VIII Encuentro de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias

Tecnología y Biotecnología Farmacéutica

Caracterización biofísica de la muteína IL2 no-alfa y selección inicial de condiciones de formulación

ECFA 2026

Autor: Julio F. Santo Tomas[1], Frank E. Rodriguez Carrera[1], Tania Gómez[1], Mirna Fernandez[2], Kathya R. de la Luz Hernandez[1]

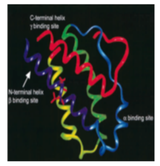
1- Centro de Inmunología Molecular 2-Instituto de Farmacia y Alimentos

1. INTRODUCCION (OBJETIVOS)

Resumen

Introducción: La muteina IL2 no-alfa (IL2na) es una proteína no glicosilada de 18 kDa producida en *E. coli*, que presenta baja solubilidad y alta propensión a la agregación, presentando desafíos significativos para su fabricación y estabilización. **Objetivo:** Realizar caracterización biofísica de la naIL2 y selección de aditivos estabilizantes. **Materiales y métodos:** El estado oligomérico y los agregados solubles se caracterizaron mediante dispersión dinámica de luz (DLS) y cromatografía de exclusión por tamaño. La estabilidad conformacional y coloidal se evaluó mediante fluorescencia intrínseca con rampa térmica y DLS, respectivamente. La carga superficial en función del pH se determinó por dispersión de luz electroforética. La selección de azúcares, aminoácidos y surfactantes estabilizantes se realizó bajo diferentes condiciones de pH y concentración de tampón a temperaturas de estrés elevadas. **Resultados:** La naIL2 presento agregados solubles con diámetro hidrodinámico medio de 27,4 nm e índice de polidispersidad de 0,123 a pH 4. Se observó una transición conformacional a 68 °C y aglomeración a 80 °C. El punto isoeléctrico se determinó en pH 8,2. El dodecilsulfato sódico fue el único surfactante capaz de solubilizar naIL2 a pH 7 y de disociar parcialmente sus agregados a pH 4. La estabilización de los agregados solubles tras almacenamiento a temperaturas elevadas se logró a pH 4 en presencia de sorbitol, manitol, prolina y glicina. **Conclusiones:** Este estudio constituye la base inicial para identificar las condiciones de formulación óptimas de la muteina IL2na, por lo que aún se requieren estudios adicionales para diseñar estrategias que controlen su agregación.

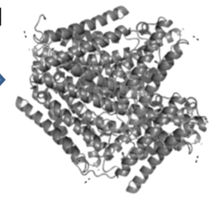
citoquina
MW 18 kDa
4 a-hélices anti-paralelas



Molécula
Muy hidrofóbica

Producida en E. Coli.
No presenta glicosilación

Agregación y baja solubilidad



2. METODOLOGIA

Caracterización biofísica:

- **Tamaño de partícula y agregación:** DLS y SEC-HPLC
- **Carga superficial:** ELS
- **Estabilidad Conformacional:** FI-triptófano
- **Tendencia de agregación:** Temperatura de agregación, Concentración-dilución (DLS), Estrés pH-Temperatura.
- **Reversibilidad de agregación:** Adición de surfactantes (Abs350nm, SEC, DLS).

Selección de aditivos:

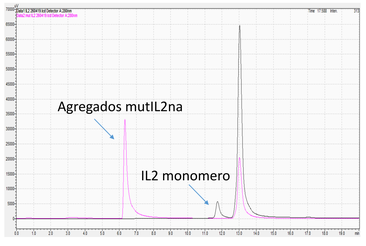
- **Estrés acelerado 80C 24h en presencia de aditivos.** (SEC, DLS).

3. RESULTADOS Y DISCUSION

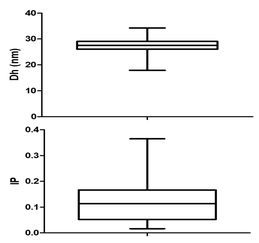
Caracterización biofísica:

