



RESUMEN TESIS DE GRADO

AUTOR (ES):
NOMBRE (S): ANGIE LIZETH **APELLIDOS:** BUITRAGO PABON

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

DIRECTOR:
NOMBRE (S): ANGEL EDUARDO **APELLIDOS:** ABSALON CONSTANTINO

TITULO DE LA TESIS: EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES ORIENTADAS A LA GENERACIÓN DE VACUNAS SUBUNITARIAS

RESUMEN:

En este trabajo se planteó la expresión de dos genes heterólogos diseñados in silico con marco abierto de lectura para dos proteínas de superficie del virus de la influenza aviar, hemaglutinina subtipo H7 y la proteína M2 implicadas en el mecanismo de infección del virus de influenza, también se realizó la construcción de dos sistemas de expresión para cada una de las proteínas recombinantes y se evaluó la capacidad de *Streptomyces lividans* TK24 para secretar la proteína hemaglutinina subtipo H7 y la expresión de la proteína M2 en *Escherichia coli* cepa M15, así como también los métodos utilizados para la purificación de las proteínas. Los resultados indican que los sistemas de expresión que se construyeron fueron efectivos ya que se logró la expresión de las proteínas en las cepas utilizadas.

Palabras claves: *Streptomyces lividans*, *Escherichia coli*, vector de expresión, proteína recombinante, péptido señal.

CARACTERÍSTICAS:

PAGINAS: 130 **PLANOS:** **ILUSTRACIONES:** **CD-ROM:** 1

EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES ORIENTADAS A LA GENERACIÓN DE
VACUNAS SUBUNITARIAS

ANGIE LIZETH BUITRAGO PABON

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
SAN JOSÉ DE CÚCUTA

2015

EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES ORIENTADAS A LA GENERACIÓN DE
VACUNAS SUBUNITARIAS

ANGIE LIZETH BUITRAGO PABON

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de
Ingeniero Biotecnológico

Director:

PhD. ANGEL EDUARDO ABSALON CONSTANTINO

Investigador

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
SAN JOSÉ DE CÚCUTA

2015



ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 02 JULIO DEL 2015

HORA: 4:00 P.M.

LUGAR: SALA DE JUNTAS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

TITULO: "EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES ORIENTADAS A LA GENERACIÓN DE VACUNAS SUBUNITARIAS".

MODALIDAD: INVESTIGACIÓN

JURADOS: YANETH AMPARO MUÑOZ PEÑALOZA
ELENA MARÍA PEÑARANDA LIZARAZO
JUAN CARLOS RAMIREZ BERMUDEZ

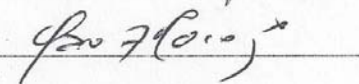
DIRECTOR: ANGEL EDUARDO ABSALÓN CONSTANTINO
INST. POLITÉCNICO NAL. CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA APLICADA TLAXCALA

NOMBRE DEL ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACION
ANGIE LIZETH BUITRAGO PABON	1610417	4.5

OBSERVACIONES: MERITORIA

FIRMA DE LOS JURADOS:



Vo. Bo. Coordinador Comité Curricular 

Dedicatoria

En primer lugar, a Dios por terminar esta meta, por toda la fortaleza espiritual que me dio y por hacer todo esto posible.

A mi familia por todo el amor y apoyo que he recibido de todos ellos a lo largo de estos años.

A la mejor mamá del mundo, gracias por todo tu cariño, por cada palabra de aliento, por nunca dejarme sola y por brindarme las herramientas necesarias para mi formación personal y espiritual.

A mi papá porque sé que en cualquier dificultad siempre estás ahí para ayudarme, gracias por tanto amor, espero algún día tener como devolverte todo el esfuerzo y el cariño que siempre recibo de ti, que mis metas te llenen de orgullo siempre.

A mis hermanos que son mis compañeros de vida y de aventuras, con solo saber que existen yo me siento parte de algo, sé que vivo cada uno de sus corazones y eso me hace sentir en casa, en cualquier lugar que esté, los amo y no me falten nunca Effy, Cate, Geral y Anyello.

Agradecimientos

La autora expresa sus agradecimientos a:

Quiero agradecer al Dr. Ángel Absalón C. por haberme acogido en su grupo de investigación, por toda la ayuda brindada durante el proyecto y por celebrar conmigo mis primeros logros científicos.

