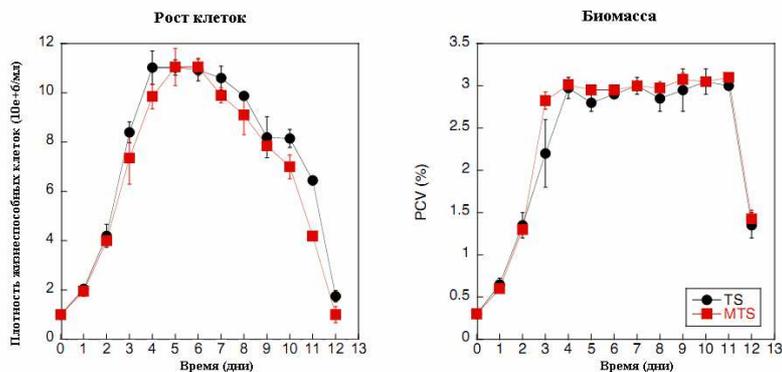


Клетки насекомых являются основой для наработки рекомбинантных белков. Клетки Sf-9 обычно выращиваются в спиннерах (Spinner flasks) или колбах Эрленмейера. В данной работе были представлены одноразовые орбитально встряхиваемые флаконы, биореакторы TubeSpin® 50 («TubeSpins» или TS) и TubeSpin® 600 («MaxiTubeSpins» или MTS, TPP, Траздинген, Швейцария) с рабочими объемами 10 мл и 300 мл, соответственно, для культивирования клеток Sf-9.



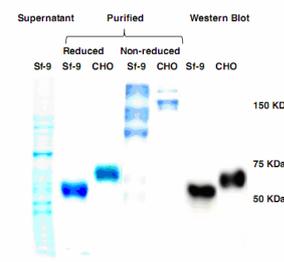
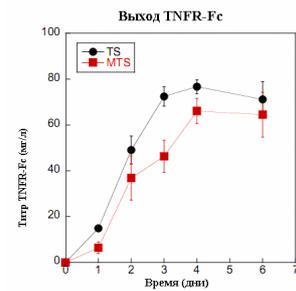
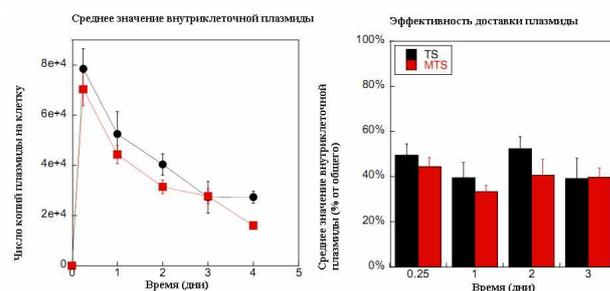
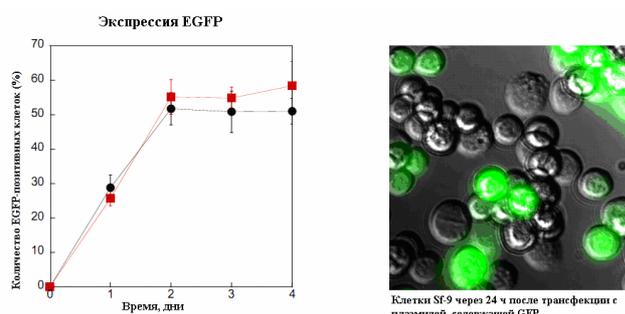
Рост клеток

Клетки Sf-9 культивировались по методике, описанной ранее (Кси и др., 2011). Максимальная плотность 11×10^6 клеток/мл была достигнута при объеме осажденных клеток (PCV), равном 3%. Жизнеспособность свыше 90% сохранялась более 7 дней в обоих изучаемых флаконах.



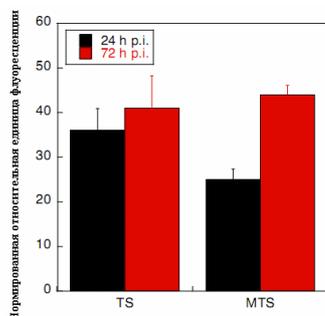
Неустойчивая экспрессия гена посредством PEI

При помощи бакуловирусного предраннего промотора (IE-1) по методике, описанной ранее (Шен и др., 2011), клетки Sf-9 были сотрансфицированы генами белков EGFP (5% гена) и рецептора Fc фактора некроза опухоли TNFR-Fc (95% гена). Через два дня после трансфекции популяция EGFP-позитивных клеток составляла более 50% в обоих флаконах, TS и MTS. Данные количественной ПЦР показали, что количество плазмиды и после 3 дней инкубации остаётся высоким, с крайне незначительным уменьшением. Выход рекомбинантного белка TNFR-Fc, определённый методом ИФА, составил более 60 мг/л в обоих флаконах, TS и MTS.



Бакуловирусная инфекция и экспрессия GFP (зеленого флуоресцентного белка)

Клетки Sf-9, инфицированные рекомбинантным бакуловирусом, содержащим ген GFP, были выращены во флаконах TS и MTS. Инфицирование было проведено по методике, описанной ранее (Кси и др., 2011).



Наши результаты подтверждают эффективность одноразовых орбитально встряхиваемых систем, биореакторов TubeSpin® 50 и TubeSpin® 600, для культивирования клеток Sf-9 и для наработки рекомбинантных белков, полученных с помощью методов как вирусной, так и невирусной трансформации.

Ссылки:

- Шен К., Майкл П.О., Кси К., Хакер Д.Л. и Вурм Ф.М. (2011). Транзистентная трансфекция клеток Sf-9 насекомых в биореакторах TubeSpin® 50. BMC Proc 5 (Прил. 8): стр. 37
- Кси К., Майкл П.О., Балди Л., Хакер Д.Л., Цанг К. и Вурм Ф.М. (2011). Биореактор TubeSpin 50 для высоко концентрированного культивирования клеток Sf-9 насекомых в суспензии. Biotechnol Lett 33(5): 897-902.

Благодарности: Мы благодарим доктора Финляндского университета Ювяскюля Леона Гильберта за рекомбинант GFP бакуловируса. Эта работа была поддержана КТИ-программой Швейцарского министерства экономики, Швейцарской национальной научной организацией (SNSF) и Академией Финляндии (Решение № 135820). Благодарим TPP (Траздинген, Швейцария) за предоставление биореакторов TubeSpin®.