Tamaño de partícula y agregación

TSK Gel 3000swxl FM: AcetatoNa pH4 1ml/min



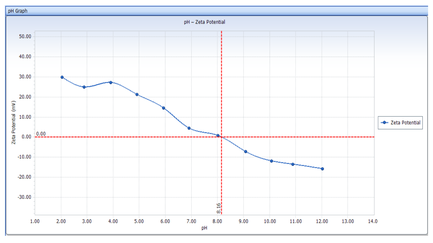
IL2 5ug; mutIL2 20ug



No se detectaron especies monoméricas

Tamaño nanométrico, meidanamente polidispersa

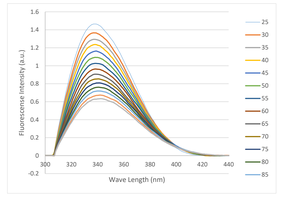
Carga superficial



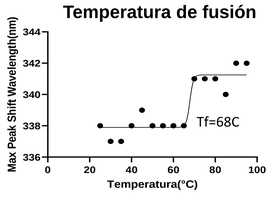
Alta carga superficial a pH ácido

Estabilidad conformacional

Fluorescencia Intrínseca

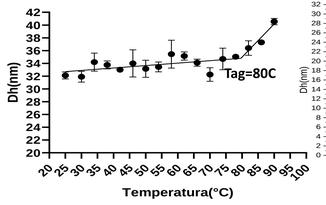


Temperatura de fusión

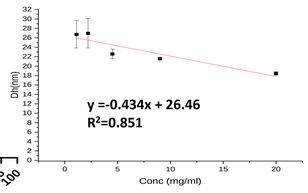


Tendencia de agregación

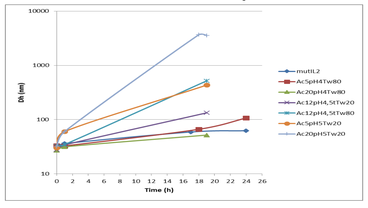
Temperatura de agregación



Concentración-Dilución



Estrés 80C 24h vs pH

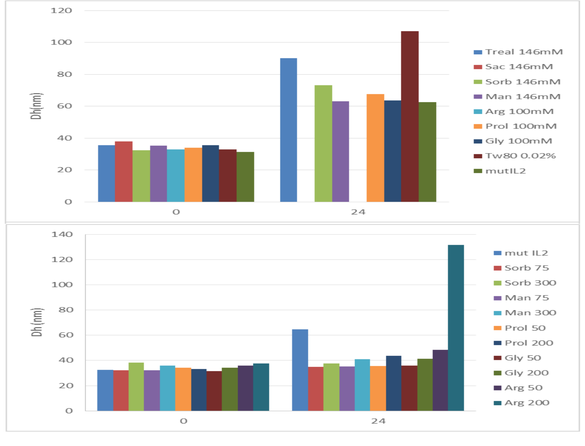


Altas temeprarturas de desnaturalización y de agregación a pH ácido

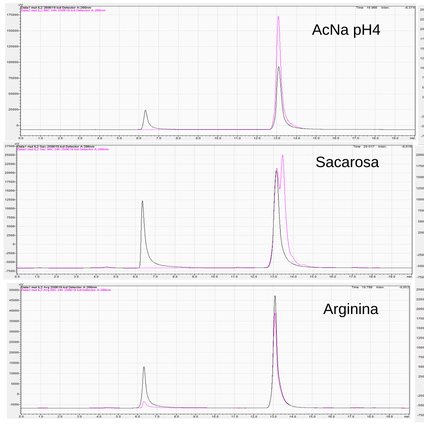
Resistencia a la agregación a altas concentraciones y cinética de agregación mas lenta a pH ácido

Selección de aditivos:

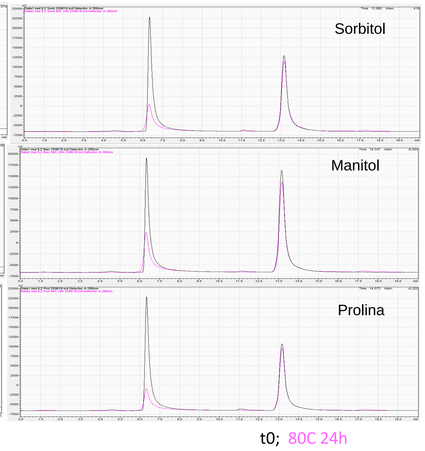
Estrés 80C 24h vs Aditivos



TSK Gel 3000swxl FM: AcetatoNa pH4
No estabilizadores



Estabilizadores

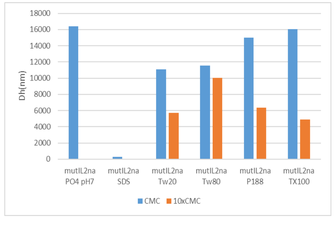


t0; 80C 24h

Mejor estabilidad y resistencia a la agregación a pH ácido en presencia de sorbitol, manitol y prolina

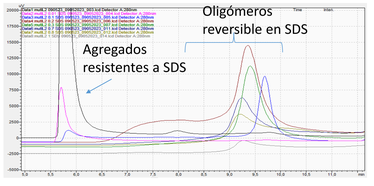
Reversibilidad de agregación

Agregación vs Surfactantes

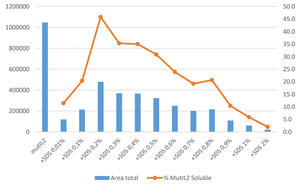


Agregación vs Concentración SDS

TSK Gel 3000swxl FM: AcetatoNa pH4

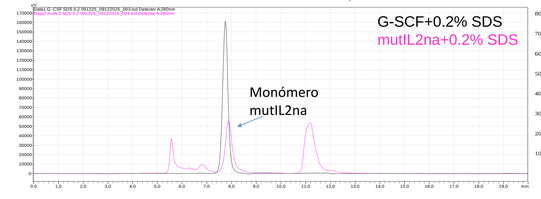


Area y reocobrado de Agregados+oligómeros solubles con SDS

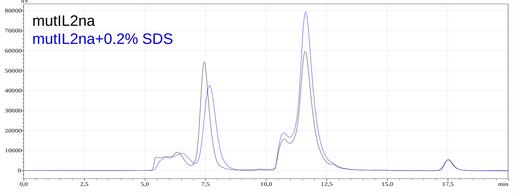


Reversibilidad de agregación en cromatografía SDS-Gel Fitracion

TSK Gel 3000swxl FM: AcetatoNa pH4 + 0.2%SDS



TSK Gel 3000swxl FM: Fosfato pH7 + 0.2%SDS



Solubilización a pH neutro y reversibilidad parcial de la agregación solo con SDS a concentraciones superiores de su CMC

4. CONCLUSIONES

- La muteina IL2na se encontró completamente agregada formando partículas de tamaño nanométrico.
- La muteina IL2na tuvo mayor estabilidad conformacional y coloidal a pH ácido.
- Los agregados de la muteina IL2na fueron parcialmente reversibles en presencia de SDS mejorando su solubilidad a pH neutro.
- Los aditivos sorbitol, manitol y prolina mejoraron la estabilidad de la muteina IL2na durante el estrés a altas temperaturas.

RESEARCH POSTER PRESENTATION DESIGN © 2015
www.PosterPresentations.com