A la maestra Laura García por el apoyo y la comprensión brindada durante este trabajo, por los consejos para hacer todo un poco más fácil.

A los demás compañeros del grupo de investigación que siempre me brindaron sus mejores actitudes ante mis dudas, gracias por guiarme en la parte académica y por la comprensión en mis errores, por tanta amabilidad.

A mis compañeros de carrera, compañeros temporales de vida de los cuales aprendí tanto lo llevo en mi recuerdo, y espero lo mejor para cada uno de ustedes, en especial a Jairo Ortega y a Diego Cuellar por toda la ayuda estos meses, gracias por el apoyo.

A mis mejores amigos Ricardo, Mauricio, William, Esteban Aburto, Ktban y Mónica, espero conservarlos por el resto de mi vida, no necesito a nadie más, los quiero y gracias por soportarme todos estos años, por ayudarme a estudiar, por mis quejas, por estar siempre ahí cuando lo he necesitado, espero poder estar siempre para cada uno de ustedes.

Contenido

	pág.
Introducción	16
1. Problema	18
1.1 Titulo	18
1.2 Planteamiento del Problema	18
1.3 Formulación del Problema	19
1.4 Justificación	19
1.5 Objetivos	21
1.5.1 Objetivo general	21
1.5.2 Objetivos específicos	21
1.6 Alcances y Limitaciones	21
1.6.1 Alcance	21
1.6.2 Limitaciones	21
1.7 Delimitaciones	22
1.7.1 Delimitación espacial	22
1.7.2 Delimitación temporal	22
1.7.3 Delimitación Conceptual	22
2. Marco Referencial	23
2.1 Antecedentes	23
2.2 Marco Teórico	28
2.2.1 Virus de influenza A	28
2.2.2 Expresión de proteínas recombinantes en <i>Streptomyces</i> sp	37
2.2.3 Expresión de proteínas recombinantes en <i>Escherichia coli</i>	40

2.2.4	Secreción de proteínas en bacterias	42
2.2.5	Plásmidos	45
2.3	Marco Conceptual	48
2.3.1	Ingeniería genética	48
2.3.2	Proteínas recombinantes	49
2.3.3	Plásmidos	50
2.3.4	Promoto	50
2.3.5	Terminador	51
2.3.6	Recombinación	51
2.3.7	Electroporación	51
2.3.8	Conjugación	52
2.3.9	Reacción en cadena de la ADN polimerasa (PCR)	52
2.3.10	Enzimas de restricción	54
2.3.11	Electroforesis en gel de agarosa	54
2.3.12	Electroforesis en gel SDS-PAGE	55
2.3.13	Cuantificación de proteína por el método de BCA	56
2.4	Marco Contextual	56
2.5	Marco Legal	57
3.	Metodología	59
3.1	Tipo de Investigación	59
3.2	Población y Muestra	59
3.2.1	Población	59
3.2.2	Muestra	60
3.3	Variables	60

3.3.1 Dependientes	60
3.3.2 Independientes	61
4. Fases de la Investigación	62
4.1 Proteína de Superficie m2 del Virus de Influenza Aviar	62
4.1.1 Capítulo I: Diseño y obtención del gen heterólogo de la proteína de superficie M2 del virus de influenza aviar	62
4.1.2 Capítulo II: Construcción del sistema de expresión para la proteína 4eM2 en <i>Escherichia coli</i> M15	66
4.1.3 Capítulo III: Expresión de la proteína recombinante 4eM2 en <i>E. coli</i> M15	77
4.2 Proteína de Superficie Hemaglutinina Subtipo H7 del Virus de Influenza Aviar	83
4.2.1 Capítulo IV: Diseño y obtención del gen heterólogo de la proteína de superficie hemaglutinina subtipo H7 del virus de influenza aviar	83
4.2.2 Capítulo V: Construcción del sistema de expresión para la proteína hemaglutinina subtipo H7 en <i>Streptomyces lividans</i> TK24	89
4.2.3 Capítulo VI: Cinética de crecimiento de <i>Streptomyces lividans</i> TK24	106
4.2.4 Capítulo VII: Expresión de la proteína recombinante hemaglutinina subtipo H7 en <i>Streptomyces lividans</i> TK24	111
5. Discusión de Resultados	119
6. Perspectivas	121
7. Conclusiones	122
8. Recomendaciones	124
Referencias Bibliográficas	125