



Universidad de Concepción
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas



CARACTERIZACIÓN DE UN MODELO CELULAR *IN VITRO* DE GLÁNDULA MAMARIA DE CABRA PARA SU USO COMO BIOREACTOR

Seminario de Título presentado a la
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Para optar al título de Biólogo

Catherine Denisse Meza Franco

Concepción, Julio de 2012

RESUMEN

La glándula mamaria ha resultado una alternativa apropiada para la producción de proteínas recombinantes de interés biofarmacéutico o industrial, pues se demostró que las células epiteliales productoras de leche tienen un alto nivel de expresión y procesamiento de proteínas complejas y glicosiladas. Además, estas células poseen la capacidad de expresar estas proteínas con modificaciones post-traduccionales similares a las que se producen en humanos. La expresión de biofármacos en la glándula mamaria de rumiantes permite la producción de proteínas recombinantes a niveles de gramos/litro diario, sin embargo, el proceso de transformación genética de mamíferos como biorreactores resulta complicado, costoso y de un largo tiempo. Es por esta razón, que resulta importante disponer de un modelo celular de glándula mamaria que permita evaluar las capacidades de transformación genética de dichas células y la expresión de glicoproteínas complejas *in vitro*, simulando condiciones del proceso *in vivo*.

Para la obtención de un modelo celular de glándula mamaria, se dispuso de un explante de tejido mamario de una cabra (*Capra hircus*) de 105 días de lactancia. El cultivo celular primario se generó mediante la técnica de digestión enzimática con colagenasa y posterior siembra en placas de cultivo celular adherente. Mediante un tratamiento de tripsinización selectiva, se obtuvo un cultivo enriquecido en células epiteliales mamarias con capacidad de división celular estable. A partir del pase 12 se realizaron los ensayos para caracterizar el modelo mediante microscopía confocal y evaluación inmuno-citoquímica para marcadores celulares distintivos (E-cadherina, N-cadherina, vimentina). Se obtuvo una caracterización positiva para células epiteliales y se corroboró la capacidad de división del cultivo celular hasta 32 pases en placas de cultivo adherente.

El modelo celular de glándula mamaria de cabra obtenido resultó positivo a la capacidad de transformación genética tanto con vectores adenovirales como lentivirales. Además, se obtuvo la expresión y secreción de la glicoproteína FSH recombinante en el medio de cultivo de las células después de la transducción genética adenoviral. También se demostró que este modelo celular responde favorablemente a la inducción con hormonas lactogénicas aumentando su supervivencia durante 30 días en ausencia de suero fetal y la expresión de proteínas recombinantes.

El presente trabajo permite disponer de un modelo celular de glándula mamaria de cabra, mayoritariamente compuesto de células epiteliales que responden a inducción hormonal, con capacidad de transducción genética con vectores virales y con potencialidad para la expresión y secreción de glicoproteínas recombinantes de interés biofarmacéutico durante al menos un mes de cultivo continuo.