



ESTUDIO DEL CONSUMO Y PRODUCCIÓN DE METABOLITOS EN CÉLULAS CHO-S MEDIANTE CULTIVO DE CÉLULAS SINCRONIZADAS

Francisco Javier García Monroy; Daniela López Hernández; José Antonio Serrato Pérez; Departamento de Bioquímica, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. México D.F. C.P. 14080. Email: qfb.javiergm@gmail.com

Palabras clave: sincronización celular, ciclo celular, metabolismo celular.

Introducción. La investigación en el mejoramiento de los procesos de producción de proteínas recombinantes se ha centrado principalmente en el estudio y modificación de la fisiología y metabolismo celular así como el desarrollo de novedosas estrategias de control de proceso, sin embargo, los estudios realizados al respecto se han llevado a cabo en cultivos que por su modo de operación no permiten evaluar el impacto de la heterogeneidad de la población (con respecto al ciclo celular) en la dinámica de los bioprocesos. El cultivo de líneas celulares de manera sincronizada permite estudiar la contribución del ciclo celular en los múltiples procesos biológicos implicados en la producción de proteínas recombinantes, como la expresión de genes, la síntesis y secreción de proteínas, el metabolismo celular y la glicosilación de proteínas (1).

El objetivo del presente trabajo fue estudiar el comportamiento cinético del crecimiento y el perfil de consumo y producción de metabolitos (glucosa, glutamina y lactato) en cultivos sincronizados de células CHO-S, como una estrategia novedosa para estudiar la relación entre el ciclo celular y el metabolismo de una línea celular de importancia industrial.

Metodología. Se utilizó la línea celular CHO-S (Gibco, Cat. A11364-01) cultivada en medio químicamente definido Cell Vento CHO-S 100 (Merck, Catálogo 1.00899). Se realizaron cultivos en minibiorreactores (Aplikkon) inoculados a 0.1×10^6 cel/mL a las siguientes condiciones: vol. 300 mL, pH 7.20, DO 50%, 37 °C y agit. 200 rpm con el fin de realizar la caracterización cinética del crecimiento tradicional (no sincronizado) de la línea celular y para obtener concentraciones celulares suficientes para sincronizar células en la fase G1. La sincronización celular se realizó por el método de elutriación centrífuga de acuerdo al procedimiento y sistema utilizado por Mendoza, 2014. A partir de la subpoblación G1, se realizaron cultivos sincronizados en frascos Spinner a 37 °C, agit. 180 rpm y humedad a saturación, a los cuales se les determinó el perfil de crecimiento celular y las concentraciones de glucosa, lactato y glutamina cada dos horas durante 36 horas.

Resultados. Se evaluó el comportamiento cinético de crecimiento y consumo/producción de metabolitos en cultivos sincronizados y cultivos control no sincronizados (veáse Figura 1 y Tabla 1)

Tabla 1. Parámetros cinéticos del crecimiento tradicional (no sincronizado) en biorreactor de células CHO-S

Velocidad específica de crecimiento (μ)	Concentración celular máxima viable	Tiempo de duplicación
0.0331 hrs^{-1}	$4.4 \times 10^6 \text{ cel/mL}$	20.94 horas

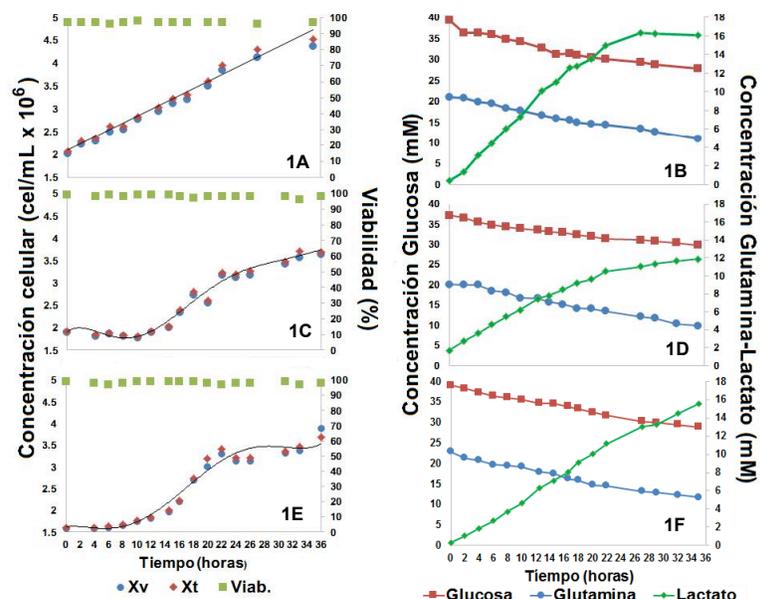


Fig. 1. Perfil de crecimiento (izquierda) y consumo-producción de metabolitos (derecha) de células CHO-S. Cultivo no sincronizado (1A, 1B) vs cultivos sincronizados (1C, 1D, 1E, 1F). Xv, Conc. células viables; Xt, Conc. células totales; Viab., Viabilidad

Conclusiones. El cultivo de células sincronizadas en la fase G1 del ciclo celular mostró un comportamiento de crecimiento escalonado, lo cual indica la progresión sincronizada a lo largo del ciclo celular en comparación con el crecimiento típico exponencial de cultivos no sincronizados. Se observaron diferencias en los niveles de producción de lactato entre cultivos sincronizados y cultivos control (no sincronizados).

Agradecimiento. Al proyecto CONACyT CB-2010-155653. A la Dra. Angélica Meneses de la UAEM por el uso del multianalizador enzimático YSI 2900.

Bibliografía

- Banfalvi G. (2011) Overview in Cell Synchronization. En: Methods in Molecular Biology, No. 761: Cell Cycle Synchronization. Methods and Protocols. Banfalvi G. USA: Ed. Humana Press. 1-23
- Mendoza J. (2014) Desarrollo de un sistema de cultivo de células animales sincronizadas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM. México, D.F.