



Fecha: Agosto 29 de 2013
Hora: 4.10 pm
Lugar: Sala de Maestría

Jhon Carlos Castaño Osorio
Leonardo Padilla Sanabria
Fabiana María Lora Suarez
María Mercedes González
Jhon Alejandro Acosta D
Beatriz Restrepo Cortes
Jorge Enrique Gómez Marín

Director
Representante de Egresados
Docente Invitada
Representante de Docentes
Representante de Estudiantes
Docente
Docente

Lily Johana Toro S
Jaider Alonso Ojeda
Carlos Andrés Rodríguez Salazar
Delia Piedad Recalde
Diego Mauricio Moncada G
Diego Alejandro Molina L
Diana María García
Lina Marcela Giraldo
Ludy Milena Molina
German Alberto Téllez R
María Isabel Giraldo
Nestor Ivan Cardona
Leidy Lorena García A

Estudiante de Maestría
Estudiante de Maestría
Estudiante de Maestría
Estudiante de Maestría
Estudiante de Maestría
Estudiante de Maestría
Estudiante de Maestría
Estudiante de Maestría
Estudiante de Maestría
Estudiante de Doctorado
Estudiante de Doctorado
Estudiante de Doctorado
Joven Investigador

1. Verificación del Quórum
2. Sustentación trabajo de grado CLAUDIA MARCELA RIVERA HOYOS, Biól.
DIRECTOR DEL TRABAJO: Doctora PATRICIA LANDAZURI



MAESTRIA EN CIENCIAS BIOMEDICAS CONSEJO CURRICULAR ACTA No 017 de 2013

Carrera 15 Calle 12 Norte - Conm. 7460100 - Fax: 7460111 - Armenia Q. - Colombia
Web Site: www.uniquindio.edu.co - E-mail: uq@uniquindio.edu.co



FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRIA EN CIENCIAS BIOMEDICAS
CONSEJO CURRICULAR
ACTA No. 17 de 2013

CLONACIÓN EN *Escherichia coli* Y ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE LA IDURONATO SULFATO SULFATASA HUMANA RECOMBINANTE SIN EL PÉPTIDO SEÑAL NATIVO

El director da la bienvenida y explicar la dinámica de la sustentación, presenta a la estudiante y a los jurados, a quienes agradece por su colaboración en este proceso.

Se inicia la sustentación a las 4:10pm, la estudiante se tomó 40 minutos en la presentación.

PREGUNTAS:

Jurado 1:

Doctora CLAUDIA LILIANA CUERVO PATIÑO, MSc., PhD. Departamento de Microbiología Pontificia Universidad Javeriana.

Agradece a la Universidad y al programa por la invitación a participar a evaluar el trabajo, felicita a la estudiante por el trabajo realizado y la redacción del mismo que fue de fácil lectura. Hace recomendaciones en el texto, las cuales señala en el documento.

1. Justificación del trabajo es lograr producir una enzima recombinante para el tratamiento de una enfermedad metabólica. Quiere saber si la estudiante sabe de otros modelos donde se utilicen modelos procariotes para uso en humanos?, debido a las modificaciones postranscripcionales que requieren las enzimas lisosomales como la IDS.

Respuesta: El único medicamento que está en fase clínica es una enzima que se expresa en células humanas. Todos los trabajos de enzimas lisosomales van en fase de optimizar la producción de estas enzimas. La razón de hacerlo en *E.coli* es que no sufre hiperglicosilaciones que pueden suceder en *P. pastoris*.

2. Cómo funciona el sistema de purificación de proteínas en el sistema pLEX

Respuesta: es un sistema inducible y finamente regulado con el operón de triptófano.

3. Porque si se busca obtener una proteína lo más parecida a la humana, porque no usar un sistema que permita obtener una secuencia con el extremo de más de 100 nucleótidos carboxilo terminal que podrían alterar la función.

Respuesta: porque fue necesario adecuar la secuencia a las condiciones propias del vector de clonación, además existen varias isoformas de la enzima de las cuales algunas nos tienen este extremo y son activas metabólicamente. Se propuso clonar una isoforma corta.





FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRIA EN CIENCIAS BIOMEDICAS
CONSEJO CURRICULAR
ACTA No. 17 de 2013

4. Mejorar el sistema de producción de la proteína y fundamentan la baja cantidad obtenida por la presencia del péptido señal, cual otro tipo de estrategia permite la optimización de la producción?

