



## IDENTIFICACIÓN DE UNA PROTEÍNA OBTENIDA DE LA HEMOLINFA DE LA *LONOMIA OBLIQUA* USADA EN LA OPTIMIZACIÓN DE LA REPLICACIÓN DEL BACULOVÍRUS

Sousa A P B<sup>1</sup>, Carvalhal A V<sup>3</sup>, Peixoto C C<sup>3</sup>, Maranga L<sup>3</sup>, Moraes R H P<sup>2</sup>, Pereira C A<sup>1</sup>, Carrondo M J T<sup>3</sup>, Mendonça R Z<sup>1</sup>; Laboratório de Artrópodes<sup>2</sup>. Instituto Butantan - São Paulo - Brasil. Instituto de Biología Experimental e Tecnologia (IBET)<sup>3</sup>, Oeiras - Portugal. Laboratório de Imunologia Viral<sup>1</sup>, Instituto Butantan. Avenida Vital Brasil 1500, Butantan. São Paulo, capital. Brasil. CEP: 05503-900; telefone: ++55 11 37267222 (ext. 2082); fax: ++55 11 37261505 e-mail: [zucатели@butantan.gov.br](mailto:zucатели@butantan.gov.br)

Palabras clave: *Lonomia obliqua*, baculovirus, hemolinfa

**Introducción:** El sistema baculovirus-células de insecto se han usado intensamente para la producción de proteínas recombinantes. Este sistema tiene varias ventajas, incluso de permitir la producción de proteínas recombinantes funcionales y inmunogenicamente activas, y la formación de modificaciones pós-traslacionais y tener la presencia de un fuerte promotor (la poliedrina, Kim *et al*, 2000). Solamente muy recientemente algunos trabajos han surgido demostrando el efecto positivo de la hemolinfa en la promoción del crecimiento viral (Rhee and Park, 2000; Rhee et al 1999, Kanaya and Kobayashi 2000) y en la producción de proteínas recombinantes (Woo et al 1997). Hay factores que, identificados y aislados, pueden ser de grand ayuda en la optimización del crecimiento celular, en la replicación del baculovirus para la producción de bioinsecticidas que no atacan el ambiente, y en la producción de proteínas recombinantes, permitiendo obtener cultivos celulares más eficazes y productos de costo más pequeño.

**Objetivo del trabajo.** El objetivo del trabajo es la optimización de la producción de poliedros y replicación del baculovirus, mientras usando hemolinfa de la *lonomia obliqua*.

**Metodología.** Las células fueran cultivadas en mediun Grace (Gibco) agregado con 0,35 g de NaHCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>, 10% de suero fetal bovino y 1% de hemolinfa, con un volume de trabajo 13 ml en frascos Shott. Los cultivos fueran iniciados con un inóculo inicial de 3,5x10<sup>5</sup> células/ml mantenidas a 28 ° C, bajo agitación de 100 rpm. Baculovirus usado era el *Autographa gemmatails* (AgMNPV). La infección de las células fueran hechas con dos días de cultivo, con una multiplicidad de infección (MOI) 1. Se probó el efecto de la hemolinfa (HB), en diferentes tiempos, siendo; 50 minutos antes de la infección; agregando la hemolinfa en el momento de la infección; o entonces agregando la hemolinfa 50 minutos después de la infección. Fueran mensuradas, la viabilidad celular por tinción con trypan blue, la cinética de producción de poliedros, y la titulación final del virus

**Resultados y discusión.** Nosotros identificamos una producción más grand de células en todos los cultivos donde se agrega hemolinfa em las culturas. Los títulos virales fueran más grande cuando la hemolinfa foé agregada ao

cultivo en el momento de la infección o entonces cuando la hemolinfa foé agregada 50 minutos antes de la infección. En las mismas condiciones también observamos una producción más grande de poliedros (fig.1.).

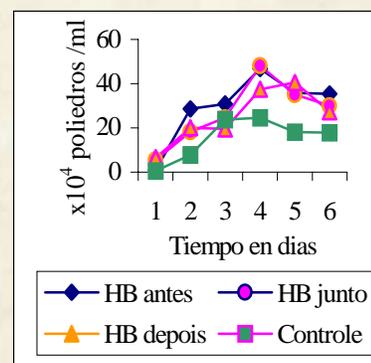


Fig. 1. Cinética de producción de poliedros en células SF-9 infectadas con Baculovirus y 1% de la hemolinfa de la *Lonomia obliqua*

**Conclusiones.** Por estos dados podremos concluir que se puede obtener una maior producción de células, de virus y de poliedros por la agregación de hemolinfa (HB) de la *Lonomia obliqua*, aos cultivos de células.

**Agradecimiento:** Los autores agradecen al apoyo financiero recibido para L. Maranga del la Fundación para la Ciencia y Tecnología - Portugal (Praxis XXI/BD/16136/98) y por el apoyo recibido por R.Z. Mendonça, del la Fapesp - Brasil (01/09040-8; 03/01936-8) y por A.P.B. Sousa del la CAPES.

### Bibliografía:

1. Maranga, L.; Mendonça, RZ; Bengala, A; Peixoto, CC; Moraes, RHP; Pereira, CA; Carrondo, MJT. (2003). Enhancement of SF-9 cell growth and longevity through supplementation of culture medium with hemolymph. *Biotechnol. Prog.* (19):58-63.
2. Rhee W. J.; Park, T. H. (1999). Kinetic effect of silkworm hemolymph on the delayed host cell death in an insect cell-baculovirus system. *Biotechnol. Prog.* (15): 1028-1032
3. Sousa, APB; Peixoto, CC; Maranga, L; Carvalhal AV; Moraes, RHP; Mendonça, RMZ; Pereira, CA; Carrondo, MJT; Mendonça, RZ. (2005). Purification and characterization of an anti-apoptotic protein isolated from *Lonomia obliqua* hemolymph. *Biotechnol. Prog.* (21): 99-105