

Palabras clave: apoptosis, bcl-2, hibridomas

Introducción. La apoptosis es un proceso de muerte genéticamente controlado que presenta características muy específicas y en algunos casos es la responsable de la disminución de las productividades en el cultivo de células de eucariotes superiores. Este proceso está regulado por diferentes genes, entre los cuales *bcl-2* se considera un gene antiapoptótico que protege a la célula de dicha muerte. La transfección de hibridomas con el gene *bcl-2* evita que se presente este tipo de muerte y permite un incremento en la producción de anticuerpo monoclonal en cultivos de hibridomas [1,2,3,4].

En este trabajo se demuestra que el proceso de muerte celular programada puede ser inhibido directamente por la clonación del gene *bcl-2* en hibridomas. Esta estrategia puede utilizarse para poder incrementar las productividades en cultivos de células de mamífero.

Metodología. Línea celular: hibridomas murinos PEF y PEF/*bcl-2* productores del anticuerpo monoclonal contra la inmunoglobulina humana IgG. Medio de cultivo: DMEM suplementado con 4 g/L de glucosa, 4 mM de glutamina, 3.7 g/L de bicarbonato de sodio, 1% de solución de aminoácidos no esenciales, 1% de solución antibiótica-antimicótica y 10% de suero fetal bovino [4].

El proceso apoptótico se midió por tinción diferencial con naranja de acridina/bromuro de etidio y por contenido relativo de DNA y anexina V por citometría de flujo [4].

Resultados y Discusión. Como se muestra en la Figura 1, en el caso de las células clonadas con *bcl-2*, es posible mantener una alta viabilidad en los cultivos transfectados con este gene en comparación con el cultivo control. Además, se observa que la concentración celular tanto de células viables como de células totales fue mayor en los cultivos con *bcl-2*. El tipo de muerte presente en las células clonadas con el gene antiapoptótico fue principalmente la necrosis aún cuando la muerte apoptótica no se inhibió totalmente, sugiriendo que existen mecanismos alternativos para desencadenar la señalización. Los resultados con anexina V corroboran y sugieren un cambio temprano en la composición de la membrana citoplasmática, cambiando principalmente el contenido del fosfolípido fosfatidil-serina, el cual en células viables se encuentra en el interior de la célula y al desencadenarse la muerte apoptótica cambia a la parte externa de la membrana. Asimismo, se observó que la campotecina y la estaurosporina son dos inductores del proceso apoptótico en los hibridomas control (PEF) pero en el caso de las células clonadas con *bcl-2*, dicho proceso de muerte puede ser inhibido, permitiendo obtener altas viabilidades en este tipo de cultivos.

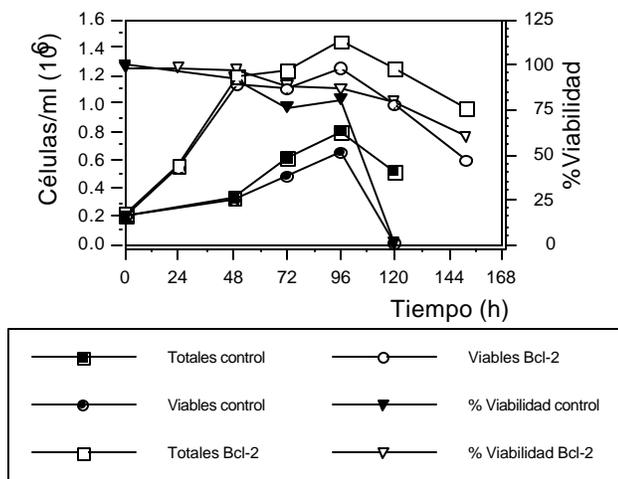


Figura 1. Cinética de crecimiento con células clonadas con *bcl-2* y células control (PEF).

Conclusiones. La apoptosis o muerte celular programada puede ser inhibida por la clonación de genes antiapoptóticos en células de mamífero. Tal es el caso del *bcl-2*, el cual permite incrementar la concentración celular así como mantener alta la viabilidad de los cultivos por un mayor periodo de tiempo. De tal manera que el uso de este tipo de genes puede ayudar a aumentar las productividades en el cultivo de hibridomas para la producción de anticuerpos monoclonales.

Agradecimientos. Dr. Mohamed Al-Rubeai, UPIBI-IPN.

Bibliografía.

1. Fassnacht, D., Rössing, S., Franek, F., Al-Rubeai, M., Pörtner, R. (1998). Effect of Bcl-2 expression on hybridoma cell growth in serum-supplemented, protein-free and diluted media. *Cytotechnol.*, 26: 219-225.

2. Mastrangelo A.J., Hardwick J.M., Bex F., Betenbaugh M.J. (2000a). Part I. Bcl-2 and Bcl-xL limit apoptosis upon infection with alphavirus vectors. *Biotech. Bioeng.*, 67: 544-554.
3. Mastrangelo A.J., Hardwick J.M., Zou S., Betenbaugh M.J. (2000b). Part II. Overexpression of *bcl-2* family members enhances survival of mammalian cells in response to various culture insults. *Biotech. Bioeng.*, 67: 555-564.
4. Singh R.P., Emery A.N., Al-Rubeai M. (1996). Enhancement of survivability of mammalian cells by overexpression of the apoptosis-suppressor gene *bcl-2*. *Biotech. Bioeng.*, 52: 1-10.