

Póster

## Producción de una hormona animal recombinante estable y con actividad in vivo.

Eduardo de la Lastra (1), Raquel Cid (2), David Cotán (2) y Juan J. Infante (2,\*).

(1) Programa Máster de Biotecnología Ambiental, Industrial y Alimentaria. Universidad Pablo de Olavide de Sevilla.

(2) Departamento de Desarrollos de Biotecnología de Bioorganic Research and Services, S.A. (Bionaturis). Laboratorio Bionaturis CABD. Campus Universidad Pablo de Olavide de Sevilla. Ctra. Utrera Km 1. 41013 Sevilla.

*Palabras clave:* baculovirus, proteína recombinante, hormona

### RESUMEN

Actualmente, en ganadería vacuna intensiva, la fertilización de las vacas se produce por inseminación artificial. Para obtener un mayor rendimiento, se extraen hormonas naturales de determinados animales para inyectarlas al ganado vacuno y conseguir la hipervulvación de éstos, pudiendo inseminar todas al mismo tiempo y con mayor probabilidad de éxito. El problema es que la extracción de estas hormonas es compleja y cara.

Se ha intentado solventar este problema produciendo esta hormona en cultivos celulares de mamíferos o insectos mediante ingeniería genética. Aunque las enzimas recombinantes demuestran actividad in vitro, al inyectarlas a modelos animales o ganado no inducen la hipervulvación debido a una vida media en suero mucho más corta (minutos) que la versión natural (horas), ya que son eliminadas de la sangre rápidamente por la orina. Bionaturis ha propuesto la estabilización en suero de esta hormona recombinante mediante la fusión de secuencias estabilizadoras desarrolladas por la empresa a la secuencia hormonal.

Bionaturis utiliza la plataforma FLYLIFE, que consiste en el uso del sistema baculovírico para la producción de proteínas recombinantes. A partir de secuencias estabilizadoras ya sintetizadas, se creó un vector de transferencia con las secuencias de interés mediante técnicas de clonación. Luego, mediante recombinación homóloga, se insertarán estas secuencias en baculovirus modificados genéticamente (Master Viral DNA de Bionaturis) que, en vez de sintetizar polihedrina, sintetizan la secuencia de interés, y así obtener baculovirus recombinantes de trabajo (Working Viral Banks). La obtención de los Working Virus Bank (WBK) se realiza mediante la co-transfección en células de insecto con el Master Viral DNA y el vector de transferencia.

Hasta ahora, se ha llevado a cabo la construcción del vector de transferencia con éxito, los siguientes pasos a dar son la co-transfección para la obtención del WVB y su posterior caracterización mediante test de expresión de proteínas en cultivo celular. Posteriormente, se pretende la infección de larvas de lepidóptero con el virus recombinante obtenido que, al multiplicarse en su interior, producirá la proteína recombinante. Finalmente, se extraerá y se purificará la proteína de interés y se evaluará su actividad in vitro e in vivo.

## 1. BIBLIOGRAFIA

- Carpentier, D.C., Griffiths, C.M., King, L.A. (2008) The baculovirus P10 protein of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus forms two distinct cytoskeletal like structures and associates with polyhedral occlusion bodies during infection. *Virology*. 371, 278–291
- Summers, M.D. (2006). Milestones leading to the genetic engineering of baculoviruses as expression vector systems and viral pesticides. *Adv. Virus Res.* 68, 3–73.
- Van Oers, M.M. (2011) Opportunities and challenges for the baculovirus expression system. *Journal of Invertebrate Pathology*. 107, S3–S15
- Vicente, T., Roldão, A., Peixoto, C., Carrondo, M.J.T., Alves, P.M. (2011) Large-scale production and purification of VLP-based vaccines. *J. Invertebr. Pathol.* 107, S42–S48.