

**S7- BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LAS CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y ALIMENTARIAS /
APPLICATION OF BIOTECHNOLOGY IN THE PHARMACEUTICAL AND FOOD SCIENCES**


COORDINADORES / COORDINATORS:

Laura Machín Galarza, MSc / Anairis Pujol García, MSc

Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de La Habana (IFAL-UH), La Habana, Cuba

Contenido

PO-09: VESÍCULAS DE MEMBRANA EXTERNA: UNA PLATAFORMA PARA EL DESARROLLO DE FORMULACIONES ADJUVANTES Y VACUNALES / OUTER MEMBRANE VESICLES: A PLATFORM FOR DEVELOPMENT OF ADJUVANT AND VACCINE FORMULATIONS.....	164
PO-10: DISEÑO DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN PARA LA OBTENCIÓN EN E. COLI DE UN FRAGMENTO DE ANTICUERPO MONOCLONAL DE SIMPLE CADENA / DESIGN OF THE FERMENTATION PROCESS FOR OBTAINING A MONOCLONAL ANTIBODY SINGLE-CHAIN FRAGMENT IN E. COLI	165
P-43: CROMATOGRAFÍA DE INTERACCIONES HIDROFÓBICAS COMO PRIMER PASO DE PURIFICACIÓN DE LA PROTEÍNA P64K RECOMBINANTE / CHROMATOGRAPHY OF HYDROPHOBIC INTERACTIONS AS THE FIRST STEP FOR THE PURIFICATION OF THE RECOMBINANT PROTEIN P64K.....	166
P-44: DESARROLLO DE UN SISTEMA PARA OBTENER INTERFERÓN ALFA HUMANO A PARTIR DE ESCHERICHIA COLI / DEVELOPMENT OF A SYSTEM TO OBTAIN HUMAN ALPHA INTERFERON FROM ESCHERICHIA COLI	167
P-45: ENSAMBLAJE DEL EPÍTOPO DE LEWIS Y / ASSEMBLY OF THE LEWIS Y EPITOPE	168
P-47: EVALUACIÓN DEL TRICLOROACETOIMIDATO 4,6-O-BENCILIDÉN-2,3-DI-O-BENCIL GALACTOSA COMO DONOR EN LA SÍNTESIS DEL α GalCer / EVALUATION OF TRICHLOROACETIMIDATE 4,6-O-BENZYLIDEN-2,3-DI-O-BENCYL GALACTOSE AS A DONOR IN THE SYNTHESIS OF α GalCer.....	169
P-48: ESTUDIO DE FOTO-ESTABILIDAD DE LA VACUNA HEBERNASVAC Y SU INGREDIENTE FARMACÉUTICO ACTIVO: ANTÍGENO DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B / PHOTOSTABILITY STUDY OF HEBERNASVAC VACCINE AND ITS ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENT: THE CORE ANTIGEN OF THE HEPATITIS B VIRUS	170
P-49: SÍNTESIS DE UN INTERMEDIO ÚTIL PARA LA OBTENCIÓN DE LA α -GALACTOSILCERAMIDA / SYNTHESIS OF A USEFUL INTERMEDIATE FOR THE OBTAINING OF α -GALACTOSYLCERAMIDE	171

	
P-50: SISTEMAS ALTERNATIVOS PARA LA EXPRESIÓN DE IFN γ EN MEDIO QUÍMICAMENTE DEFINIDO / ALTERNATIVE SYSTEMS FOR THE EXPRESSION OF IFN γ IN A CHEMICALLY DEFINED MEDIUM	172
P-51: LIPOPOLISACÁRIDOS: ¿UNA NECESIDAD EN LAS VACUNAS? / LIPOPOLYSACCHARIDE: A REQUIREMENT IN VACCINES?	173

PO-09: VESÍCULAS DE MEMBRANA EXTERNA: UNA PLATAFORMA PARA EL DESARROLLO DE FORMULACIONES ADJUVANTES Y VACUNALES / OUTER MEMBRANE VESICLES: A PLATFORM FOR DEVELOPMENT OF ADJUVANT AND VACCINE FORMULATIONS

Acevedo R^{1,2}, Zayas C

¹Finlay Vaccine Institute, Ave. 27 # 19805, La Lisa, La Habana, Cuba. E-mail: racevedo@finlay.edu.cu. ²Institute of Pharmacy and Food, University of Habana, Cuba.

