6º Simposio Argentino de Procesos Biotecnológicos
SAPROBIO 2021
"Transfiriendo biotecnología para el desarrollo"

6PRPM

PROCESO BIOTECNOLÓGICO INNOVADOR PARA ESCALAR LA PRODUCCIÓN DE PROTEÍNA SPIKE DE SARS-CoV-2

SMITH, Ignacio [a, b]; Mc CALLUM, Gregorio J.[a,b]; BIRENBAUM, Joaquín [a,b]; TARGOVNIK, Alexandra M.[a,b]; WOLMAN, Federico J. [a,b]; ALONSO, Leonardo G.[a,b]; MIRANDA, María V.[a,b]

a) Instituto de Nanobiotecnología (NANOBIOTEC), UBA-CONICET Junín 956 6º piso (1113) CABA, Argentina
b) Cátedra de Biotecnología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 956 6º piso (1113) CABA, Argentina
ismith@docente.ffyb.uba.ar

A partir del primer caso informado en Wuhan, China en diciembre de 2019, gran parte de la comunidad científica mundial se ha enfocado en aportar soluciones frente a la pandemia que hoy sigue vigente. La secuencia genética del SARS-CoV-2 se publicó en enero de 2020 y ha permitido acelerar el desarrollo de métodos de diagnóstico, tratamientos y vacunas. Se ha puesto especial foco en la proteína Spike (S) expuesta en la superficie del SARS-CoV-2, el virus causante de COVID-19, ya que es clave en la unión del virus al receptor celular y la progresión de la infección se frena si nuestro sistema inmune reacciona contra esta proteína. En el último año uno de los desafíos para la Biotecnología fue brindar métodos que permitan disponer de alta cantidad y calidad de proteínas de SARS-Cov-2.

La proteína S es estructuralmente compleja, constituye una glicoproteína de 500 kDa aprox., homotrimérica y cada monómero está compuesto por una cabeza globular, una subunidad S1 donde se encuentra el dominio de unión al receptor (RBD) y la subunidad S2 que asiste en la fusión a membrana. La producción de la proteína S se logra en líneas celulares de mamíferos (CHO y HEK) pero con bajos rendimientos y altos costos.

Nuestro grupo de investigación viene trabajando intensamente en el desarrollo de una nueva plataforma biotecnológica basada en el sistema baculovirus-larvas de insecto y atractiva porque no requiere del uso de grandes cantidades de medios de cultivo ni de sofisticados equipos (biorreactores). Las larvas de lepidópteros, considerados plagas de la región, actúan como eficientes "biofábricas" de proteínas.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar un proceso para la producción de proteína S en su estado prefusión y trimérica en larvas de *Rachiplusia nu* para su fácil escalado y uso en diferentes aplicaciones en el marco de la pandemia.

Para esto se construyó un baculovirus recombinante basado en *Autographa californica*, (AcMNPV-S) con la secuencia codificante para S en su forma prefusión clonada bajo el promotor de poliedrina y tras el péptido señal gp64. La secuencia no poseía el sitio de clivaje para furina y contenía una etiqueta de 6xHis para facilitar su purificación por IMAC. Una vez obtenido el inóculo en cultivo celular Sf9, se infectaron larvas con $5x10^5$ UFP/larva y la cosecha de la proteína S se realizó al día 4 post infección. Los extractos se obtuvieron usando un homogenizador de paletas y se clarificó a 4ºC por filtración (125 um y 3 um). Luego de probar diferentes condiciones se optimizó el proceso donde se equilibró la matriz cromatográfica en buffer conteniendo 80 mM de imidazol y se eluyó la