

Resumen

La producción de anticuerpos humanos recombinantes como agentes terapéuticos constituye en la actualidad una de las industrias de mayor crecimiento debido a la especificidad y eficiencia terapéutica de estas proteínas. Sin embargo, a pesar del continuo avance en el desarrollo molecular y estructural de los anticuerpos, sus métodos de producción siguen dependiendo del uso de líneas celulares, lo que demanda un alto costo de manufactura e incrementa el precio final de estas terapias. Por ello, buscar alternativas que optimicen la producción de anticuerpos terapéuticos a gran escala, es un desafío para la biotecnología actual. En este proyecto, se evaluaron las condiciones de producción de un anticuerpo humano recombinante en células de epitelio de glándula mamaria de cabra (GMGE), para una posterior escalabilidad *in vivo*, lo que buscaría sustituir la producción de estas proteínas complejas en cultivos celulares. Para ello, se amplificó un vector adenoviral recombinante que codificaba a un anticuerpo humano, hasta la obtención de un título de 1×10^9 Unidades Formadoras de Color (UFC) por mL. Las células GMGE se infectaron con el vector adenoviral amplificado para evaluar la expresión recombinante con distintas multiplicidades de infección (MOI): 25, 50, 100, 125 y 150 UFC/mL; y la expresión en relación al tiempo se evaluó a las 24, 48, 72, 96, 120 y 144 horas post infección de aquel MOI que presentó la mayor expresión recombinante. En este estudio, las condiciones ideales para la máxima producción de la proteína se dieron con un MOI de 125 UFC/mL durante 144 horas post infección. Además, se evidenció la capacidad de generación de modificaciones post traduccionales de las células GMGE debido al peso molecular obtenido del anticuerpo humano expresado, lo que asegura la integridad tanto del vector adenoviral como de las proteínas recombinantes generadas. Por tanto, se estableció la viabilidad de la producción de un anticuerpo humano recombinante en células GMGE, lo que hace factible el escalamiento de la producción *in vivo* e *in vitro*.

Palabras claves: Anticuerpo Humano Recombinante, Vector Adenoviral, GMGE, MOI

Abstract

The production of recombinant human antibodies as therapeutic agents is currently one of the fastest growing industries due to the specificity and therapeutic efficiency of these proteins. However, despite the continuous progress in the molecular and structural development of these antibodies, their production methods still rely on the use of cell lines, which demands a high manufacturing cost and increases the final price of these therapies. Therefore, searching for alternatives that optimize the production of therapeutic antibodies on a large scale constitutes a challenge for current biotechnology. In this project, the conditions for the production of a recombinant human antibody in goat mammary gland epithelium (GMGE) cells were evaluated for subsequent *in vivo* scalability, which seeks to replace the production of these complex proteins in cell cultures. For this purpose, a recombinant adenoviral vector encoding a human antibody was amplified to a titer of 1×10^9 Color Forming Units (CFU) per mL. GMGE cells were infected with the amplified adenoviral vector to evaluate recombinant expression at different multiplicities of infection (MOI): 25, 50, 100, 100, 125 and 150 CFU/mL; and expression over time was evaluated at 24, 48, 72, 96, 120 and 144 hours post infection of that MOI with the highest recombinant expression. In this study, the ideal conditions for maximum protein production occurred at a MOI of 125 CFU/mL during 144 hours post infection. In addition, the ability of the GMGE cells to generate post-translational modifications was evidenced due to the molecular weight obtained from the expressed human antibody, which ensures the integrity of both the adenoviral vector and the recombinant proteins generated. Therefore, the feasibility of the production of a recombinant human antibody in GMGE cells was established, making the upscaling of recombinant proteins *in vivo* and *in vitro* feasible as well.

Key words: Recombinant Human Antibody, GMGE, Adenoviral Vector, MOI