Introduction: Vaccines based on outer membrane vesicles (OMV) were developed more than 20 years ago against *Neisseria meningitidis* serogroup B. These nano-sized structures exhibit remarkable potential for immunomodulation and delivery of meningococcal antigens or unrelated antigens incorporated into the vesicle structure. **Material and Methods:** This work reviews different applications of OMV in Research and Development (R&D). **Results:** A Good Manufacturing Practice (GMP) process was developed by Finlay Vaccine Institute to produce OMV from *N. meningitidis* serogroup B (dOMVB) using detergent extraction. Subsequently, OMV from *N. meningitidis*, serogroup A (dOMVA), serogroup W (dOMVW), and serogroup X (dOMVX) were obtained using this technology. More recently, the extraction process was also applied effectively to obtain OMV on a research scale from *Vibrio cholerae* (dOMVC), *Bordetella pertussis* (dOMVBP), *Mycobacterium smegmatis* (dOMVSM), and BCG (dOMVBCG). The immunogenicity of this OMVs was evaluated for specific antibody induction, and altogether with functional bactericidal and challenge assays in mice demonstrate their protective potential. Finally, adjuvant effect of dOMVB was evaluated with combined antigens from herpes virus type 2 glycoprotein, ovalbumin, allergens, glycolipids, etc. **Conclusions:** OMV and derived particles (cochleates and vssp) are proving to be more versatile than first conceived and remains an important technology for development of adjuvants and vaccine candidates.

PO-10: DISEÑO DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN PARA LA OBTENCIÓN EN E. COLI DE UN FRAGMENTO DE ANTICUERPO MONOCLONAL DE SIMPLE CADENA / DESIGN OF THE FERMENTATION PROCESS FOR OBTAINING A MONOCLONAL ANTIBODY SINGLE-CHAIN FRAGMENT IN E. COLI

Mariela Pérez, Y Hernández, M Herrera, O Ruiz

Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Ave 31 e/158 y 190, Cubanacán, Playa, La Habana, Cuba. E-mail: mariela.perez@cigb.edu.cu

Introducción: La selección de las condiciones de cultivo y el esquema de fermentación más adecuados constituyeron herramientas fundamentales para lograr el éxito en el diseño de un proceso de fermentación destinado a la producción de un fragmento de un anticuerpo monoclonal en la cepa TG-1 de *E.coli*. **Materiales y Métodos:** Las células fueron cultivadas en zaranda a 37°C y 200 rpm, en erlenmeyers de 500 mL y en fermentadores de 5 L. La densidad celular se midió en un espectrofotómetro a 620 nm y los niveles de expresión de la proteína en electroforesis SDS-PAGE mediante cuantificación de las bandas a través del software ImageJ. Para el monitoreo y control de las fermentaciones se utilizó el software FERMACS. Todo el procesamiento estadístico se realizó utilizando el programa Statgraphics Plus versión 7.0. **Resultados:** El cultivo en modo discontinuo demostró que el uso de glicerol como fuente de carbono es más eficiente que la glucosa para lograr la expresión de la proteína de interés, que un pH igual a 7.0 favorece el crecimiento celular y la producción del producto de interés y que no es necesario el uso de antibióticos para mantener la estabilidad plasmídica. A través de un plan compuesto central se encontraron los valores de agitación (380 h^{-1}) y aireación (1 vvm) que maximizan la concentración de proteína específica (774 mg/L) sin que la expresión disminuya. Se demostró que el modo de cultivo incrementado con medio de cultivo químicamente definido es la mejor alternativa ya que no es necesario el uso de un inductor para lograr la expresión de la proteína recombinante, permite obtener el menor costo unitario (0.76 \$/g) y la mayor productividad (129 mg/Lh). **Conclusiones:** Se estableció un proceso de fermentación robusto que permite obtener las cantidades de proteína necesarias para la demostración de su efectividad.

P-43: CROMATOGRAFÍA DE INTERACCIONES HIDROFÓBICAS COMO PRIMER PASO DE PURIFICACIÓN DE LA PROTEÍNA P64K RECOMBINANTE / CHROMATOGRAPHY OF HYDROPHOBIC INTERACTIONS AS THE FIRST STEP FOR THE PURIFICATION OF THE RECOMBINANT PROTEIN P64K

Imara Caridad Stable Vernier¹, Elías Nelson Rodríguez García², Regla Margarita Somoza Sánchez³, Meily Sánchez Pardo³, Daniel González Aguilar¹

¹Departamento de Planta 2, Producción, ²Departamento de Purificación, Desarrollo Tecnológico, ³Departamento de Control de Proceso, Producción, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba. E-mail: imara.stable@cigb.edu.cu

Introducción: La proteína P64K de la bacteria *Neisseria meningitidis*, obtenida de forma recombinante, constituye uno de los Ingredientes Farmacéuticos Activos de la vacuna CIMAVax-EGF contra el cáncer de pulmón. El proceso actual de purificación cromatográfica de P64kr tiene un primer paso de cromatografía de intercambio iónico seguido de una cromatografía de interacciones hidrofóbicas, precedidas de dos etapas de precipitación salina con sulfato de amonio. En este trabajo se evaluó el cambio en el orden de los pasos cromatográficos, ejecutando la cromatografía de interacciones hidrofóbicas (CIH) como primera etapa, lo cual elimina uno de los pasos de precipitación y simplifica el proceso. **Materiales y Métodos:** Para ello, se realizaron seis réplicas del experimento procesando el material por CIH como primer paso cromatográfico. En la siguiente etapa se ajusta el eluato obtenido por dilución y se aplica en la cromatografía de intercambio iónico. La operación de este paso se realiza de forma similar al proceso actual y se eluye el producto de interés por cambio de fuerza iónica. **Resultados:** Los datos muestran que el producto de interés en el primer paso eluye con una pureza superior al 65% y un recobrado del 40%. En cambio, el eluato de intercambio iónico alcanza una pureza superior al 95% y el recobrado de la etapa supera el 60%. El rendimiento global del proceso se estima en 9,0 mg/g de biomasa procesada. **Conclusiones:** Los resultados obtenidos son superiores al proceso actual donde se alcanzan 3,0 mg/g de biomasa procesada lo cual resulta atractivo para la producción.

