A succesful intracellular expression was confirmed when the pPACIB.5 vector was used, while no expression was detected when the pPACIB.4 vector was employed. These results indicate that the human IL-2 coding region (58 aa) 5' to the protein, is a potent factor in succesful expression of heterologous protein in bacteria.

REFERENCES

1. PLUCKTUN, A. *et al.* (1991). *Biotechnology* 9:273-278
2. PIERCE, J. .J. *et al.* (1993). *J. of Chrom.* 629:161-168
3. BECKWITH, J. and D. BOYD (1990). *Cell* 62:1031-1033

INMOVILIZACION DE PROTEINA A DE *Staphylococcus aureus* EN CELULOSA MACROPOROSA ESFERICA DE PRODUCCION NACIONAL

Gil Sh.[1], I. Giraldino[2], J. Delfín[1], L. Dávalos[1], M. Chávez[1], J. Díaz[1], O. Quintela[3] y J. M. Guisán[4]

[1]*Departamento de Bioquímica, Fac. de Biología, UH;* [2]*EPB "Carlos J. Finlay", C. Habana, Cuba;* [4]*Instituto de Catálisis y Petróleo-química, C.S.I. C. Madrid, España.* [3]*UIP-Cuba 9, MINAZ.*

INTRODUCCION

El desarrollo de una industria para la obtención de anticuerpos monoclonales (AcMs) constituye uno de los objetivos biotecnológicos priorizados en el país. En este proceso es muy utilizada la Proteína A de *Staphylococcus aureus* (SpA) por su capacidad de unión inespecífica a la región Fc de la mayoría de las inmunoglobulinas. Por estas razones y tomando en consideración los resultados satisfactorios obtenidos en nuestro laboratorio, con la utilización de celulosa macroporosa esférica de producción nacional en la inmovilización de tripsina (1) e inhibidores de proteasas (2), se decidió estudiar la inmovilización de SpA en este soporte. En el presente trabajo se obtienen e investigan dos preparados, Cel-SpA y celulosa-glicidol-SpA (Cel-Glic-SpA), con características favorables que les permiten ser empleados en la purificación de AcMs.

MATERIALES Y METODOS

La celulosa con un tamaño de partícula de 40 a 80 μm fue oxidada con periodato de sodio y activada con glicidol (1, 3). La cromatografía de afinidad en ambas matrices se realizó a través del procedimiento descrito por Pharmacia (4). En estos procesos se utilizó Inmunoglobulina G humana (IgGh) y líquido ascítico T_3 producidos en el Instituto de Hemoderivados y los Laboratorios de CIM respectivamente. Se estudiaron la estabilidad de las matrices durante los procesos oxidativos y de inmovilización, así como la pureza de las fracciones eluídas (4 y 5). Además, se realizó el estudio hidrodinámico de los preparados (4).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los mejores valores obtenidos de recobrado (7.8 mg IgGh/mL gel), grado de inmovilización (GI) (4.1 mg SpA/mL gel) y grado de oxidación (GO) (73.9 μmoles $NaIO_4$/mL gel) para el sistema Cel-SpA resultan satisfactorios si tenemos en cuenta los antecedentes que se describen sobre este tema (5 y 6). Por otro lado, es evidente que el soporte Cel-Glic-SpA es más eficiente al alcanzar un GO de 110.6 μmoles $NaIO_4$/mL gel, un GI de 6.3 mg SpA/mL gel y un alto valor de recobrado (16.1 mg IgGh/mL gel), lo cual corrobora nuestra hipótesis de que las limitaciones difusionales juegan un papel importante en esta cromatografía, pues la matríz que contiene el brazo espaciador muestra ventajas en estos parámetros para cada una de las concentraciones de muestra adicionada en el proceso cromatográfico.

Al aplicar las fracciones eluídas en el sistema SDS-PAGE se obtuvo una única banda electroforética, y 4 bandas en el patrón de la focalización isoeléctrica que corresponden a isoformas de la inmunoglobulina que se desea purificar. El hecho de que no se aprecie desprendimiento de SpA durante el proceso cromatográfico

constituye un elemento ventajoso para el empleo de este soporte en la purificación de AcMs con fines terapéuticos.

