



COMPARACIÓN DE LÍNEAS CELULARES Y CONDICIONES DE CULTIVO PARA LA PROPAGACIÓN DEL VIRUS ZIKA

Ana C. Alcalá, Martha A. Contreras, Esmeralda Cuevas Juárez, Octavio Tonatiuh Ramírez, Laura A. Palomares.
Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Cuernavaca, Morelos, CP. 62210, México.
acalcala@ibt.unam.mx, laura@ibt.unam.mx

Palabras clave: Zika, producción, cultivos celulares.

Introducción. El virus zika es un flavivirus transmitido por mosquitos principalmente del género *Aedes*. Se estima que cerca de la mitad de la población se encuentra en riesgo de contraerlo, y la enfermedad se presenta como un síndrome febril leve. Sin embargo, durante el embarazo puede causar microcefalia al feto, además se asocia con complicaciones neurológicas como el síndrome de Guillain-Barré (1). A pesar de su repercusión en salud pública, aun no se dispone de un tratamiento específico y las aproximaciones vacunales aun están lejos de ser aprobadas. Debido a esto, se ha buscado entender la biología de este virus, así como la identificación de blancos vacunales. Es necesario contar con preparaciones virales como material de partida, y la optimización de la producción de estos virus es un área con cada vez más importancia. El virus zika es mantenido y propagado en líneas celulares C6/36 y Vero en formatos adherentes, lo cual dificulta su escalamiento. Además, el virus se propaga en presencia de suero fetal bovino (SFB) como suplemento. Su utilización conlleva varias desventajas como la heterogeneidad entre lotes, presencia de agentes adventicios y consideraciones éticas debido a su proceso de producción (2). Con base en lo anterior, ha surgido la necesidad de contar con substitutos del SFB. La sericina es una proteína no inmunogénica aislada del capullo del gusano de seda que es utilizada como suplemento y favorece el crecimiento de diferentes líneas celulares (2). Adicionalmente, se ha reportado que incrementa la producción de vectores adenovirales en células HEK-293, debido a un incremento en la supervivencia del cultivo (3). Estos hallazgos perfilan a la sericina como un suplemento alternativo para las líneas celulares más comúnmente utilizadas sin los riesgos de la utilización de SFB.

En este trabajo, nos planteamos como objetivo principal analizar la producción de partículas del virus zika en células Vero y C6/36 en diferentes condiciones de cultivo, sin tener que recurrir a equipos, suplementos y metodologías costosas.

Metodología: Se infectaron monocapas confluentes de células C6/36 y Vero con virus zika (cepa MR766) a una MOI=0.1 uff/cel. Las células infectadas se mantuvieron en tres condiciones: medio con 5% de suero, medio sin suero o en medio suplementado con 80 µg/mL de sericina. Las células infectadas se incubaron durante 96 horas postinfección (hpi), con muestreos del sobrenadante cada 24h para la cuantificación de partículas virales infecciosas mediante ensayo de placa. La concentración óptima de sericina se estableció con base en cinéticas previas, donde se evaluó durante 10 días el efecto sobre la viabilidad celular de diferentes concentraciones de sericina (5,10,20,40,80 y 120 µg/mL).

Resultados. Se evidenció un incremento significativo en la producción de partículas virales infecciosas en ambas líneas celulares en presencia de sericina, al compararse con las producidas en ausencia o presencia de SFB a partir de las 72 hpi. La producción de partículas virales se ve favorecida en ausencia de suero, en comparación con la condición en presencia de suero en células Vero. Este efecto no se observa en células C6/36, probablemente debido a la condición auxótrofa de éstas por colesterol, elemento fundamental y de alto consumo por las células durante el proceso de producción de partículas virales.

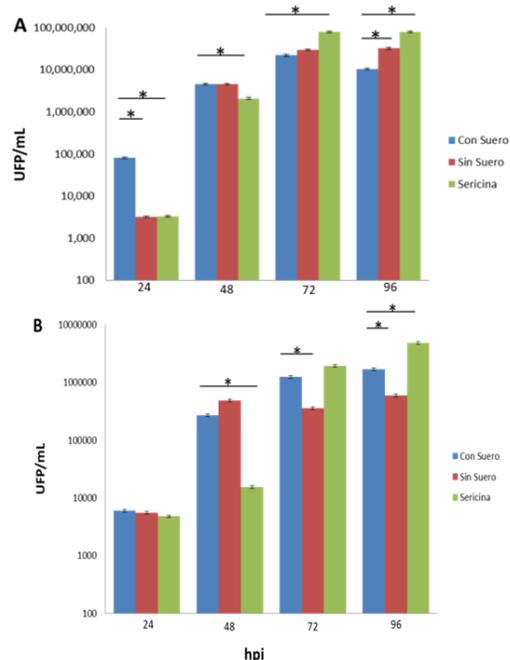


Fig.1 Títulos virales a diferentes tiempos post infección. A) Células Vero y B) Células C6/36.

Conclusiones. La adición de sericina al medio de cultivo incrementa significativamente la producción de partículas virales infecciosas en células Vero y C6/36. En células Vero la ausencia de suero favoreció la producción de partículas virales infecciosas en comparación con la condición de 5% SFB.

Agradecimientos. Investigación realizada gracias al Programa UNAM-PAPIIT IT-200418. La cepa MR766 fue donada por la Dra. Susana López IBT-UNAM.

Bibliografía.

- 1.-OMS, 2018. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/zika-virus>.
- 2.-Liu *et al.* 2016. Sci Rep. doi: 10.1038/srep31516.
- 3.-Yanagihara *et al.* 2006. Biotechnol Appl Biochem. 45:59-64.

