



DESARROLLO DE UN SISTEMA DE CULTIVO DE CÉLULAS ANIMALES SINCRONIZADAS COMO UNA ESTRATEGIA PARA EL ESTUDIO Y OPTIMIZACIÓN DE LOS PROCESOS DE PRODUCCIÓN DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES

¹Jocelyne Elena Mendoza Pérez, ²Vanessa Hernández Rodríguez, ¹José Antonio Serrato Pérez. ¹Departamento de Bioquímica, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. México D.F., C.P 14080. ²Instituto de Biotecnología, UNAM. Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos. Cuernavaca, Morelos. C.P. 62250. Email: jocelyneqfb@gmail.com

Palabras clave: Cultivo sincronizado, Ciclo celular, Elutriación Centrífuga.

Introducción. La ingeniería del cultivo celular es hoy día la tecnología estándar para la producción de un número importante de proteínas recombinantes de uso terapéutico¹. Buena parte de la investigación en el campo se ha centrado en el estudio y resolución de problemas de heterogeneidad medioambiental de los cultivos con la finalidad de optimizar la cantidad y más recientemente la calidad de las proteínas producidas de interés². Sin embargo, los cultivos celulares convencionales son altamente heterogéneos con respecto a la fisiología y el metabolismo celular aún cuando operan bajo condiciones de cultivo bien controladas debido a que la población celular se encuentra segregada en las diferentes fases del ciclo celular, por tanto, los resultados obtenidos son aparentes y no proporcionan información detallada del estado fisiológico y metabólico de las células durante su progresión en el ciclo celular. En el presente trabajo se implementó un sistema y proceso de cultivo de células sincronizadas en minibioreactores como una estrategia para el estudio y optimización de los procesos de producción de proteínas recombinantes.

Metodología. Cultivo celular: Se cultivaron células de Hibridoma murino BCF2 en minibioreactores (Applikon) con la finalidad de separar células en la fase G1 del ciclo celular para realizar cultivos celulares sincronizados. El medio de cultivo empleado fue CD-Hybridoma suplementado con 8mM de L-glutamina. **Crecimiento y viabilidad:** Se determinaron mediante la técnica de exclusión del colorante azul Tripano y conteo utilizando cámara de Neubauer. **Ciclo celular:** La determinación y cuantificación de las poblaciones celulares en las diferentes fases del ciclo celular se realizó mediante citometría de flujo. **Cuantificación de metabolitos:** Se determinó la producción de Lactato y el consumo de L-Glutamina y Glucosa en un multianalizador enzimático YSI 2950.

Resultados. Se implementó un sistema y proceso de cultivo de células sincronizadas integrado por un sistema de elutriación centrífuga a contracorriente, un sistema de inyección de células y dos sistemas de cultivo celular en minibioreactores instrumentados. Se realizaron separaciones de células BCF2 en las diferentes fases del ciclo celular para determinar las condiciones en que se obtendrían dichas poblaciones celulares con alta pureza. Se emplearon células en la fase G1 del ciclo celular con

una pureza mayor al 90% para realizar cultivos de células sincronizadas.

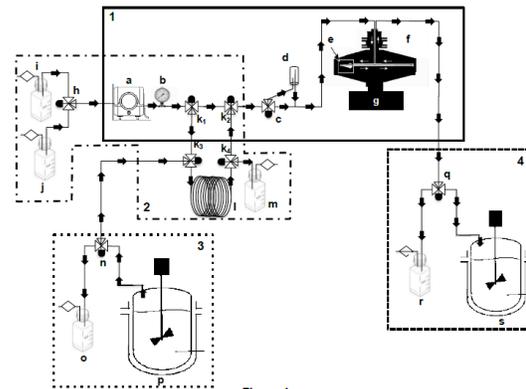


Figura 1. Esquema del sistema de cultivo de células sincronizadas. 1. Sistema de elutriación centrífuga a contracorriente. 2. Sistema de inyección de células. 3. Sistema de cultivo de células no sincronizadas. 4. Sistema de cultivo de células sincronizadas.

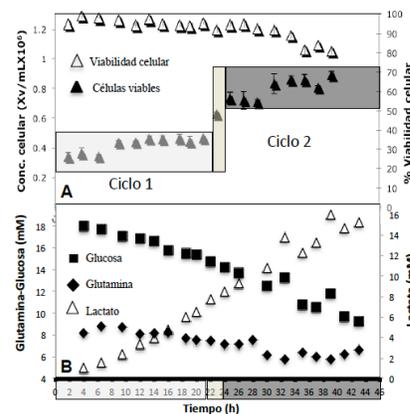


Figura 2. Cultivo de células BCF2 sincronizadas en la fase G1 del ciclo celular. A, cinética de crecimiento celular. B, cinética de consumo y producción de metabolitos.

Conclusiones. Se implementó un sistema y proceso de cultivo de células sincronizadas, con alta pureza y concentración celular, en particular la fase G1 del ciclo celular. Dicho sistema y proceso se empleó para realizar cultivos sincronizados de células BCF2.

Agradecimiento. Agradecimiento al proyecto CONACyT CB-2010 155653. Al Dr. Paul Mondragón del lab. de Medicina Regenerativa del Centro Médico 20 Noviembre.

Bibliografía

- Ozturk, S. (2006). Cell culture technology-an Overview. In cell culture technology for pharmaceutical and cell based therapies, Ozturk S and Hu WS eds. Taylor and Francis. USA. pp. 1-13.
- Lara et. al., (2006). Mol Biotechnol 34(3):355-81.