

## EFECTO DE LA TEMPERATURA DE CULTIVO SOBRE LOS ATRIBUTOS CRÍTICOS DE CALIDAD DE UN ANTICUERPO MONOCLONAL PRODUCIDO EN CÉLULAS CHO.

Alberto Porras, Juan C. Arizmendi, Luiz De la fuente, Alfonso Gómez, Vanessa Hernández, Laura A. Palomares, Tonatihu Ramírez. Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos, Instituto de Biotecnología UNAM, México Av. Universidad No. 2001, Cuernavaca, Mor. México C.P. 62210. alberto.porras@ibt.unam.mx  
Temperatura, AcM, CQAs

**Introducción.** Las células de ovario de hámster chino (CHO) son populares para la producción comercial de proteínas terapéuticas. Entre estas moléculas, los anticuerpos monoclonales (AcM) son los elementos de interés de más rápido crecimiento. Diversos trabajos han demostrado que la disminución de la temperatura de cultivo aumenta la productividad del anticuerpo, sin embargo, puede tener un impacto en los atributos críticos de calidad, como el perfil de N-glicosilación y las variantes de carga, que son resultado de modificaciones químicas y postraduccionales (1,2). El objetivo de este trabajo es determinar si la temperatura del cultivo de células CHO afecta la productividad y los atributos críticos de calidad (CQAs) de un anticuerpo monoclonal.

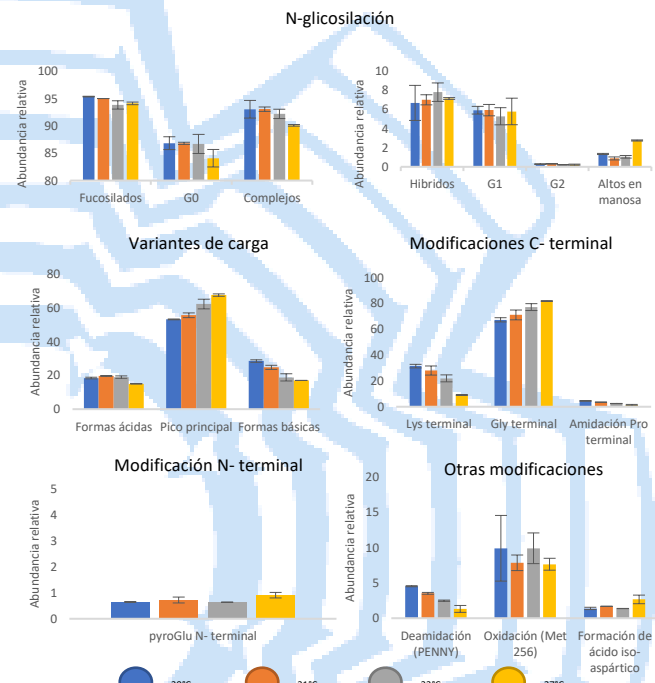
**Metodología.** Se cultivaron células CHO en matraz en modo lote alimentado, cambiando la temperatura una vez alcanzada una concentración celular mayor a  $20 \times 10^6$  células/mL. Las temperaturas utilizadas fueron 30, 31, 33 °C y utilizando como condición control 37 °C. El cultivo fue cosechado por centrifugación una vez alcanzada una viabilidad menor al 80 %. El sobrenadante fue purificado por cromatografía de afinidad a proteína A. La concentración de anticuerpo en el cultivo fue determinada por HPLC, las variantes de carga fueron analizadas por HPLC-WCX y las modificaciones químicas y postraduccionales fueron determinadas por un mapeo tróptico en UPLC acoplado a un detector de masas QDa.

**Resultados.** Un cambio en la temperatura del cultivo a 33 °C resulta en una producción de AcM (Tabla 1) mayor a 25 % comparado con la condición control, mientras que las otras condiciones reducen la producción.

**Tabla 1.** Concentración de anticuerpo normalizado a diferentes temperaturas

Temperatura	Concentración de anticuerpo producido normalizado <sup>a</sup>
30 °C	81 %
31 °C	89 %
33 °C	125 %

<sup>a</sup> con respecto al cultivo control (37 °C)



**Fig. 1.** Análisis de los CQAs del anticuerpo monoclonal producido a diferentes temperaturas de cultivo. Las barras de error son diferencia entre dos muestras.

No se encontró diferencia en el patrón de N-glicosilación en ninguna de las condiciones probadas. La principal diferencia se observa en las variantes de carga (variantes básicas), que son resultado de un aumento en el contenido de lisinas en el extremo C-terminal de la cadena pesada. Esta modificación no presenta un impacto en la eficacia del AcM.

**Conclusiones.** Un descenso en la temperatura del cultivo a 33 °C produce un aumento en la productividad sin afectar los CQAs del AcM.

**Agradecimiento.** Laboratorios Liomont SA de CV. DGAJ-DPI-070514-856.

### Bibliografía

- Kishishita, S., Nishikawa, T., Shinoda, Y., Nagashima, H., Okamoto, H., Takuma, S., & Aoyagi, H. (2015). Journal of Bioscience and Bioengineering, 119(6), 700–705.
- Cao, M., Xu, W., Niu, B., Kabundi, I., Luo, H., Prophet, M., Wang, J. (2019). Journal of Pharmaceutical Sciences.