

PRODUCCION DE UNA PROTEINA EXPRESADA EN CELULAS DE INSECTO INFECTADAS CON UN BACULOVIRUS RECOMBINANTE

Angélica Ortega, Sandino Estrada y Octavio Tonatiuh Ramírez
Departamento de Bioingeniería, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México
Av. Universidad 2001 Colonia Chamilpa. C.P. 62250. Fax (73) 138811. e-mail: tonatiuh@ibt.unam.mx

Palabras clave: *Baculovirus, células de insecto.*

Introducción. La manipulación de la multiplicidad de infección (MDI) y el tiempo de infección (TDI) en el sistema de expresión células de insecto-baculovirus (CI-BV) para la expresión de proteínas recombinantes ha sido utilizada para la optimización del producto final (1). La MDI es el número de partículas virales por célula que es adicionada en el momento de la infección (ufp/cel). El TDI es el tiempo que ha transcurrido desde la inoculación del cultivo con una concentración inicial de células hasta el momento de la infección con el virus, expresado como la concentración celular existente en el momento de la infección (cel/mL) (2). El objetivo de este trabajo consiste en estudiar los efectos de la manipulación del tiempo y multiplicidad de infección en la expresión de una proteína modelo, ya que se ha observado que la cantidad y la calidad de la proteína obtenida dependen no sólo de las condiciones ambientales fijadas para el cultivo, si no también de las condiciones que se dan al combinar la concentraciones celulares y el número de partículas virales (3).

Metodología. Líneas celulares: *Tricoplusia ni* BTI-Tn-5B1-4 (H5) y *Spodoptera frugiperda* (Sf-9). Proteína recombinante: lactadherina humana. Medio de cultivo: Sf-900 II SFM suplementado con 0.1% Plurónico F-68. Las células se cultivaron en matraces Erlenmeyer de 250 ml con un volumen de trabajo de 50 ml, agitados a 100 rpm e incubados a 27°C. Las MDI seleccionadas fueron 0.1, 1 y 10 ufp/cel. Las células totales fueron contadas con un Coulter Multisizer II y la viabilidad fue determinada por tinción con azul de tripano. El pelet celular fue colectado, sonicado y se le adicionó TX-100 al 1.25% para solubilizar la lactadherina. La proteína total y recombinante fueron cuantificadas por el método de Bradford y por densitometría utilizando el programa NIH image 1.61, respectivamente. Se midieron las concentraciones de glucosa, lactato, glutamato y glutamina por el método enzimático utilizando el analizador bioquímico YSI.

Resultados y Discusión. Los resultados demuestran que la proteína recombinante es producida a partir de las 24 h en ambas líneas celulares; H5 produce 8 veces más que Sf9 alcanzando su máximo a las 48 h, mientras que en Sf9 la máxima producción se da a las 96 h. En la fig. 1 se puede observar que la producción de la proteína recombinante es mayor a una MDI de 1 ufp/cel, disminuyendo a 10 y 0.1 ufp/cel respectivamente para Sf9; mientras que para H5 la producción máxima es alcanzada a MDI de 10 ufp/cel. En la presentación se discutirá el efecto de las variables estudiadas sobre el consumo de los principales nutrientes y la producción de subproductos metabólicos.

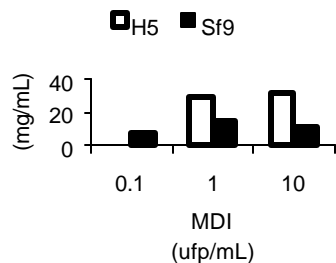


Fig. 1 Efecto de la multiplicidad de infección sobre la producción de la proteína recombinante.

Conclusiones. La producción de la proteína recombinante expresada en el sistema CI-BV depende de la manipulación de los factores de cultivo y de infección así como de la línea celular utilizada. Las estrategias planteadas en este proyecto representan una alternativa sencilla y eficaz para mejorar la producción del

sistema CI-BV para la expresión de proteínas con potencial comercial.

Agradecimientos. CONACyT I33104-B, CONACyT 33348-B.

Bibliografía.

- Licari P., Bailey J. E. (1991). Factor Influencing Recombinant Protein Yields in an Insect Cell-Baculovirus Expression System: Multiplicity of Infection and Intracellular Protein Degradation. *Biotechnol Bioeng* 37:238-246.
- Palomares L., Ramírez O. (1998). Insect cell culture: Recent advances, Bioengineering Challenges and Implications in Protein Production. En: *Advances in Bioprocess Engineering II*. Galindo E., Ramírez O. Kluwer Academic Publishers, Netherlands. 25-52.
- Andersen D., Goochee C. (1994). The effect of cell-culture on the oligosaccharide structures of secreted glycoproteins. *Curr Opin Biotechnol*. 5:546-549.