

LA SOBREEXPRESIÓN DE LOS FACTORES XBP1s Y c-MYC FAVORECE EL CRECIMIENTO Y PRODUCTIVIDAD DE CÉLULAS CHO RECOMBINANTES

Santiago Benavides-López, Mauricio A. Trujillo-Roldán, Claudia Altamirano, Norma A. Valdez-Cruz

Instituto de Investigaciones Biomédicas - UNAM

Circuito, Exterior S/N, C.U., Coyoacán, 04510 Ciudad de México, CDMX

adrivaldez1@gmail.com

Palabras clave: Eritropoyetina, Células CHO, Factores transcripcionales.

Introducción. Las células de ovario de hámster chino (CHO) son el sistema de expresión eucariota preferido para la producción de glicoproteínas recombinantes (PR) como la eritropoyetina (EPO) [1]. La EPO humana recombinante (rhEPO) es una citocina que se emplea para el tratamiento de la anemia y de enfermedad renal crónica [2]. Las células CHO se emplean ampliamente para producir PR complejas, aunque sigue siendo un desafío maximizar la productividad sin afectar la calidad. Se ha reportado que la sobreexpresión de los factores transcripcionales XBP1s y c-MYC, es una estrategia para maximizar la productividad de rhEPO en células CHO [3]. XBP1s es un factor transcripcional que regula la respuesta a proteínas mal plegadas en el retículo endoplásmico (UPR) [4]. Por su parte, c-MYC es un regulador del ciclo celular y múltiples procesos metabólicos [5]. El presente trabajo tiene como objetivo la caracterización cinética de tres líneas celulares CHO productoras estables de rhEPO. Dos de las líneas han sido modificadas para sobreexpresar conjuntamente los factores XBP1s y c-MYC (CHO-XC1 y CHO-XC2). La tercera línea produce los factores transcripcionales sólo de forma endógena (CHO-Control).

Metodología. Las tres líneas celulares poseen linaje CHO-K1 y fueron transformadas de forma estable [3]. El cultivo celular se realizó por triplicado en frascos T25, medio CDM4CHO con 8 mM de glutamina, 37 °C, CO₂ 5 %, y agitación orbital a 60 rpm. En la cinética se midieron células viables, glucosa, glutamina, lactato y amonio [6]. La productividad de rhEPO de cada línea celular se determinó mediante una prueba de ELISA.

Resultados. Las líneas CHO-XC1 y CHO-XC2 muestran un incremento significativo en la biomasa máxima (X_{max}) y la velocidad específica de crecimiento (μ), respecto a la línea CHO-Control. La línea CHO-XC1 muestra el mayor incremento en la productividad específica de rhEPO (q_P), siendo 3.3 veces mayor que en la líneas control. No se presentan cambios significativos en el consumo específico de glucosa (q_{glu}) para las tres líneas celulares.

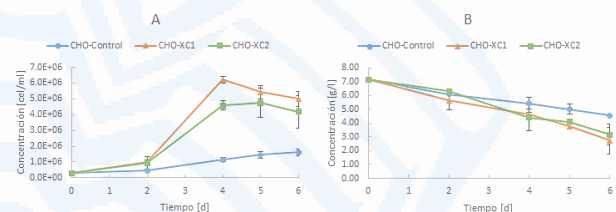


Fig. 1. Cinéticas de crecimiento y consumo de sustrato. A. Concentración de células viables. B. Concentración de glucosa.

Tabla 1. Parámetros cinéticos calculados para cada línea celular. Los superíndices (a, b, c) indican las diferencias estadísticas: si es igual no hay diferencias, si difiere hay diferencias significativas.

	CHO-Control	CHO-XC1	CHO-XC2
$X_{max} \left[\frac{10^6 cel}{mL} \right]$	1.63 ± 0.23 ^a	6.21 ± 0.21 ^b	5.05 ± 0.68 ^c
$\mu \left[\frac{1}{h} \right]$	0.019 ± 0.003 ^a	0.039 ± 0.003 ^b	0.035 ± 0.009 ^b
$q_{glu} \left[\frac{g}{10^6 cel} \cdot d \right]$	-0.91 ± 0.22 ^a	-0.40 ± 0.04 ^a	-0.57 ± 0.36 ^a
$q_{Lac} \left[\frac{g}{10^6 cel} \cdot d \right]$	0.64 ± 0.03 ^a	0.25 ± 0.01 ^b	0.22 ± 0.02 ^b
$rhEPO \left[\frac{\mu g}{mL} \right]$	0.66 ± 0.19 ^a	4.02 ± 1.38 ^b	1.35 ± 0.17 ^c
$q_{rhEPO} \left[\frac{pg}{cel} \cdot d \right]$	0.22 ± 0.04 ^a	0.73 ± 0.17 ^b	0.30 ± 0.10 ^a

Conclusiones. La sobreexpresión de los factores transcripcionales XBP1s y c-MYC en líneas celulares CHO productoras de rhEPO estable, favorece el crecimiento celular e incrementa la productividad específica, lo que permite alcanzar títulos hasta 6 veces mayores de rhEPO en cultivos en suspensión a escala de laboratorio.

Agradecimiento. Al Programa de Becas para Estudios de Posgrado de CONACYT: 1102922. Al Programa PAPIIT de la UNAM: IN210822.

Bibliografía.

- [1] Walsh G., Walsh E. (2022) *Nat. Biotechnol.* 40(12): 1722-1760.
- [2] Jelkmann W. (2007) *Eur. J. Haematol.* 78(3): 183-205.
- [3] Latorre Y. et al. (2023) *Sci. Rep.* 13(1): 1-12.
- [4] So J. S. (2018) *Mol. Cells.* 41(8): 705-716.
- [5] Li B., Simon M. C. (2013) *Clin. Cancer Res.* 19(21): 5835-5841.
- [6] Pérez-Rodríguez et al. (2021) *ACS Omega.* 6(19): 12439-12458.