

ESTUDIO DE ESCALAMIENTO DESCENDENTE DEL PROCESO DE PRODUCCION DE ANTICUERPOS MONOCLONALES POR CULTIVO DE HIBRIDOMAS

José Antonio Serrato Pérez; Octavio Tonatiuh Ramírez Reivich.

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: *hibridomas, escalamiento descendente, tensión de oxígeno disuelto*

Introducción. A la fecha muy pocos cultivos de células animales se han realizado a escalas superiores a los 10,000 L. No obstante, de los datos existentes hay evidencias de que el comportamiento a escalas mayores es deficiente con respecto a cultivos de laboratorio. Esto es el resultado tanto del procedimiento de escalamiento utilizado como de la imposibilidad de agitar y burbujear intensamente los cultivos debido a la fragilidad inherente a las células animales. Lo anterior puede originar la formación de gradientes en la tensión de oxígeno disuelto (TOD). En este proyecto se realizó un estudio de escalamiento descendente como una opción para conocer los efectos que puede tener la presencia de gradientes de TOD en los reactores a gran escala sobre un modelo de células animales (hibridomas).

Metodología. Línea celular: hibridomas murinos BCF2 productores del anticuerpo monoclonal (AcM) contra la toxina 2 del alacrán *Centruroides noxius* Hoffman. Medio de cultivo: DMEM suplementado con 4.5 g/L de glucosa, 4 mM de glutamina, 3.7 g/L de bicarbonato de sodio, 1% de solución de aminoácidos no esenciales y 10% de SFB.

Las condiciones oscilatorias de TOD se establecieron en un bioreactor de 500 ml mediante la manipulación del flujo de O_2 y N_2 a través de un sistema computarizado y un algoritmo proporcional de control. El pH se controló por medio del flujo de CO_2 y un buffer de carbonatos en el medio de cultivo. La agitación y temperatura se mantuvieron constantes a 120 rpm y 37 °C respectivamente. La viabilidad se midió por tinción diferencial con azul de tripano, la concentración celular mediante un contador electrónico de partículas (Coulter) y la glucosa, glutamina, lactato y glutamato se midieron mediante un analizador enzimático.

Resultados y Discusión. Se realizaron cultivos a TOD oscilante (ondas sinusoidales) para simular los gradientes de oxígeno presentes en reactores de gran escala. Se probaron tres períodos de oscilación (800, 1600 y 6400 s), manteniendo constante el eje y amplitud de oscilación (7% y $\pm 7\%$ de TOD, respectivamente), de manera que las células experimentaran períodos alternantes bajo condiciones óptimas y bajo condiciones limitantes de TOD. Como control se desarrollaron cultivos a 10 % de TOD constante (con respecto a sat. con aire). Los cultivos bajo TOD oscilante entre períodos de 800 y 1600 s mostraron, tanto en el consumo y la producción de metabolitos, así como en las cinéticas de crecimiento y producción de AcM, un comportamiento muy similar a los cultivos control. (Fig.1). Sólo a períodos mayores a 6400 s se observó un efecto negativo.

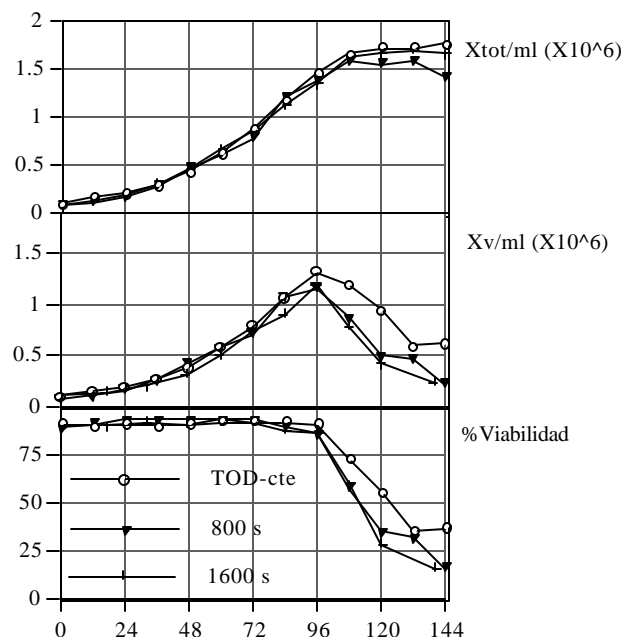


Fig. 1. Efecto de diferentes períodos de oscilación de TOD en la cinética de crecimiento de hibridomas.

Conclusiones. Los gradientes de TOD presentes en reactores de gran escala para el cultivo de células animales pueden simularse mediante oscilaciones temporales usando la metodología aquí propuesta. Los resultados del presente estudio permiten predecir que, gradientes de TOD, inclusive superiores hasta en un orden de magnitud a los teóricamente calculados, no tienen efecto negativo sobre el crecimiento y producción de AcM por hibridomas. Este resultado permitirá diseñar estrategias novedosas de operación en donde la agitación y/o aireación se manipulen intermitentemente, reduciendo así el daño celular y mejorando las productividades globales.

Agradecimientos. DGAPA IN-216100, CONACyT 33348-B y CONACyT NC-230.

Bibliografía.

- Nienow, A.W., Langheinrich, C., Stevenson, N.C., Clayton, T.M. y Slater, N.K.H. (1998). *Trans IChemE*. 76: 107-116.
- Ramírez, O.T. (1996). Anticuerpos monoclonales. En: *Escalamiento de Procesos biotecnológicos*. Quintero, R. y Lopez Munguía, A. Universidad de las Naciones Unidas, Tokio. (En Prensa).

3. Palomares, L. A. y Ramírez, O. T. (1999). "Biorreactor Scale-Down". En: *The Encyclopedia of Cell Technology*. Spier, R.E. (ed). John Wiley and Sons, Inc. 174-201.