P-47: EVALUACIÓN DEL TRICLOROACETOIMIDATO 4,6-O-BENCILIDÉN-2,3-DI-O-BENCIL GALACTOSA COMO DONOR EN LA SÍNTESIS DEL α GalCer / EVALUATION OF TRICHLOROACETIMIDATE 4,6-O-BENZYLDEN-2,3-DI-O-BENCYL GALACTOSE AS A DONOR IN THE SYNTHESIS OF α GalCer

Dianeisy Cabrera Cuello, Miguel A. López López, Blanca I. Tolón Murguía, Yaneisy Yu Pérez, Yuleidys de las Mercedes Iglesias Morales, Yanet González Díaz

Instituto Finlay de Vacunas, La Habana, Cuba. E-mail: dcabrera@finlay.edu.cu

Introducción: La α -galactosilceramida (α -GalCer) es un glicoesfingolípido útil para potenciar la respuesta inmune de diferentes vacunas. La etapa clave para su obtención por síntesis química, consiste en la α galactosilación del hidroxilo primario de la azidofitoesfingosina con un donante de galactosa convenientemente protegido. En este sentido, es de sumo interés la búsqueda del donante de galactosa que posibilite alcanzar una mayor proporción del glicósido α durante la reacción de glicosilación. El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar la eficacia del donante del tipo tricloroacetoimidato de la 4,6-O-bencilidén-2,3-di-O-bencilgalactosa en la glicosilación de la azidofitoesfingosina convenientemente protegida. **Materiales y Métodos:** Con este fin se sintetizó el donante de interés mediante una ruta sintética de 7 etapas de reacción con un rendimiento global de un 14%. **Resultados:** Con el donante sintetizado se efectuó la glicosilación de la azidofitoesfingosina dibencilada en tetrahidrofurano como disolvente, triflato de trimetilsililo como catalizador y a temperatura ambiente para obtener el glicósido α correspondiente con un rendimiento del 42%. **Conclusiones:** Este resultado permite afirmar que el 4,6-O-bencilidén-2,3-di-O-bencilgalactosa-tricloroacetoimidato constituye una alternativa válida para preparar la α -galactosilceramida y sus derivados.

P-49: SÍNTESIS DE UN INTERMEDIO ÚTIL PARA LA OBTENCIÓN DE LA α -GALACTOSILCERAMIDA / SYNTHESIS OF A USEFUL INTERMEDIATE FOR THE OBTAINING OF α -GALACTOSYLCERAMIDE

Yaneisy Yu Pérez¹, Dianeisy Cabrera Cuello¹, Yuleidys De Las Mercedes Iglesias Morales¹, Yanet González Díaz¹, Lisandra Amable González², Miguel A. López López¹

¹Instituto Finlay de Vacunas, La Habana, Cuba. E-mail: yaneyu@finlay.edu.cu. ²Centro de Estudios de Productos Naturales, Universidad de La Habana, Cuba.

Introducción: La α -galactosilceramida y sus derivados son inmunopotenciadores útiles en la preparación tanto de vacunas preventivas contra enfermedades infecciosas causadas por diferentes microorganismos, así como en la elaboración de vacunas terapéuticas contra el cáncer. En la actualidad estos compuestos se obtienen por síntesis química, cuya etapa clave la constituye la α -galactosilación de la azidofitoesfingosina o sus derivados con donantes de galactosa portadores de un patrón de sustitución que garantice la formación mayoritaria del glicósido α de interés. Aunque se han utilizado diferentes donantes de galactosa, en la literatura no se informa sobre el uso del O-(2,3,4,6-tetra-O-bencil- β -D-galactopiranosil)-tricloroacetoimidato con este propósito. El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar la eficacia del donante de galactosa citado con anterioridad en la glicosilación de la azidofitoesfingosina convenientemente protegida. **Materiales y Métodos:** Con este fin se sintetizó el O-(2,3,4,6-tetra-O-bencil- β -D-galactopiranosil)-tricloroacetoimidato mediante una ruta sintética de 6 etapas de reacción para obtener este donante con un rendimiento global de un 33%. **Resultados:** Con el donante sintetizado se efectuó la glicosilación de la azidofitoesfingosina dibencilada en tetrahidrofurano como disolvente, triflato de trimetilsililo como catalizador y a temperatura ambiente para obtener el glicósido α correspondiente con un rendimiento del 52%. **Conclusiones:** Este resultado permite afirmar que el O-(2,3,4,6-tetra-O-bencil- β -D-galactopiranosil)-tricloroacetoimidato constituye una alternativa válida para preparar la α -galactosilceramida y sus derivados.