Las capacidades dinámicas de los preparados inmovilizados resultaron satisfactorias e idóneas para el proceso de purificación. No debemos pensar en una degradación de los soportes durante la oxidación e inmovilización, ya que las microfotografías electrónicas muestran que se mantiene la estructura esférica de las partículas de celulosa, es decir, que son estables durante ambos procesos, lo cual resulta muy provechoso.

En base a nuestros resultados recomendamos el uso de la celulosa activada por el método de periodato de sodio o del glicidol como matrices de inmovilización, en sustitución de Sefarosa-4B, con el objetivo de emplear los sistemas inmovilizados en la purificación de AcMs de uso diagnóstico y terapéutico.

REFERENCIAS

1. MARTÍNEZ, I. *et al.* (1992). *Biologia* 6 (2)
2. DELFÍN, J. *et al* (1994). *Arch. of Med. Research* 25(2):199-204
3. GUISÁN, J. M. (1988). *Enzyme Microb. Technol.* **10**:375-82
4. Pharmacia (1988). *Pharmacia LKB Biotechnology* 48-52
5. COLEMAN, P. *et al.* (1990). *J. of Chromatography* **512**:343-63
6. POIESI, C. (1989). *Journal of Chromatography* **465**:101-11

DETECCION DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE LA HEPATITIS C EN MUESTRAS DE SANGRE COLECTADAS EN PAPEL DE FILTRO

Marleby García, Rolando Ochoa, Esther Lazo, Irina Valdivia, Leticia Martínez, Janette Trujillo, Julio Ventura y Aurora Delahanty.

Centro de Inmunoensayo. Calle 234 y Ave. 25, Apdo Postal 6945, La Habana, Cuba.

INTRODUCCION

La infección por el Virus de la Hepatitis C (VHC), es la causa fundamental de las hepatitis NANB adquiridas por la vía parenteral (1,3). Estudios realizados demuestran que el VHC se transmite a través de la sangre y productos sanguíneos contaminados, transfusiones y contactos personales cercanos (2). La infección por el VHC persiste durante años después del episodio inicial de la hepatitis aguda, siendo la tasa de hepatitis crónica muy elevada. La cronicidad, en la mayoría de los casos, es asintomática, pudiendo ser causa de cirrosis y cáncer hepático (2,4). La presencia de anticuerpos al HCV, en suero, plasma o sangre de un individuo, indica que el mismo ha estado expuesto al virus, y por tanto, constituye un transmisor potencial de la enfermedad. Para detectar estos anticuerpos, hemos desarrollado un estuche diagnóstico (UMELISA HCV), basado en una técnica de los ELISA. Con el objetivo de facilitar el transporte, almacenaje y disminuir los riesgos de contaminación del operador se han empleado las muestras de sangre colectadas en papel de filtro. En este trabajo, establecemos los parámetros óptimos para la elución y la evaluación de estas muestras.

MATERIALES Y METODOS

Muestras estudiadas

Se involucraron en este estudio un total de 361 muestras de donantes de sangre procedentes de Bancos de Sangre de La Habana y 17 muestras de pacientes asistentes a la consulta especializada en Hepatitis C del Instituto de Gastroenterología de Cuba.

Colección de las muestras de sangre en papel de filtro

Se tomaron muestras de sangre de 1 cm de diámetro del dedo de cada individuo, en un papel Schleicher & Schuell - 2992. La sangre debía impregnar ambas caras del papel. En el momento de la evaluación, se realizó un ponche sobre la mancha de sangre, con un ponchador auxiliar, obteniéndose discos de 5 mm de diámetro. Se tomaron muestras de sangre de la vena de cada uno de los individuos, la que fue procesada hasta obtener el suero.

Se midió el volumen de sangre absorbido por un disco que fue de 3,5 μL. Este disco se eluyó en un volumen de 70 μL de solución diluente para una dilución final de 1:20, coincidiendo con la dilución final de las muestras de suero. Se realizó un estudio de estabilidad con