



Universidad de Concepción

Dirección de Postgrado

Facultad de Ciencias Biológicas - Programa de Magíster en Bioquímica y  
Bioinformática

**Comparación de la actividad inmuno-estimuladora de la IL-  
18 recombinante porcina expresada en *Escherichia coli* y  
en *Pichia pastoris***

Tesis para optar al grado de Magíster en Bioquímica y Bioinformática

ANGELA CONSTANZA HIDALGO GAJARDO

CONCEPCIÓN-CHILE

2018

Profesor Guía: Jorge Roberto Toledo Alonso  
Dpto. de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad de Concepción

## RESUMEN

La industria porcina chilena es la tercera en consumo per cápita y sexta en el ranking internacional de exportaciones. Esta producción ha bajado debido a una disminución del peso de faena, debido, principalmente, a enfermedades infecciosas que afectan la capacidad reproductiva de las hembras y el crecimiento y engorde de los lechones. Los lechones en destete sufren una inmuno-depresión transitoria debido a la interrupción de suministro de anticuerpos que la madre les proporciona a través de la leche, lo que se agrava con un cambio en la alimentación y alteraciones de la jerarquía del grupo. Los lechones inmunodeprimidos presentan un bajo número de leucocitos, lo que conduce a una respuesta inmune débil frente a patógenos. Esta deficiencia en la respuesta a patógenos aumenta su susceptibilidad a infecciones principalmente del tipo entéricas que afectan su crecimiento y desarrollo. Una posible solución a este problema es utilizar biomoléculas estimuladoras del sistema inmune, que mejoren la defensa a infecciones, mejorando así el desempeño en la etapa de engorde y crecimiento.

En el presente trabajo proponemos fortalecer el sistema inmune de los lechones al destete, generando un estado de “alerta inmunológica”, mediante la inmunoestimulación basada en la interleuquina 18. Esta citoquina se expresa principalmente en macrófagos y CDs, que la secretan al medio donde une su receptor IL-18R presente en linfocitos T, linfocitos B, células NK y macrófagos. La unión ligando-receptor genera la activación transcripcional de genes que codifican para citoquinas pro-inflamatorias como IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  y GM-CSF, cuyos efectos incluyen la activación de linfocitos T CD4<sup>+</sup> Th1 y Th2, activación y reclutamiento de macrófagos, activación de linfocitos B, células NK y CDs, generando una respuesta inmune celular pro-inflamatoria y citotóxica. Además, la expresión de la IL-18 en células epiteliales intestinales está asociada directamente a la inmunidad mucosal, siendo una molécula relevante para garantizar la protección frente a infecciones intestinales.

Para obtener moléculas con aplicaciones terapéuticas o profilácticas se utilizan diferentes sistemas de expresión recombinante, siendo los de uso más común la bacteria *E. coli* y la levadura *P. pastoris*. La mayoría de las proteínas heterólogas producidas en *E. coli* se expresan formando cuerpos de inclusión, que son agregados insolubles de proteínas. Para obtener la molécula biológicamente activa, ésta se debe solubilizar y renaturar, lo que puede afectar en la estructura terciaria y su actividad biológica. La ventaja que tiene *P. pastoris* es que puede secretar proteínas solubles al medio de cultivo, lo que garantiza un correcto plegamiento de la molécula y así su actividad biológica.

El objetivo de este trabajo fue comparar la actividad immuno-estimuladora de dos variantes del IL-18 porcina expresada en *E. coli* o en *P. pastoris*, utilizando modelos *in vitro* de linfocitos porcinos y cerdos tratados directamente con las biomoléculas generadas. Determinamos que, si bien ambas moléculas inducen la expresión de marcadores pro-inflamatorios del sistema inmune en ambos modelos *in vivo* e *in vitro*, la IL-18 porcina expresada en *P. pastoris* tiene un efecto significativamente mayor, comparada a la variante producida en *E. coli*. Con estos resultados proponemos que una formulación basada en la IL-18 porcina expresada en *P. pastoris* podría aplicarse en el ciclo productivo porcino durante la etapa de destete, generando un estado de alerta inmunológica en los animales, con un efecto profiláctico para atenuar la incidencia de enfermedades infecciosas en los lechones.