



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



EFFECTO DEL OXÍGENO DISUELTO 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 filamentosa 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.

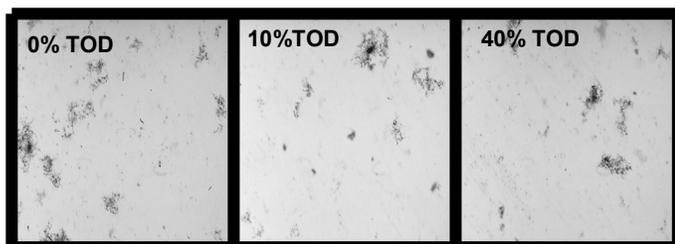


Fig.

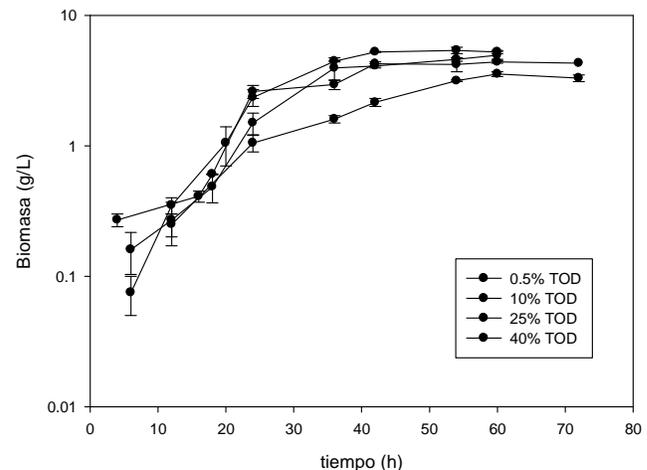


Fig. 2 Cinética de crecimiento de los cultivos a diferente TOD

Tabla 1. Parámetros cinéticos de los cultivos a diferente TOD

TOD (%)	Velocidad de crecimiento (h ⁻¹)	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.

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

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!