



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



DISEÑO BOX-BEHNKEN PARA OPTIMIZAR LA PRODUCCIÓN DE VASOSTATINA

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

¹División de Biología Molecular, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C. Camino a la Presa San José 2055 Lomas 4ª sección CP 78216. Tel. (444) 834 20 00 y Fax (444) 834 20 10 San Luis Potosí, S.L.P., 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, Diseño experimental, Biorreactor.

Introducción. La vasostatina (VS) es un péptido antiangiogénico que deriva del extremo amino-terminal de la calreticulina¹ y bloquea las acciones proliferativas y mitogénicas inducidas por factores de crecimiento como el factor de crecimiento fibroblástico básico (FGFb), el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y Bradicidina (BK) en células endoteliales². La VS es un prometedor agente terapéutico en el tratamiento del cáncer por su capacidad de inhibir la neovascularización *in vivo* y prevenir o reducir el crecimiento de tumores experimentales^{1,3}. Sin embargo, la producción de VS recombinante (rVS) no ha resultado satisfactoria para llevar a cabo su caracterización biológica.

El objetivo del presente trabajo es optimizar la producción de rVS a nivel de biorreactor mediante un diseño experimental de Box-Behnken.

Metodología. El gen de la VS se obtuvo mediante PCR y se clonó en el vector pET22b para dar origen a pGVR. La rVS se produjo en *Escherichia coli* BL21SI inducible por NaCl 0.3M. Cada experimento del diseño se realizó en un biorreactor de 1L en medio BSG suplementado con tiamina 0.1%, ampicilina 200 µg/ml y elementos traza 5µM.

Resultados. Para analizar el efecto que la temperatura, la tensión de oxígeno disuelto (TOD) y pH tienen en la producción de la rVS se construyó un diseño experimental Box-Behnken dando como resultado un esquema con un punto central por triplicado siendo un total de 15 experimentos generados al azar. En la figura 1a se muestra la cinética de crecimiento de *E. coli* BL21SI en matraz a 20°C y en biorreactor en condiciones óptimas (pH 7, 20% TOD y 28.5°C). Se encontró que en las condiciones óptimas se obtuvo una producción máxima de rVS de 68.8 mg/l de la cual, el 89.3% está en forma soluble, mientras que en matraz se obtuvieron 6.1 mg/l con 76.7% de solubilidad. Esto representa un aumento de 11 veces más (figura 1b). Este es el primer trabajo en producir rVS a nivel de biorreactor.

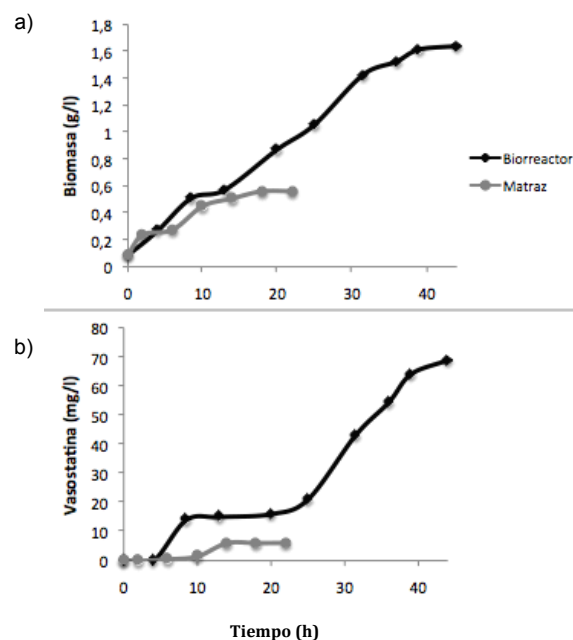


Figura 1. Producción de VS a nivel de matraz y biorreactor

Conclusiones.

El diseño experimental Box-Behnken permitió mejorar la producción de rVS a nivel de biorreactor y además el uso de las condiciones óptimas favoreció que la proteína recombinante se encontrara en la fracción soluble.

Agradecimiento. A CONACyT por la beca de doctorado no. 211450. Este trabajo ha sido apoyado por los proyectos CONACyT-BASICAS 82010 y PROMEP/103.5 /072574.

Bibliografía.

1. S.E. Pike, L. Yao, J. Setsuda, K.D. Jones, B. Cherney, E. Appella, K. Sakaguchi, H. Nakhasi, C.D. Atreya, J. Teruya-Feldstein, P. Wirth, G. Gupta, G. Tosato. (1999) *Blood* 94: 2461-2468.
2. R. Huegel, P. Velasco, M. De la Luz Sierra, E. Christophers, J.M. Schroder, T. Schwarz, G. Tosato, B. Lange-Asschenfeldt. (2007) *J Invest Dermatol* 127:65-74.
3. Lei Yao, Sandra E. Pike, Stefania Pittaluga, Barry Cherney, Ghanshyam Gupta, Elaine S. Jaffe, Giovanna Tosato. (2002) *Cancer Immunol Immunother* 51: 358-366