

Tabla de Contenido

1. Introducción	1
1.1. Antecedentes Generales	1
2. Marco Teórico	3
2.1. Cultivos en Perfusión	3
2.2. Caracterización Metabólica	4
2.3. Análisis de Flujos Metabólicos	5
2.4. PCV2 y su Producción en Células PK15	7
2.5. Producción en Hipotermia Moderada	8
2.6. Escalamiento de Cultivos de Células Mamíferas	9
2.7. Control en Cultivos de Células Mamíferas	11
3. Materiales y Métodos	14
3.1. Materiales	14
3.1.1. Reactivos	14
3.1.2. Equipos	15
3.1.3. Material de Laboratorio	15
3.2. Métodos	16
3.2.1. Cultivos Preliminares en Pseudoperfusión	16
3.2.2. Medición de Metabolitos	16
3.2.3. Caracterización del Metabolismo	17
3.2.4. Alimentación para Pseudoperfusión	19
3.2.5. Cultivos Mejorados en Pseudoperfusión	19
3.2.6. Análisis de Flujos Metabólicos	20
3.2.7. Infecciones de Cultivos Adherentes con PCV2	20
3.2.8. Infección con PCV2 en Pseudoperfusión	21
3.2.9. Análisis de Agitación	22
3.2.10. Análisis de Aireación	23
4. Resultados y Discusiones	25
4.1. Estudio del Cultivo en Pseudoperfusión	25
4.1.1. Cultivos Preliminares	25
4.1.2. Alimentación para Cultivos a Baja Perfusión	27
4.1.3. Cultivos Mejorados en Pseudoperfusión	28
4.1.4. Análisis de Flujos Metabólicos (MFA)	30
4.1.5. Propuesta Final de Medio para Alimentación	31

4.2.	Estudio de la Producción de PCV2	33
4.2.1.	Pruebas del Protocolo Original de Infección	33
4.2.2.	Infección con Concanavalina A	34
4.2.3.	Infección en Hipotermia Moderada	34
4.2.4.	Infección en Pseudoperfusión	35
4.3.	Análisis para el Escalamiento	37
4.3.1.	Tren de Inoculación	37
4.3.2.	Producción de PCV2	38
4.3.3.	Análisis de Agitación y Aireación	42
4.3.4.	Análisis de Instrumentación y Control	43
5.	Conclusiones	45
6.	Anexos	46
	Anexo 1: Reacciones del Modelo Metabólico	46
	Anexo 2: Composición del Medio Basal	48
	Anexo 3: Mediciones de Aminoácidos, Tasas y Flujos Metabólicos (Cultivo Preliminar) .	49
	Anexo 4: Mediciones de Aminoácidos, Tasas y Flujos Metabólicos (Cultivo Mejorado) .	52
7.	Bibliografía	55