



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Biológicas-Programa de Magister en Bioquímica y
Bioinformática

Desarrollo de una nueva estrategia para la selección de clones celulares productores de FSH recombinante mediante selección asistida por fluorescencia e inserción secuencial de transgenes.

Felipe Edgardo Bravo Cáceres
CONCEPCIÓN-CHILE
2016

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

RESUMEN

Entre los años 2006 a 2011, un promedio anual de 15 nuevas terapias de proteínas recombinantes han sido aprobados por la Food and Drug Administration (FDA). Asimismo, la expiración de los productos biológicos de gran éxito también ha estimulado el surgimiento de los biosimilares. Por tanto, el número creciente de productos biológicos innovadores y biosimilares han alimentado la demanda de líneas celulares de alto nivel productivo. Actualmente, las tecnologías de desarrollo de líneas celulares de mamíferos utilizados por la mayoría de las compañías biofarmacéuticas se basan ya sea en la tecnología amplificación genética mediada por metotrexato (MTX) o el sistema de la glutamina sintetasa (GS). Con ambos sistemas, los clones de células obtenidas son muy heterogéneas, como resultado de la integración del genoma azar del gen de interés y el proceso de amplificación génica. En consecuencia, un gran número de clones de células tienen que ser analizados para así poder identificar clones estables de alta productividad, los que resultan ser eventos extremadamente raros. Como tal, el proceso de desarrollo de línea celular por lo general requiere de 6 a 12 meses y es un proceso que requiere grandes sumas de dinero y mano de obra altamente calificada.

Con el propósito de dar una solución a las deficiencias expuestas por los actuales sistemas de selección clonal, en el presente trabajo introduciremos una nueva estrategia de selección y aislamiento de clones celulares altamente productivos. Esta estrategia se basa en el uso de lentivirus como un eficiente método para la integración estable de un casete que posibilita la expresión de un gen de interés. En el casete diseñado, la expresión del gen de interés se encuentra enlazada a la expresión de un gen reportero fluorescente el cual permite el aislamiento acelerado de los clones celulares de mayor productividad mediante citometría. Finalmente, la incorporación y disposición de elementos de recombinación sitio-específica en la construcción genética generada permite la detención exclusiva de la expresión del gen reportero. Lo anterior, posibilita que tras la incorporación de nuevas copias del casete de expresión diseñado sea factible dar paso a nuevas rondas de selección clonal únicamente en base a fluorescencia