



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



PRODUCCION DE LA PROTEINA QUIMERICA VASOINHIBINA_VASOSTATINA.

Arlette Bohórquez Hernández ¹, Ma. Del Carmen González Castillo ², Gabriela Vázquez Rodríguez ¹, Antonio De León Rodríguez ¹

¹ División de Biología Molecular, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. Camino a la Presa San José 2055, Lomas 4^a. Sección, C. P. 78216, San Luis Potosí, SLP, México. E-mail: aleonr@ipicyt.edu.mx

²Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. Dr. Manuel Nava N° 6 Zona Universitaria Tel. (444) 826 24 40 ext 566. San Luis Potosí, S.L.P., México.

Palabras clave: Angiogénesis, proteína quimérica, oxígeno disuelto.

Introducción. El cáncer representa uno de los mayores problemas de salud pública. La angiogénesis relacionada con la aparición y desarrollo tumoral ha sido identificada como blanco terapéutico. Las vasoinhibinas (VI) y la vasostatina (VS) son péptidos antiangiogénicos que inhiben las acciones proliferativas en células endoteliales (CEs) inducidas por el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y el factor de crecimiento fibroblástico básico (FGFb), entre otras. Se ha reportado que la temperatura de inducción y el OD (1) son factores que influyen de forma significativa en la producción de proteínas recombinantes alterando la cantidad de proteína recombinante total producida y la proporción que se presenta en fracción soluble. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la tensión de oxígeno disuelto (TOD) y temperatura sobre la producción de la proteína quimérica VI_VS en fracción soluble.

Metodología. Se realizaron ensayos de expresión a nivel de biorreactor empleando la cepa de *E. coli* Rosetta gami transformada con el plásmido pGVRVIVS que codifica para VI_VS. La inducción se realizó con IPTG 0.5mM, en medio LB. Se probaron 37 y 28.5°C como temperaturas de inducción. Se trabajó en condiciones de TOD constante de 2, 11 y 20% y TOD oscilante en un rango de 0-25% y 15-20min como periodo de oscilación.

Resultados. En la fig. 1 se muestran las cinéticas de crecimiento de *E. coli* Rosetta gami en TOD constante y oscilante a 28.5°C (Fig.1a) y 37°C (Fig.1b). La producción de VI_VS a 28.5°C y TOD constante de 2% fue de 66.44 mg/l y 1.77% de la proteína recombinante se encontró en la fracción soluble, mientras que a 28.5°C y TOD oscilante (0-25%) no se observó un aumento significativo en la producción de VI_VS, sin embargo, la proteína en la fracción soluble aumentó 35 veces más. La producción total de VI_VS a 37°C tanto a TOD constante como oscilante aumentó 2 veces más con respecto a la producción a 28.5°C y 2% TOD (Tabla 1).

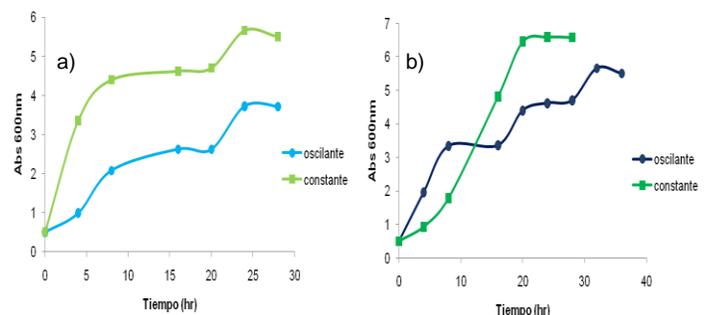


Figura 1. Cinética de crecimiento oxígeno constante vs. Oscilante; a) 28.5°C b) 37°C

Tabla 1. Producción de proteína VI_VS en oxígeno disuelto constante y oscilante a) 37°C b) 28.5°C. ND: no detectado.

TOD (%)	°T	VI_VS total (mg/l)	VI_VS soluble (mg/l)
2%	28.5°C	66.44	1.18
20%	28.5°C	ND	ND
0-25%	28.5°C	68.17	40.87
11%	37°C	130.3	4.52
0-25%	37°C	137.69	2.38

Conclusiones. La producción de VI_VS en fracción total se ve favorecida operando el biorreactor a 37°C y TOD oscilante, mientras que a 28.5°C y TOD oscilante se incrementa la proporción de VI_VS en fracción soluble.

Agradecimiento. Este trabajo se realizó con el apoyo de CONACyT-Básicas 82010. Se agradece el apoyo técnico de Leandro G. Ordóñez.

Bibliografía.

1. Imen R, et al. A strategy for high level expression of soluble and functional human interferon alfa as a GST-fusion protein in *E. coli*. *Protein Engineering*. 2007, 20(5): 201-209.