios morfológicos inducidos por la geometría del matraz: Matraces Erlenmeyer convencional (MC), bafleado (MB) y con resorte de acero inoxidable (MR). Así mismo, se determinó como estas diferencias morfológicas afectan la producción de la proteína APA.

Metodología. La cepa silvestre de *S.lividans* 1326, fue transformada con el plásmido pIJ6021, que contiene el gen de la proteína APA. Los cultivos se llevaron a cabo en 3 matraces (por triplicado): MR, MB y MC. Se tomaron muestras del cultivo para cinética de crecimiento (peso seco), producción de proteína (SDS-PAGE y Western Blot) y morfología de agregación (microscopia y análisis de imágenes). La potencia volumétrica (P/V) presentes en matraces de diferente configuración (convencionales y bafleados), se determinaron a partir de la ecuaciones propuestas por Büchs *et al* [6] y Peter *et al* [7]. Para el caso de matraz con resorte, la P/V se determinó, extrapolando los resultados de las otras dos configuraciones y el diámetro del pellet obtenido en los tres sistemas.

Resultados. Se observaron diferencias en cuanto al tamaño del agregado en todos los matraces, siendo agregados celulares más pequeños los presentes en los MR ($0.020 \pm 0.014 \text{ mm}^2$) y los más grandes en MC ($2.11 \pm 1.2 \text{ mm}^2$). Estas diferencias se vieron reflejadas en la producción específica de la proteína APA donde se obtuvo 0.03 mg/mL, 0.02 mg/mL y 0.003 mg/mL para MR, MB y MC respectivamente. No se observaron diferencias significativas en la biomasa final para las tres diferentes geometrías de matraz. Sin embargo la velocidad específica de crecimiento si se vio modificada, quizá esto pueda deberse a problemas difusionales en los ag

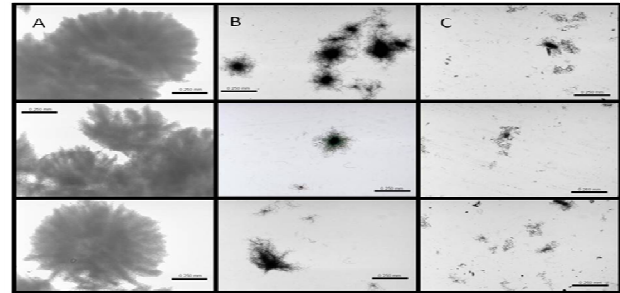


Fig. 1. Agregados formados por *S. lividans* a las 72 horas de cultivo (40X) en A) Matraz Convencional, B) Matraz Bafleado C) Matraz con Resorte. La barra de referencia equivale a 0.250mm.

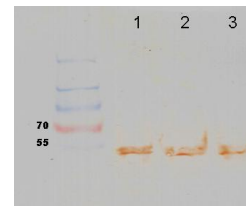


Fig.2. Western Blot de la producción de la proteína APA, en cada geometría de matraz. (1) Matraz con resorte (2) Matraz Bafleado y (3) Matraz convencional

Tabla 1. Parámetros cinéticos y P/V de los cultivos en matraces con diferente geometría.

	Velocidad de crecimiento (h^{-1})	Biomasa (g/L)	Prot Total (mg/mL)	% APA (mg/mL)	Rendimiento $Y_{P/X}$ (mgAPA/gX)	P/V (W/L)
MR	0.16	3.7 ± 0.15	0.30 ± 0.01	12 (0.036)	0.0104	2.64
MB	0.14	3.5 ± 0.17	0.29 ± 0.04	9 (0.026)	0.0075	2.54
MC	0.09	3.2 ± 0.20	0.13 ± 0.03	2.8 (0.003)	0.0011	0.22

Conclusiones. La geometría de matraz, que se puede asociar a P/V tiene efecto en la morfología de agregación, resultando agregados más pequeños en matraces con mayor P/V. Las diferencias en morfología de agregación se reflejan en la productividad de APA, siendo mayores para agregados más pequeños.

Agradecimiento. DGAPA-UNAM: IN28509-3 y CONACYT: 103393-82533 Universidad EAFIT-Colombia

Bibliografía.

- 1 MacLeod *et al.* *Gene* 1992 121:143-147.
- 2 Chanteau *et al.* *Int J Tuberc Lung Dis* 2000 Apr;4:377-83
- 3 Pamboukian *et al.* *Brazilian J Microbiol*, 2002 33:17-21.
- 4 Lara M *et al.* *App Environ Microbiol* 2004 70:679-685
- 5 Horn C *et al.* *J Immunol Methods* 1996 Oct 16;197:151-9
6. Büchs. J *et al.* *Biotechnology and Bioengineering* 2000. 68 (6). 594-601

pdfMachine

Is a pdf writer that produces quality PDF files with ease!

Produce quality PDF files in seconds and preserve the integrity of your original documents. Compatible across nearly all Windows platforms, if you can print from a windows application you can use pdfMachine.

Get yours now!