

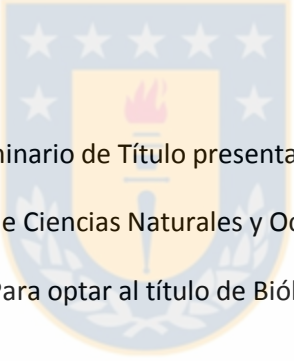


**Universidad de Concepción**

**Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas**



**Clonamiento, expresión y caracterización de la isoforma 121 del factor de crecimiento del endotelio vascular humano (VEGF-A121)**



Seminario de Título presentado a la  
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas  
Para optar al título de Biólogo

**Geraldine del C. Aedo Vielma**

**Concepción, Chile, Enero 2013**

## 1. RESUMEN

El factor de crecimiento endotelial vascular es una proteína homodimérica y se ha identificado como el factor más importante en el proceso de angiogénesis tumoral o angiogénesis patológica/anormal, además de otras enfermedades. Se conoce que el bloqueo del VEGF en pacientes con cáncer, inhibe el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos tumorales, y provoca la regresión de los vasos sanguíneos pre-existentes. Con esta información, el VEGF se transforma en un importante blanco terapéutico para el tratamiento de tumores sólidos. Para el desarrollo de nuevas y mejores moléculas con actividad anti-VEGF, es necesario, poder producir y caracterizar grandes cantidades de VEGF humano. Con este propósito, el presente trabajo se enfocó en el desarrollo de un vector adenoviral conteniendo el gen del VEGF<sub>121</sub> humano (Adh-VEGF<sub>121</sub>) Mediante transducción de células de mamíferos, fue posible expresar altas concentraciones de VEGF en las células transducidas. Se estableció un proceso de purificación que permite recuperar el VEGF<sub>121</sub> con mas de un 98% de pureza. El VEGF recombinante obtenido se expresa en forma dimérica y demostró ser biológicamente activo tanto en ensayos de proliferación, *in vitro*, como en ensayos de angiogénesis, *in vivo*.

## 2. ABSTRACT

The vascular endothelial growth factor is a homodimeric protein and has been identified as the most important factor in the process of tumor angiogenesis and pathologic angiogenesis/ abnormal and other disease. It is known that blockade of VEGF in cancer patients, inhibits the growth of new of new tumor blood vessels, causing regression of pre-existing blood vessels. With this information, the VEGF becomes an important therapeutic target for the treatment of solid tumors. For the development of new and improved molecules with anti-VEGF it is necessary to characterize and produce large quantities of human VEGF. For this purpose, this work has focused on the development of an adenoviral vector containing the human VEGF<sub>121</sub> gene (Adh-VEGF<sub>121</sub>) by transduction of mammalian cells, it was possible to express high levels of VEGF in transduced cells. Established a purification process that allows to recover the VEGF<sub>121</sub> with more than 98% purity. The obtained recombinant VEGF in dimeric form is expressed and shown to be biologically active in both proliferation assays *in vitro* angiogenesis assays and *in vivo*.