

DISEÑO DE UN MICROBIORREACTOR TIPO TANQUE PARA APLICACIONES BIOFARMACÉUTICAS

David Bulnes Abundis, José Manuel Aguilar Yáñez, Alfonso García Ulloa, Gayathree Murugappan y Mario Moisés Álvarez, Centro de Biotecnología FEMSA. Tecnológico de Monterrey. Eugenio Garza Sada 2501 sur, Colonia Tecnológico, CP 64849, Monterrey, Nuevo León, México, [Tel y Fax:\(81\)81582200](mailto:mario.alvarez@itesm.mx) ext 5060. mario.alvarez@itesm.mx

Palabras clave: Biorreactor, screening, biofarmacéutica, tanque agitado

Introducción. Los biorreactores tipo tanque son los sistemas más frecuentemente utilizados para la producción de biofármacos. Particularmente, estos sistemas son utilizados en la producción de proteínas recombinantes en ambientes aeróbicos y frecuentemente a partir de células altamente sensibles al estrés mecánico inducido por agitación (v. gr. Células de mamífero). Sin embargo, para aplicaciones biofarmacéuticas de “screening” de condiciones de proceso, los sistemas tipo tanque mas pequeños disponibles comercialmente son de 300 mL. Para volúmenes menores a este, continúan utilizándose botellas de cultivo o matraces Erlenmeyer, muy diferentes en geometría a los sistemas biorreactor que se utilizarán en escalas superiores. La presente contribución ilustra el uso de un reactor tipo tanque de 30 mL para aplicaciones de cultivo de células bacterianas recombinantes y células de mamífero (células stem y células CHO).

Metodología. Se diseñó un reactor prototipo de 30 mL de volumen efectivo con dos características esenciales para minimizar estrés mecánico y maximizar eficiencia de mezclado en escalas pequeñas: agitación excéntrica con un impulsor de disco inclinado sin aspas. La capacidad de mezclado a bajas velocidades del biorreactor fue estudiada utilizando técnicas experimentales de visualización de patrones de mezclado por inyección de trazadores fluorescentes, análisis de imágenes y simulaciones computacionales de dinámica de fluidos (CFD por sus siglas en inglés). Para validar su desempeño como biorreactor, el sistema fue utilizado para cultivar células recombinantes de *Escherichia coli*, células stem hematopoyéticas humanas y células de ovario de hamster chino (CHO).

Resultados y discusión. La Figura 1a presenta los patrones de mezclado observados en el biorreactor propuesto vía experimentos de visualización con trazadores fluorescentes. La figura 1b muestra el campo de velocidades calculado por simulaciones CFD que demuestran la capacidad de circulación axial del sistema. El sistema es capaz de mezclar adecuadamente a bajas velocidades (aún en régimen laminar). La figura 2 muestra curvas de crecimiento de células recombinantes de

Escherichia coli, cultivadas en el microbiorreactor. El desempeño del cultivo en cuanto a la tasa específica de crecimiento, la densidad celular máxima y la concentración final de producto fue similar en el microbiorreactor con respecto a cultivos en matraces Erlenmeyer y reactores instrumentados de 300 mL. Resultados de crecimiento y viabilidad adecuados se observaron en experimentos de cultivo de células de mamífero, células stem hematopoyéticas humanas y células CHO en el biorreactor propuesto.

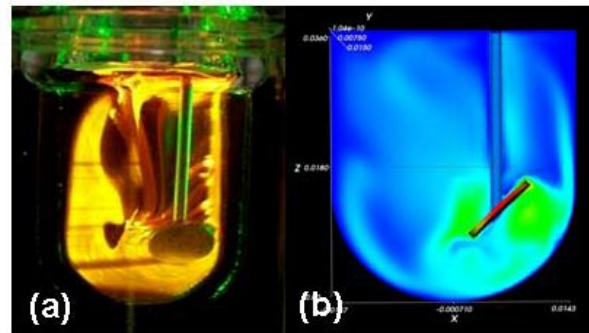


Figura 1.- Caracterización patrones de flujo en el biorreactor.

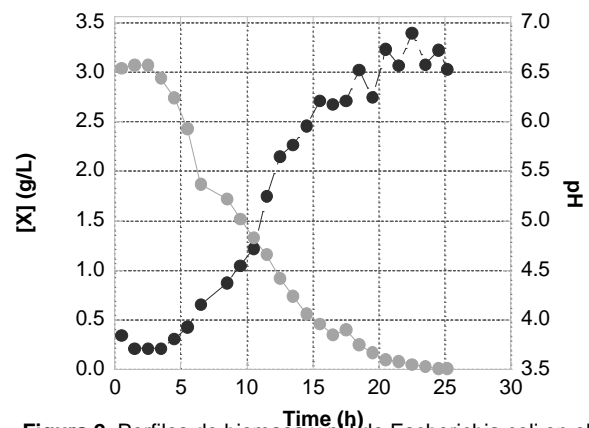


Figura 2. Perfiles de biomasa y pH de *Escherichia coli* en el microbiorreactor

Conclusiones. El Sistema de reacción propuesto exhibe adecuado desempeño en cuanto a su capacidad de mezclado a bajas velocidades y de cultivo de células bacterianas aeróbicas y células de mamífero.