



DESARROLLO DE ESTRATEGIAS DE ALIMENTACIÓN PARA INCREMENTAR LA PRODUCCIÓN DE PARTÍCULAS PSEUDOVIRALES DE ROTAVIRUS EN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*.

Martha A. Contreras, Ramón Carrasco, Ana Ruth Pastor, Octavio Tonatiah Ramírez y Laura A. Palomares
Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México Apdo. Postal. 510-3. Cuernavaca, Morelos, CP. 62210, México.

alicia@ibt.unam.mx, laura@ibt.unam.mx

Palabras clave: Rotavirus, PPRs, lote alimentado

Introducción.

La infección por rotavirus es considerada la principal causa de diarrea neonatal bovina en el mundo [1], causando grandes pérdidas económicas. Como una alternativa a las vacunas actuales que contienen virus atenuados o inactivados, se han explorado las vacunas recombinantes basadas en partículas pseudovirales de rotavirus (PPR), las cuales han sido expresadas en células de insecto. La desventaja es que los costos de producción pueden resultar poco rentables para el mercado de vacunas veterinarias [2]. Nuestro grupo desarrolló una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* capaz de producir PPR [3], las cuales además disminuyeron la replicación de partículas infecciosas de rotavirus, en modelo murino [4]. Sin embargo, las productividades volumétricas de PPR fueron menores a las obtenidas en células de insecto.

En este trabajo, se desarrolló una estrategia de alimentación, modificando la velocidad de alimentación exponencial utilizada previamente y reformulando el medio de alimentación. Con la finalidad de incrementar la producción de PPR y obtener una vacuna más eficiente.

Metodología. Se realizaron cultivos en modo lote alimentado, se evaluaron tres formulaciones de alimentación (leucina, glutamato y succinato (LGS), y dos fuentes de cas aminoácidos [hidrolizado o peptona de caseína]). La velocidad de alimentación exponencial fue modificada de 0.8 de la velocidad de crecimiento máxima al 0.5. Las PPR fueron recuperadas del pellet celular mediante ruptura mecánica y centrifugación. La concentración de PPR se estimó a partir de la concentración de proteína estructural VP6 mediante ensayo de ELISA. Se analizó la capacidad inmunogénica de las PPR en un modelo murino, a través de la inmunización de grupos de 5 ratones con 3µg de VP6.

Resultados.

Tabla 1. Concentración máxima de VP6 y glucosa acumulada en cultivos lote alimentado.

Suplemento	VP6 (µg/ml)	Glucosa (g/L)
LGS	7	40
Peptona	26	4
Hidrolizado	38	2
Cas aminoácidos [5]	N/A	80

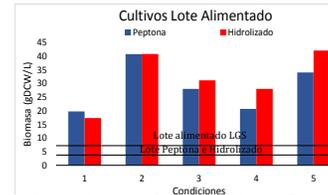


Fig. 1. Biomasa máxima alcanzada en cultivos *S. cerevisiae*. Las líneas indican la máxima biomasa alcanzada en cultivos lote con cas aminoácidos y lote alimentado con LGS (3.7g/L peptona, 3.8g/L hidrolizado y 9g/L LGS feed).

Tabla 2. Títulos de anticuerpos anti-VP6 en suero de ratones inmunizados con PPR

Suplemento	IgG's
LGS	1:267
Hidrolizado	1:583

Conclusiones.

La estrategia de alimentación estudiada evitó la acumulación de glucosa. La mayor concentración de biomasa fue obtenida como resultado de un consumo balanceado de glucosa y cas aminoácidos. Se logró incrementar entre tres y cinco veces la concentración de VP6 al suplementar cas aminoácidos. Las máximas productividades específicas y volumétricas se obtuvieron con hidrolizado de caseína. Los títulos de anticuerpos anti VP6 en suero de ratón aumentaron al doble con respecto a los reportados previamente [4]. El proceso desarrollado a escala laboratorio para la producción de PPR en *S. cerevisiae* es una estrategia atractiva para producir una vacuna veterinaria.

Agradecimiento. Apoyo financiero FINNOVA 214452, PAPIIT UNAM IT 20011 e InnoBa. Apoyo técnico R Román V. Hernández y O Niño.

Bibliografía

- Martella V, Banyai K, Matthijnsens J, Buonavoglia C, Ciarlet M. (2010). *Vet Microbiol.* 140(3-4):246-55
- Palomares LA, Ramirez OT. (2009). *Biochemical Engineering Journal.* 45(3):158-167.
- Rodríguez-Limas WA, Tyo KE, Nielsen J, Ramírez OT, Palomares LA. (2011). *Microb Cell Fact.* 10(1):33
- Rodríguez-Limas WA, Pastor AR, Esquivel-Soto E, Esquivel-Guadarrama F, Ramírez OT, Palomares LA. (2014). *Vaccine.* (32):2794-2798.
- Paciello L, de Alteriis E, Mazzoni C, Palermo V, Zueco J and Parascandola P. (2009) *Microb Cell Fact.* 8(70):13