

INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES DE FERMENTACIÓN EN LA EXPRESIÓN DE LA IL-2 HUR EN *Escherichia coli*.

Ing. Laura Varas Sarzo, Lic. Amado León González
Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología
Apartado 6162 C.P. 106000,
Ciudad de La Habana, Cuba
Fax: (537) 218070
Email: odalys.ruiz@cigb.edu.cu

Palabras clave: *Fermentación, expresión, Escherichia coli.*

Introducción.

Para los tratamientos contra el cáncer se utilizan determinadas sustancias que sean capaces de aumentar la respuesta inmune ante los tumores. Estas sustancias se conocen como “Modificadores de la respuesta biológica” y entre los más importantes se encuentra la Interleukina 2. (IL-2) Esta proteína se logra expresar en *Escherichia coli* (*E. coli*) en forma de agregados insolubles a partir de los cuales es posible purificarla y recuperarla en su forma activa.

En el presente trabajo se estudió la influencia de algunos componentes del medio de cultivo y la aireación en la expresión de la IL-2 Hur.

Metodología.

Cepa de trabajo JM 101 de *E.coli*. transformada con el plásmido pIL2mA12 que se encuentra bajo el promotor trp de la *E. coli*.

Se realizaron diferentes fermentaciones con la variación de su medio de cultivo en tres de sus componentes: sales trazas, triptófano (W) y FeSO₄ utilizando el siguiente medio de cultivo:

Medio para inóculos: medio LBAW y el medio de producción: M9 enriquecido con Extracto de levadura 1g/L, Hidrolizado de Caseína 10 g/L y utiliza glucosa 10 g/L como fuente de Carbono y energía.

Parámetros de trabajo: pH=5.5, T=37 °C, agitación =200 rpm y la aireación se realizó a dos niveles (0.6 vvm y 1 vvm).

Se midió DO a 630 nm, se determinó % de expresión de la proteína de interés a la electroforesis SDS-PAGE al 15 % teñido con Coomassie Blue y por último se determinó la concentración de proteínas totales mediante el método de Lowry.

Resultados y Discusión

Se aprecia en el cuadro 1 que al aumentar el flujo de aire se favoreció la expresión.

Cuadro 1 Fermentaciones con diferentes niveles de aireación

Aireación	% de expr.	Prot. Total mg/mL
0.6 vvm	16.71	84
1 vvm	18.22	51

Se repitió la fermentación con 1vvm pero en ausencia de triptófano. Es conocido por la literatura que cantidades de hasta 100µg/mL de este aminoácido solo reprimen la expresión por 4 h. (1,2) También se eliminó las sales trazas debido a que los elementos presentes en esta solución ya estaban presentes en el Hidrolizado de caseína y Extracto de Levaduras. En este caso hubo repetibilidad de los resultados.

En el estudio de la fuente de Hierro se comprobó que al eliminarlo la expresión y el crecimiento son afectados. (no se detectó la proteína de interés y valores de crecimiento iguales a 5.94 UDO) Esto radica en que el hierro es fundamental para la fisiología de la *E. coli* por ser una célula aerobia. El oxígeno acepta electrones que son generados durante el metabolismo celular. Esta la vía de generar energía y la *E. coli* gasta mucha por lo que hay que asegurarle una dieta rica en este componente.(3)

Conclusiones.

De estos experimentos podemos concluir que para una mayor expresión de la IL-2 Hur:

- 1- La aireación que permite un mayor % de expresión es 1 vvm.
- 2- No afecta la expresión de la proteína la ausencia de triptófano y sales trazas en el medio de cultivo.
- 3- Es necesario la presencia de una fuente de Hierro en el medio de cultivo.

Bibliografía

1 Sung, K., Whan K. y Taitl P. (1996) Regulation of trp promoter for production of Bovine Somatotropin recombinant *Escherichia coli* fed batch fermentation. J Ferm and Bioeng (2): 153-157.

2. Sakamoto, S., Ijima, M, Matsuzawat y Ohta T. (1994) Production of thermophilic protease by glucose controlled fed-batch culture of recombinant *Escherichia coli*. J Ferm and Bioeng (78): 304-309

3. Klebba, A. (1997) Ligand – specific opening of a gated porin channel in the outer membrane of living bacteria. Today's Science, (23).