Respuesta: Optimizar el medio de cultivo, condiciones bioquímicas, optimizar el inicio de codones para usar los ADNs de transferencia.

Jurado 2:

Doctor JORGE ENRIQUE GÓMEZ MARÍN, MD., PhD, Director Centro de Investigaciones Biomédicas, Felicita a la estudiante por el dominio y claridad de la exposición, señala que tiene observaciones en el texto

1. En la figura 24 se refiere a la secuencia nativa y en la consenso, a que se debe esto?

Respuesta: admite que fue un error en la redacción.

2. Solicita que la estudiante cuente los resultados presentados en el artículo que se publicó en mayo de este año.

Respuesta: Lo que se muestra es una actividad en otros constructos. Y no se ha podido medir la actividad en el constructo original por falta del sustrato.

3. Se han utilizado enzimas obtenidas en *E. coli* para tratar enfermedades en humanos?

Respuesta: en el momento se utilizan enzimas recombinantes producidas en células humanas.

Jurado 3:

Magister NESTOR IVAN CARDONA PEREZ, MSc. Centro de Investigaciones Biomédicas
Universidad del Quindío

Agradece la invitación al programa a participar como jurado.

1. Si ustedes definieron en el diseño que la falta del péptido señal tiene sitios de glicosilación y si estos afectan la actividad de la enzima?



MAESTRIA EN CIENCIAS BIOMEDICAS CONSEJO CURRICULAR ACTA No 017 de 2013

Carrera 15 Calle 12 Norte - Conm. 7460100 - Fax: 7460111 - Armenia Q. - Colombia
Web Site: www.uniquindio.edu.co - E-mail: uq@uniquindio.edu.co



**FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRIA EN CIENCIAS BIOMEDICAS
CONSEJO CURRICULAR
ACTA No. 17 de 2013**

Respuesta: la cantidad de sitios posibles de glicosilación depende del programa bioinformático utilizado. Además depende del grado de exposición de la molecular para ser glicosilados.

2. Explicar si la glicosilación es o no fundamental para la actividad de la enzima?

Respuesta: no son tan necesarias para la actividad enzimática, pero si en el reconocimiento inmunológico

3. Por qué no predijeron la ubicación de los sitios de glicosilación por un programa bioinformático?

Respuesta: si hubiese sido muy fácil

4. Fuente el vector con el inserto de IDS de la donación de Japón?

Respuesta: A partir de ARN de fibroblastos humanos

5. Cual fue el software utilizado para el diseño de los primers?

Respuesta: Genenum

6. Como explicar los resultados negativos obtenidos con el programa Qmiz?

Respuesta: los valores extremadamente positivos o negativos no son recomendados, por lo cual la estudiante va a revisar lo consignado en el documento.

7. Para que se utilizó el programa Phyre 2?

Respuesta:: Permitió definir la homología de las dos moléculas

Finalmente felicita a la estudiante

La tutora Doctora PATRICIA LANDAZURI hace claridad sobre la importancia de las glicosilaciones y la necesidad de producir enzimas humanas en células procariotas para disminuir el costo. En trabajos previos del grupo se ha encontrado que la E. coli produce la enzima activa aunque en bajas cantidades.

MAESTRIA EN CIENCIAS BIOMEDICAS CONSEJO CURRICULAR ACTA No 017 de 2013





**FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRIA EN CIENCIAS BIOMEDICAS
CONSEJO CURRICULAR
ACTA No. 17 de 2013**

La enzima requiere de la glicosilación para poder interactuar con las manosas de los receptores celulares. No se necesita la enzima total, pues la enzima se hidrolisa en fragmentos los cuales son activos. Está por definir cuál de los fragmentos es el más activo.

Después de la deliberación de los jurados dan como resultado: **APROBADO**

Se anexa hoja de asistencia

Se levanta la sesión siendo las 5:44 pm.

Jhon Carlos Castaño Osorio
Director

Luz Piedad Muriel Palacio
Secretaria

MAESTRIA EN CIENCIAS BIOMEDICAS CONSEJO CURRICULAR ACTA No 017 de 2013



Carrera 15 Calle 12 Norte - Conm. 7460100 - Fax: 7460111 - Armenia Q. - Colombia
Web Site: www.uniquindio.edu.co - E-mail: uq@uniquindio.edu.co