

**UCLV**  
Universidad Central  
"Marta Abreu" de Las Villas



**FQF**  
Facultad de  
Química y Farmacia

Licenciatura en Química

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

*Título: “Purificación de un anticuerpo monoclonal anti-Erns y su conjugación a peroxidasa de rábano picante para su uso en inmunoensayos.”*

*Autora: Alianny Lázara Rojo Sánchez*

*Tutores: Lic. José M. Fernández Torres*

*MSc. Onel Valdivia Pérez*

*MSc. María Magdalena Rodríguez*

Santa Clara, Julio, 2019  
Copyright©UCLV

**UCLV**  
Universidad Central  
"Marta Abreu" de Las Villas



**FQF**  
Facultad de  
Química y Farmacia

Academic Department

## DIPLOMA THESIS

Title

*Author: Alianny Lázara Rojo Sánchez*

*Thesis Director: Lic. José M. Fernández Torres*

*MSc. Onel Valdivia Pérez*

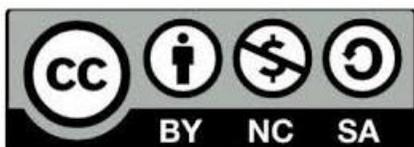
*MSc. María Magdalena Rodríguez*

Santa Clara, July, 2019  
Copyright©UCLV

Este documento es Propiedad Patrimonial de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, y se encuentra depositado en los fondos de la Biblioteca Universitaria “Chiqui Gómez Lubian” subordinada a la Dirección de Información Científico Técnica de la mencionada casa de altos estudios.

Se autoriza su utilización bajo la licencia siguiente:

**Atribución- No Comercial- Compartir Igual**



Para cualquier información contacte con:

Dirección de Información Científico Técnica. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Carretera a Camajuaní. Km 5½. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP. 54 830

Teléfonos.: +53 01 42281503-1419

## **Resumen**

Con el objetivo de obtener un anticuerpo monoclonal conjugado a peroxidasa de rábano picante contra la proteína recombinante Erns del Virus de la Peste Porcina Clásica, se purificó mediante cromatografía de afinidad a Proteína A y Proteína G inmunoglobulinas anti-Erns en ascitis. La conjugación se realizó según el método del peryodato de sodio. Tres factores fueron evaluados en la purificación (pH, velocidad de flujo y tampón de unión), para determinar la capacidad dinámica de unión, así como las condiciones de elución. Se evaluó el pulido de la elución con las matrices Q-Sepharose, Chelating Sepharose ( $\text{Fe}^{2+}$ ) y Blue-Sepharose. La inmunoglobulina fue conjugada a peroxidasa de rábano picante y su actividad fue evaluada mediante ELISA y Western-Blot.

# Abstract

With the aim to obtain a horseradish peroxidase conjugated antibody against a recombinant Erns from Classical Swine Fever Virus, anti-Erns immunoglobulins from ascites fluid were purified through Protein A and Protein G affinity chromatography. Three binding factors were assessed (pH, flow rate and buffer), to define dynamic binding capacity and elution conditions. The polish of eluted fractions was performed with Q-Sepharose, Chelating Sepharose ( $\text{Fe}^{2+}$ ) and Blue-Sepharose resins. The conjugation process to horseradish peroxidase was performed according to sodium periodate method and the activity was tested by ELISA and Western-Blot.

## Agradecimientos

Quiero agradecer a mis tutores José Miguel Fernández Y Onel Valdivia por apoyarme en todo momento, sin ellos este trabajo no hubiese sido posible.

A los trabajadores del Laboratorio de Biología Molecular por asesorarme y enseñarme todas las técnicas que utilicé, en especial a Yosva, Maite, Carlos, Lisbet, Dunieski y Dalia.

A todos los trabajadores del CIGBSS muchísimas gracias por apoyarme siempre, aprendí mucho de todos ustedes.

## Dedicatoria

A mis padres por haberme enseñado la importancia de esforzarse al máximo y dar todo por los sueños.

A mi hermano por ser mi fuente de inspiración.

A mi novio por estar siempre a mi lado y a su familia por apoyarme incondicionalmente.

A mi familia y amigos que han estado a mi lado dándome ánimos para seguir adelante.