

## La cristalización del interferón $\alpha$ -2 recombinante humano

A. DÍAZ

Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Apartado 6162, La Habana, Cuba

Los monómeros de interferón  $\alpha$ -2 recombinante humano ( $\alpha$ -2-IFN) purificados en una columna de cromatografía fase inversa (1,2) y por una columna de gel filtración Sephadex Super 2, en tampón de acetato de amonio 25 mM, cloruro de sodio 0,12 M a pH = 5, fueron concentrados posteriormente a 8 mg/ml en una celda de ultracentrifugación Amicon con una membrana UM-2. El interferón se dializa contra tampón de acetato de sodio 50 mM, pH = 5,5 a una temperatura de 8°C.

Para la cristalización, se utilizó la técnica de difusión a vapor (método de la gota colgante), 5  $\mu$ l de la solución de proteína previamente centrifugados fueron mezclados con 2  $\mu$ l de solución al 16-18% de polietilenglicol en el tampón indicado. Se obtuvieron cristales, tanto con polietilenglicol de peso molecular 6 000 como de 10 000. Posteriormente las gotas fueron suspendidas sobre 1 ml de las mismas soluciones de polietilenglicol y equilibradas a una temperatura de 12°C.

Después de una semana se observaron placas cristalinas bien conformadas de 0,2 mm de longitud (figura 1); estos cristales eran ópticamente activos.

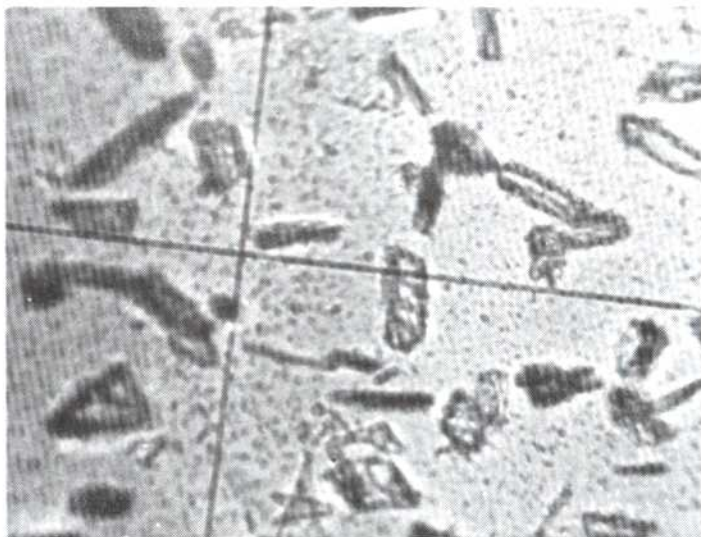


FIG. 1. Placas cristalinas de IFN  $\alpha$ -2 recombinante humano.

En la figura 2 se muestra una fotografía de difracción de rayos X de uno de los cristales de interferón y se continúa trabajando en su caracterización.

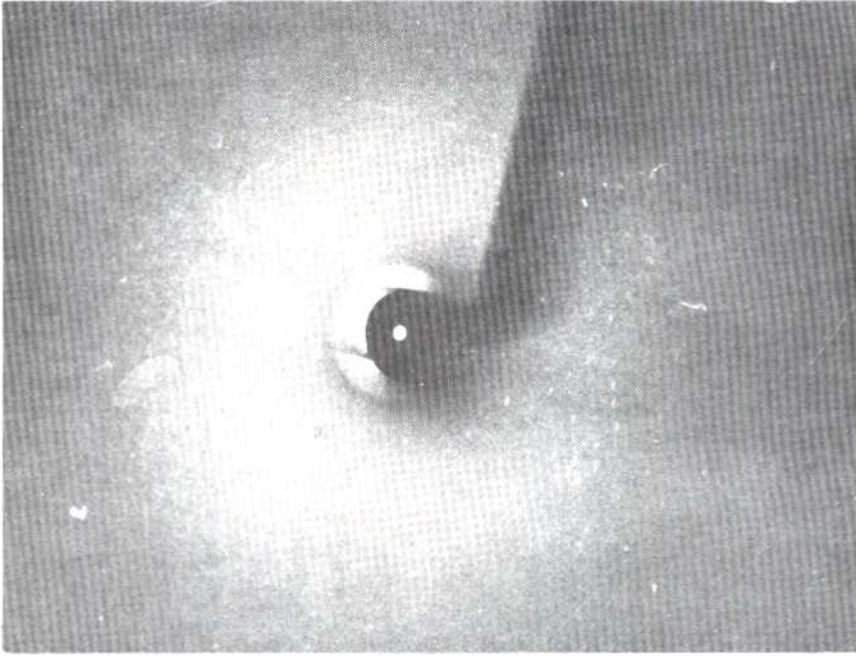


FIG. 2. Fotografía de difracción de rayos X de un cristal de IFN  $\alpha$ -2 recombinante humano, después de ser irradiado 12 horas con un generador de ánodo rotatorio Rigaku RU-300.

Los ensayos antivirales realizados en los cristales diluidos revelaron que el interferón permanece activo posteriormente a su cristalización.

#### REFERENCIAS

- PADRON, G.; V. BESADA; A. AGRAZ; Y. QUIÑONES; L. HERRERA; Y. SHIMONISHI y T. TAKAO (1988). *Mass spectrometry in recombinant protein analysis*. Enviado a: *Analytica Chimica Acta*, Elsevier, Holland.
- QUIÑONES, Y.; A. AGRAZ; A. SILVA; G. PADRON; C. MELLA; R. DIAZ; M. QUINTANA; V. BESADA; C. DUARTE; G. SIERRA; J. FERNANDEZ; R. UBIETA; J. MORALES; L. CASTELLANOS; V. MORERA; G. FURRAZOLA; M. MONTERO; A. TAMAYO; A. SANTOS y L. HERRERA (1988). *Clonación, expresión y producción de IFN- $\alpha$  en E. coli*. 8vo. Simposio Internacional de Biotecnología, París, julio de 1988.