

EFFECTO DE LA VELOCIDAD DE CRECIMIENTO EN LA PRODUCTIVIDAD Y CALIDAD DE UN ANTICUERPO MONOCLONAL UTILIZANDO CULTIVOS CONTINUOS

Juan Carlos Rivera, Alfonso Gómez, Vanessa Hernández, Octavio Tonatiuh Ramírez, Laura A. Palomares.
UNAM, Instituto de Biotecnología, Cuernavaca 62210, jcarlos@ibt.unam.mx; laura@ibt.unam.mx

Palabras clave: CHO, anticuerpo, glicosilación

Introducción. Los anticuerpos monoclonales (AcM) han sido utilizados para el tratamiento de diferentes padecimientos por su especificidad, eficacia y prolongada vida media en circulación. La calidad de un AcM es determinada por modificaciones postraduccionales que pueden ser químicas o enzimáticas. Estas modificaciones resultan en heterogeneidades de los perfiles de glicosilación y de variantes de carga. Estas modificaciones pueden alterar la funcionalidad y farmacocinética del AcM (1,2).

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la velocidad de crecimiento de células CHO en la productividad y calidad, determinada por los perfiles de N-glicosilación y de variantes de carga en un AcM.

Metodología. Se realizaron dos cultivos independientes de 500 mL en perfusión a dos diferentes estados estables que corresponden a 20 y 50% de la velocidad específica máxima de crecimiento (μ_{max}). Se utilizó un sistema BioSep® (Applikon Biotechnology) para la retención celular. Para el análisis de N-glicosilación, se utilizó cromatografía de interacción hidrofílica (HILIC) (3) y cromatografía de intercambio catiónico (CEX) para el análisis de variantes de carga (2).

Resultados. Se alcanzaron estados de equilibrio en los dos cultivos a 20 % (19.1 ± 2.0) μ_{max} y 50 % (52.8 ± 5.3) μ_{max} . Observamos un metabolismo diferente a las dos velocidades de crecimiento estudiadas. A 50% μ_{max} , se observó un mayor consumo de glucosa y glutamina y una mayor velocidad de producción de lactato. A 20 % μ_{max} , se observó una menor velocidad de consumo de nutrientes y una menor velocidad de producción de lactato (**Fig. 1**).

Se encontró que el reducir μ_{max} de 50 a 20% incrementó en 3.5 veces la velocidad específica de producción de AcM y cambió la abundancia relativa de glicofomas altas en manosa, de 2 a 15%; de glicofomas galactosiladas de 23 a 12% y para glicofomas fucosiladas de 92 a 73%. En el caso de las variantes de carga, al decrecer μ_{max} incrementó la abundancia relativa de la fracción principal de 40 a 49% (**Fig. 2**).

Agradecimientos. Financiado por CONACyT CB 255445. Juan Carlos Rivera recibió la beca CONACyT 448437 durante sus estudios de maestría. Agradecemos el apoyo

de Laboratorios Liomont y de Applikon Biotechnology para la realización de este proyecto.

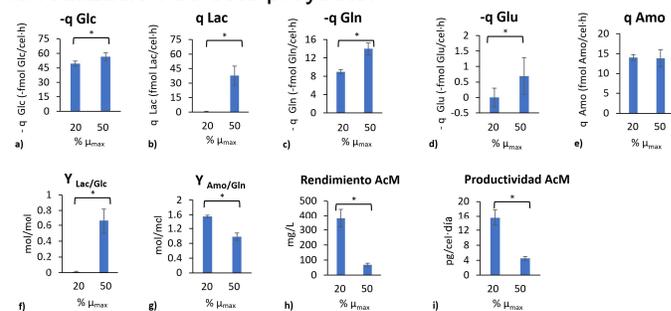


Fig. 1. Comportamiento metabólico. a), c), d) consumo. b) y e) producción. f) Rendimiento de producción de lactato, g) rendimiento de producción de amonio, h) rendimiento de AcM, i) productividad de AcM. * $p < 0.05$ mediante prueba t de Student.

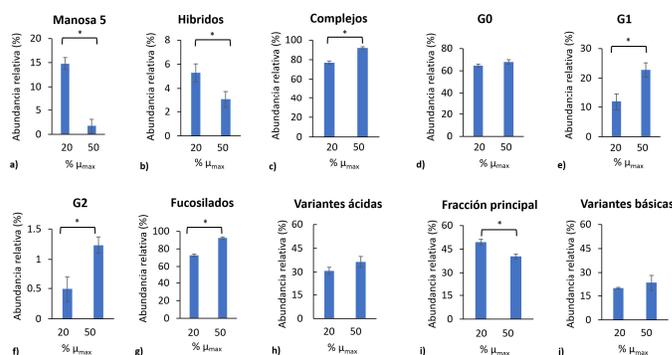


Fig. 2. Distribución relativa de los perfiles de glicosilación y de variantes de carga. a)-g) perfil de glicosilación, h)-j) perfil de variantes de carga. * $P < 0.05$ mediante prueba t de Student.

Conclusiones. A mayores velocidades de crecimiento se observó un comportamiento metabólico glucolítico productor de lactato, mientras que a bajas velocidades se observó un metabolismo glutaminolítico, resultando en la producción de amonio (4). Mediante la modificación de la velocidad de crecimiento es posible modificar los perfiles de glicosilación y de variantes de carga, así como incrementar la productividad del AcM.

Bibliografía.

1. Beyer B *et al.* (2018) *Biotechnol J.* 13:1-11.
2. Du Y *et al.* (2012) *MABs.* 4:578-585.
3. Serrato JA *et al.* (2004) *Biotechnol Bioeng.* 88:176-188.
4. Altamirano C *et al.* (2013) *J Biotechnol.* 16:1-12.