



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## MUERTE CELULAR PROGRAMADA EN CELULAS HEK293

Violeta Guadarrama Pérez<sup>1</sup>, Carlos Tavira Montalván<sup>1</sup>, Johnattan Salazar León<sup>2</sup>, Oscar Peralta Zaragoza<sup>2</sup>, Horacio Merchant Larios<sup>3</sup>, Angélica Meneses Acosta<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. <sup>2</sup> Instituto Nacional de Salud Pública, Institutos Nacionales de Salud Pública de México. <sup>3</sup> Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Av Universidad 1001, Col. Chamilpa. Cuernavaca, Morelos. Teléfono: (52) 777 3297 089. e-mail: angelica\_meneses@uaem.mx

*Palabras clave: muerte celular, HEK293, adenovirus tipo 5.*

**Introducción.** La línea celular HEK293 (1), derivada de riñón de embrión humano es muy utilizada como plataforma de producción para vectores virales y en la producción de proteínas recombinantes por lo que el conocimiento sobre los estímulos que pueden afectar su integridad es importante para la mejora de las productividades.

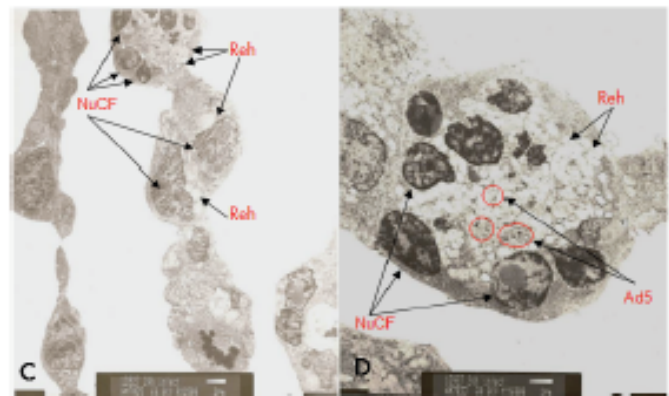
A la fecha, la información que existe acerca de la muerte celular que desarrolla esta línea bajo diferentes condiciones es limitada y controversial (2) ya que se sabe que dentro de la región E1, las proteínas E1A pueden reprimir la transcripción de genes específicos mediante la interacción con pRb (3), por lo que podría relacionarse con una desregulación del ciclo celular causando apoptosis o autofagia; pero por otro lado, se ha reportado que específicamente la proteína E1B bloquea la proteína p53, por lo que quizás el proceso apoptótico no se lleve a cabo. Además se sabe que la interacción de otras proteínas tempranas del genoma del Ad5, como la E4, junto con la E1B, puede aumentar el bloqueo de p53.

Por ello, en este trabajo se planteó como objetivo el identificar el tipo de muerte celular desarrollado por HEK293 en cultivos estáticos en respuesta a diferentes condiciones de estrés tales como temperatura, carencia de factores de crecimiento e infección con adenovirus Ad5 silvestre.

**Metodología.** La línea celular HEK293 fue cultivada en medio DMEM-F12 al 10% de SFB dentro de una atmósfera al 5% de CO<sub>2</sub> y a 37°C. La muerte celular se indujo por temperatura mediante la exposición a un baño de agua a 42°C; por carencia de Suero Fetal Bovino en el caso de los cultivos con carencia de factores de crecimiento y; por infección con Ad5 a una MOI de 50. En todos los cultivos se determinaron las cinéticas de crecimiento, la viabilidad celular por exclusión del azul de tripano y la muerte celular mediante diferentes metodologías tales como: microscopía de epifluorescencia (tinción con AO/PI), patrón de fragmentación de ADN con gel de agarosa al 1%, ciclo celular fue analizado mediante citometría de flujo y microscopía electrónica de transmisión (4).

**Resultados.** Se obtuvieron diferentes y diversos patrones de muerte en dicha línea. El incremento de la temperatura no mostró patrones de muerte apoptóticos

debido a que no se presentó la fragmentación de AND característica y el ciclo celular no fue afectado. La carencia de factores de crecimiento desencadenó morfología tipo autofágica principalmente y ante la infección con Ad5 silvestre, presentó una apoptosis atípica (Figura 1).



**Fig. 3. Microscopía electrónica donde se muestran las características morfológicas ocasionadas por infección con Ad5 a MOI 50.** Se observa la presencia del retículo endoplásmico hinchado (Reh) así como el núcleo condensado y degradado (NuCF). Estas características corresponden a la muerte celular apoptótica.

**Conclusión.** El cultivo de HEK293 tiene patrones mixtos de muerte celular programada dependiendo del tipo de estímulo otorgado. Este conocimiento es útil para poder establecer diferentes estrategias para retrasar o inhibir el desencadenamiento de muerte celular, mejorando la producción de vectores virales y de otros productos recombinantes.

**Agradecimiento.** Se agradece el soporte financiero otorgado al proyecto por medio del Proyecto de Consolidación Individual de la UAEM, a BECANET y a PROMEP-SEP.

### Bibliografía.

1. Graham F L, Smiley J, Russell W C & Naim R. (1977). *J. Gen. Viral.* 36:59-72.
2. Sandhu KS, Al-Rubeai M. (2009). *Biotechnol Bioeng.* 104: 752-765.
3. Sha J, Ghosh MK, Zhang K, Harter ML. (2010). *J Virol.* 84:4050-9.
4. Meneses-Acosta A, Mendonça R, Merchant H, Covarrubias L, Ramirez OT. (2001). *Biotech. Bioeng.* 74: 441-457.