



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## EFFECTO DEL OXÍGENO DISUELT O EN LA PRODUCCIÓN DE LA PROTEÍNA RECOMBINANTE APA 45/47 KDA DE *Mycobacterium tuberculosis* en *Streptomyces lividans*

Gamboa-Suasnavart RA, Marin-Palacio LD, Servín-González L, Espitia C, Trujillo-Roldán MA.  
Instituto de Investigaciones Biomédicas. Departamento de Inmunología, Unidad de Bioprocesos. México D.F. CP 04360. ramses.gamboa@gmail.com, maurotru@biomedicas.unam.mx

*Palabras clave:* Tensión de oxígeno disuelto, *Streptomyces lividans*, APA 45/47 kDa

**Introducción.** La glicoproteína APA de 45/47 kDa ha sido reportada con alto nivel inmunogénico asociado a su patrón de glicosilación [1] y es una alternativa para la producción de una nueva vacuna contra tuberculosis y kits de diagnóstico [2] Para poder continuar con el desarrollo de estas alternativas, es necesario producir esta proteína a mayor escala y entender como afectan las condiciones ambientales a su producción de manera recombinante. *Streptomyces lividans* es una bacteria filamentososa del genero de las Actinobacterias, ampliamente reportada para la producción de proteínas [3,4] y por su relación filogenético con *M. tuberculosis* se eligió como hospedero para la producción de APA. En el presente trabajo se evaluó el efecto de la tensión de oxígeno disuelto (TOD) en la producción de esta proteína.

**Metodología.** *S.lividans* 1326 wild type, fue transformada con el plásmido pIJ6021, que contiene el gen de la proteína APA. Se realizaron cultivos a TOD constante, 0.5%, 10%, 25% y 40% con pH constante 7.0, 300 rpm a 30°C. Se determino biomasa por peso seco, proteína por Bradford y Western Blot y morfología de agregación por análisis de imágenes. Se realizó espectrometría de masas para determinar el peso molecular de la proteína.

**Resultados.** Se determinó el tamaño de los agregados formados en los cultivos, para descartar que los cambios en producción fueran debidos a problemas difusionales. No existe diferencia significativa entre los tamaños de agregados de los cultivos estudiados. La velocidad de crecimiento se vio disminuida solo en los cultivos a 0.5% TOD (tabla 1). Tampoco se observó diferencia en la biomasa total producida en cada cultivo, por lo que los cambios en productividad pueden ser atribuibles a la variación en TOD

La mayor producción de proteína total y recombinante se dio a 10% de TOD, y las menores a 0.5% donde la proteína no pudo ser detectada por electroforesis.

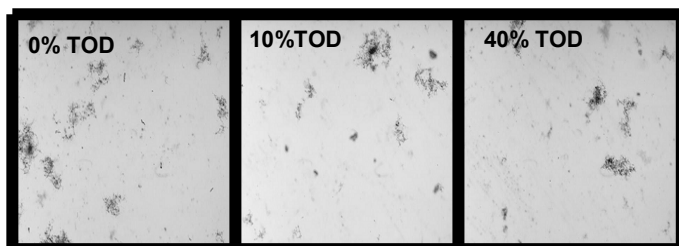


Fig.

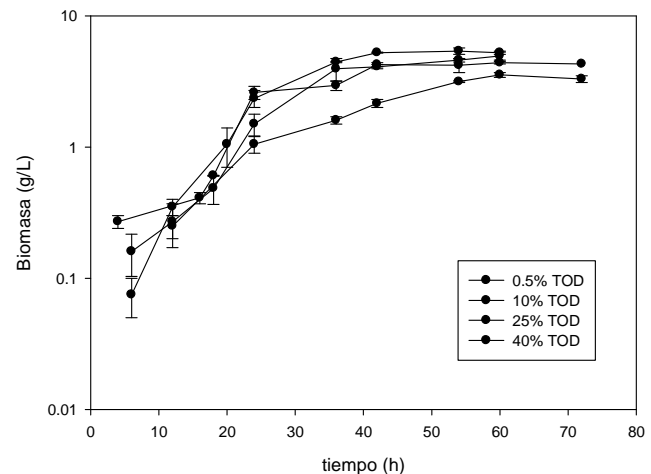


Fig. 2 Cinética de crecimiento de los cultivos a diferente TOD

Tabla 1. Parámetros cinéticos de los cultivos a diferente TOD

TOD (%)	Velocidad de crecimiento (h <sup>-1</sup> )	Biomasa (g/L)	Proteína total (mg/mL)	%APA (mg/mL)	Rendimiento Y P/X (mgAPA/gX)
0.5	0.03	3.1	0.095	no detectado	no detectado
10	0.087	4.95 ± 0.35	0.323	10% (0.0323)	.0007
25	0.066	4.3 ± 0.24	0.121	8% (0.096)	0.002
40	0.064	5.25 ± 0.15	0.154	8% (0.0154)	0.003

### Conclusiones.

La morfología de agregación no se modifica por la TOD. La biomasa final no se ve afectada y la velocidad de crecimiento solo disminuye en los cultivos a 0.5%TOD. La condición de TOD que favorece la producción de la proteína recombinante es 10% TOD.

**Agradecimiento:** DGAPA-UNAM: IN28509-3,CONACYT: 103393-82533

### Bibliografía.

- Horn C et al. *J Immunol Methods* 1996 Oct 16;197:151-9
- Lara M et al. *App Environ Microbiol* 2004 70:679-685
- MacLeod et al. *Gene* 1992 121:143-147
- Chanteau et al. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000 Apr;4:377-83