

# Cultivo de células CHO en suspensión para la producción de anticuerpo quimérico anti factor de necrosis tumoral (TNF) humano

Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias de la Ingeniería, Mención  
Ingeniería Química Memoria para optar al título de Ingeniero Civil en Biotecnología

Por:

**Jaime Enrique Peña Álvarez**

Profesor Guía: Juan A. Asenjo De Leuze

**Santiago de Chile - Mayo 2011**

No autorizada por el autor a ser publicada a texto completo en Cybertesis.

Miembros de la Comisión: Bárbara A. Andrews Farrow, Ziomara P. Gerdzen Hakim, Marco Tulio  
Nuñez González, Juan Carlos Aguillón Gutiérrez y María Carmen Molina Sampayo



<b>Resumen . .</b>	<b>4</b>
<b>No disponible a texto completo . .</b>	<b>5</b>

## Resumen

La biotecnología ha adquirido un rol fundamental en la industria de producción de biofármacos, la cual ofrece nuevas alternativas para el tratamiento de diversas enfermedades. Entre los más utilizados están los anticuerpos monoclonales, los cuales se utilizan para el tratamiento de enfermedades autoinmunes, cáncer, rechazo de trasplante renal, tratamiento de cardiopatía coronaria, prevención de enfermedades infecciosas, diagnóstico clínico, aplicaciones industriales e investigación. Son producidos principalmente por células modificadas genéticamente, como por ejemplo la línea celular CHO-K1. En este caso, se produce el anticuerpo monoclonal recombinante anti factor de necrosis tumoral alfa, el cual se utiliza en el tratamiento de artritis reumatoide y otras enfermedades. Es por ello que se planteó desarrollar un cultivo celular en suspensión libre de componentes animales para realizar ensayos preclínicos, para la posterior administración de este anticuerpo a pacientes que lo necesitan.

Se purificaron desde un cultivo bacteriano de *Escherichia coli DH5α* los plasmidios que contienen los genes que codifican para las cadenas del anticuerpo, se co-transfectaron células CHO-K1 con aquellos plasmidios, se seleccionó el mejor clon productor, y se caracterizó su crecimiento en adherencia suplementado con 10%, 0% v/v suero fetal bovino (FBS), y en suspensión en matraces Erlenmeyer sin FBS, proceso que fue realizado luego de muchos pasajes sucesivos. El estado metabólico de cada condición se puede apreciar en la razón lactato producido sobre glucosa consumida. Se observó que al cambiar el FBS por diversos suplementos alimenticios, la concentración de células viables máxima (de  $1,87 \cdot 10^6$  cels/ml a  $1,17 \cdot 10^6$  cels/ml), viabilidad y tasa específica de crecimiento (de  $0,038 \text{ hr}^{-1}$  a  $0,027 \text{ hr}^{-1}$ ) disminuyeron ligeramente, y la productividad de anticuerpo medida en absorbancia a 405 nm (de 0,155 a 0,414) y la tasa específica de absorbancia (de  $0,0083 [10^6/(\text{hr} \times \text{cels})]$  a  $0,012 [10^6/(\text{hr} \times \text{cels})]$ ) aumentaron ligeramente, lo cual muestra que el cambio de medio de cultivo hizo que el clon creciera más lentamente, pero fuera un mejor productor.

Los cambios más drásticos en las variables medidas fueron observados en el cultivo en suspensión sin FBS, las cuales siguieron la misma tendencia anterior (concentración de células viables máxima de  $0,34 \cdot 10^6$  cels/ml y tasa específica de crecimiento de  $0,009 \text{ hr}^{-1}$ ), con la excepción de la productividad de anticuerpo, ya que la concentración de células viables fue demasiado baja para mostrar una producción de anticuerpo significativa. Además, la concentración de lactato estuvo en niveles inhibitorios al segundo día de cultivo. Analizando los perfiles metabólicos, se observó que las células en suspensión utilizaron la energía sólo para mantención, crecieron muy poco y luego murieron. Este fenómeno pudo haber ocurrido porque no se utilizó el medio de cultivo, concentración de nutrientes, suplementos, estrategia de alimentación, modo de operación del biorreactor, protocolo de adaptación y/o vectores de expresión adecuados, con lo cual queda propuesta una serie de estrategias para mejorar el comportamiento de los clones en cultivos futuros.

# No disponible a texto completo

No autorizada por el autor a ser publicada a texto completo en Cybertesis.