



EXPERIENCIAS PRÁCTICAS EN LA RECUPERACIÓN Y PURIFICACIÓN DE CÉLULAS MADRE CD133⁺ EXPLOTANDO PLATAFORMAS DE AFINIDAD

Mirna González-González, Centro de Biotecnología-FEMSA, Tecnológico de Monterrey Campus Monterrey, Monterrey
Richard C. Willson, Department of Chemical and Biomolecular Engineering, University of Houston
Centro de Biotecnología-FEMSA, Tecnológico de Monterrey
Marco Rito-Palomares, Centro de Biotecnología-FEMSA, Tecnológico de Monterrey Campus Monterrey, Monterrey 64849, mrito@itesm.mx.

Palabras clave: anticuerpo CD133⁺, células madre, purificación.

Introducción. La necesidad de desarrollar un método novedoso de purificación que sea rápido, sensible, escalable y que garantice la pureza y rendimiento del proceso, sin comprometer la viabilidad y calidad de las células recuperadas es esencial debido a que el éxito del trasplante de células madre depende en gran medida de la efectividad del método de separación y purificación implementado. Por tal motivo, se ha emprendido un gran esfuerzo para generar nuevas plataformas para la recuperación de células madre. Especial atención se ha colocado en las células CD133⁺, ya que han demostrado resultados prometedores para tratar diversas enfermedades crónico-degenerativas.

Dentro de las plataformas propuestas destaca el uso de técnicas no convencionales tales como los sistemas de dos fases acuosas de afinidad (SDFAA). Dichos sistemas explotan una alta especificidad al incorporar el anticuerpo de interés. Desgraciadamente, el empleo de anticuerpos disponibles comercialmente puede resultar en una cifra considerablemente costosa, lo cual disminuye las ventajas de los SDFAA. Para minimizar este aspecto, se manufacturó el anticuerpo de interés y se comparó con el disponible comercialmente.

El objetivo del presente trabajo fue la caracterización del anticuerpo CD133 manufacturado y comparar su desempeño con los anticuerpos CD133/2 y CD133/1 de Miltenyi Biotec, para su posterior empleo en SDFAA.

Metodología. Se realizaron diversos ensayos incluyendo barrido UV, electroforesis en gel de poliácridamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE) y citometría de flujo, con la finalidad de comparar, tanto las propiedades físico-químicas, como el desempeño del anticuerpo manufacturado y los comerciales.

Resultados. El anticuerpo CD133 manufacturado tiene una concentración de 4.88 mg/mL, mientras que los anticuerpos CD133/2 y CD133/1 de Miltenyi 50 µg/mL. Debido a esto, sólo se presenta el espectro UV (250-240 nm) del anticuerpo CD133 manufacturado (Fig. 1), donde se observa que la máxima densidad óptica se alcanza a los 280 nm, concordando con la máxima absorción de moléculas proteicas. En la Fig. 2 se muestran los SDS-PAGE de ambos anticuerpos. Las bandas de las cadenas ligeras (25 kDa) y pesadas (50 kDa) coinciden, la diferencia es la pureza y concentración de los anticuerpos.

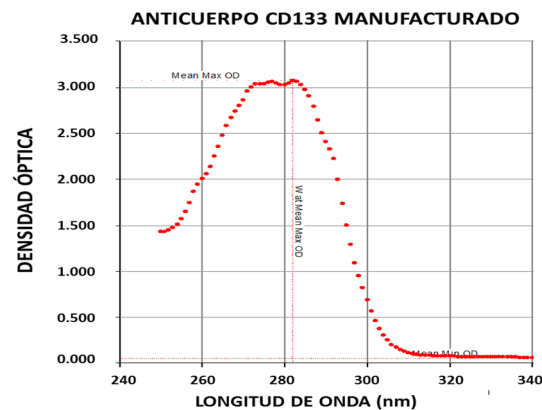


Fig. 1. Espectro UV del anticuerpo CD133 manufacturado.

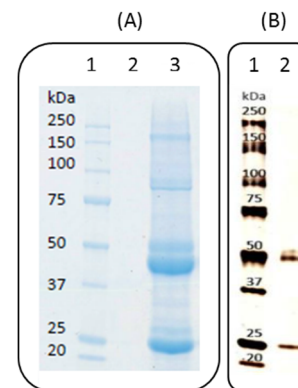


Fig. 1. SDS-PAGE (A) Tinción con azul de Coomassie de (1) marcador molecular y (3) anticuerpo CD133 manufacturado y (B) tinción de plata de (1) marcador molecular y (2) anticuerpo CD133/2 Miltenyi Biotec.

Conclusiones. Los análisis de barrido UV y SDS-PAGE muestran que los perfiles de ambos anticuerpos coinciden. Adicionalmente, los análisis de citometría de flujo demostraron que los anticuerpos de Miltenyi CD133/1 y CD133/2 reconocen las epítopes 1 y 2, respectivamente, mientras que el anticuerpo CD133 manufacturado reconoce la epítipo 1. Esto demuestra la viabilidad de emplear el anticuerpo CD133 manufacturado en SDFAA para la recuperación de células madre CD133⁺.

Agradecimiento. Los autores agradecen el apoyo financiero del grupo de Bioprocesos y Biología sintética del Tecnológico de Monterrey (Cuenta 0821C01004), la fundación Zambrano-Hellion y al CONACyT por el fondo 179775.