



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
DIRECCIÓN DE POSTGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE MAGÍSTER EN BIOQUÍMICA Y BIOINFORMÁTICA

GENERACIÓN Y EVALUACIÓN *IN VITRO* DE VARIANTES AGLICOSILADAS DE ERITROPOYETINA

Tesis para optar al grado de Magíster en Bioquímica y
Bioinformática

POR

NICOLÁS MAURICIO JESET VARAS MOLINA

Profesor Guía: Dr. Oliberto Sánchez Ramos
Departamento de Farmacología
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción

Junio-2018

CONCEPCIÓN-CHILE

RESUMEN

La eritropoyetina humana (hEPO) es la principal hormona encargada de estimular la eritropoyesis. Su deficiencia causa anemia severa y ocurre en pacientes con fallo renal debido a traumas, trasplantes, quimioterapia, diabetes u otros. Para el tratamiento de estos pacientes es necesario el suministro externo de la hormona. En la actualidad la eritropoyetina humana recombinante (rhEPO) es producida en cultivo de células CHO, a pesar del alto costo, debido a que la producida en otras células u organismos presenta glicosilaciones diferentes y por tanto una actividad *in vivo* disminuida. Una alternativa podría ser utilizar rhEPO sin glicosilaciones, sin embargo, esta variante posee una actividad *in vivo* casi nula, a pesar de poseer una mayor actividad *in vitro* y mayor afinidad por su receptor (EPOR) que la hEPO nativa. Las glicosilaciones generan limitaciones en la producción de la rhEPO y las principales ventajas que le otorgan a la hormona son un aumento de peso molecular y una disminución de la afinidad por EPOR. Considerando esto, en el presente trabajo generamos y evaluamos variantes de rhEPO aglicosilada, fusionada al dominio Fc de IgG1 humana y con mutaciones en los aminoácidos que interactúan con el receptor. Finalmente evaluamos las variantes generadas mediante ensayo *in vitro* en la línea celular TF-1 y obtuvimos que el cambio de fenilalanina 48 por alanina genera una proteína que recupera un comportamiento *in vitro* similar a una rhEPO glicosilada.