

Artículos sobre Técnicas

Ventajas del ratón híbrido F1 para la producción de anticuerpos monoclonales.

R. CASTILLO, A. VELOSO, C. BRITO, L. CABRERA y P.P. MACÍNEIRA

Departamento de Animales y Tumores Experimentales, Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología, 29 y E, Vedado, Habana 4, Cuba.

Recibido en septiembre de 1989

Aprobado en noviembre de 1989

RESUMEN

Fueron apareados ratones hembras IOR/Hab con machos BALB/c para producir ratones híbridos F1 con características reproductivas y peso corporal superior al parental BALB/c. Las células del hibridoma anti-T3 fueron inyectadas intraperitonealmente en los ratones F1 y produjeron tumores ascíticos ricos en anticuerpos monoclonales.

Ratones BALB/c e híbridos F1 de 20-22 g fueron tratados con 0,3 ml de adyuvante incompleto de Freund, seis días antes de la inoculación de 1×10^6 células del hibridoma.

Los ratones F1 produjeron dos veces más fluido ascítico que los ratones BALB/c a iguales niveles de anticuerpo monoclonal. Se sugiere el uso de ratones híbridos F1 por ser mejores productores de fluidos ascíticos ricos en anticuerpo monoclonal y por lo tanto, resulta menos costoso el procedimiento.

ABSTRACT

Female IOR/Hab and male BALB/c mice were crossed in order to obtain F1 hybrids with improved reproductive characteristics and higher corporal weight than BALB/c parents.

Anti-T3 hybridoma cells were intraperitoneally inoculated in F1 mice and ascitic tumours rich in monoclonal antibodies were produced. Six days before the inoculation of 1×10^6 hybridoma cells, the BALB/c and F1 hybrid mice of 20-22 g were treated with 0.3 ml of Freund's incomplete adjuvant. F1 mice produced two times more ascitic fluid than BALB/c mice with the same monoclonal antibodies

concentration. The use of F1 hybrid mice is recommended for being less expensive and better producing ascitic fluid rich in monoclonal antibodies.

INTRODUCCION

Los anticuerpos monoclonales (AcM) son cada vez más utilizados en las investigaciones biomédicas y hoy día constituyen una "herramienta" fundamental para el diagnóstico y el tratamiento de diversas enfermedades en animales y en personas (Yamada, 1987).

Los hibridomas que se generan a partir del ratón crecen rápidamente como tumores ascíticos en líneas de ratones histocompatibles y secretan AcM específicos. La línea consanguínea de ratones BALB/c es la más utilizada para el crecimiento de hibridomas derivados de la fusión de células del mieloma y del bazo de procedencia BALB/c (Hoogenraad, 1986).

La mayoría de las líneas consanguíneas de animales presentan baja fertilidad y elevada mortalidad, lo que encarece su producción (Castillo, 1983).

En este trabajo se describe la producción de fluido ascítico maligno (FAM) rico en AcM en ratones híbridos F1, obtenidos del

cruzamiento de machos BALB/cHab (BH) con hembras de la línea consanguínea IOR/Hab (IH), que presenta como característica fundamental una elevada fertilidad y baja mortalidad en nuestras condiciones tropicales (Castillo, 1983; 1984).

MATERIALES Y METODOS

Los ratones BH e IH son obtenidos a partir de un sistema reproductivo consanguíneo mantenido por más de 10 años en el Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología (INOR). Los ratones BH machos fueron apareados con hembras IH y mantenidos en la misma caja durante todo el período reproductivo para aprovechar la preñez post-parto.

Las crías obtenidas por el cruzamiento del IH x BH fueron denominadas IBF1, destetadas a los 21 días y usadas cuando alcanzaron 20-22 g de peso corporal, al igual que los ratones BH.

La producción del FAM en las líneas BH e IBF1 en los dos sexos fue evaluada mediante los siguientes parámetros: volumen promedio recolectado por animal, niveles de inmunoglobulinas (IgG) por el método de inmunodifusión radial, porcentaje de la actividad biológica mediante la inmunofluorescencia indirecta y duración de la producción del FAM.

Los parámetros óptimos para la producción del FAM con el hibridoma anti T3 (T3) fueron determinados previamente para los ratones BALB/c y utilizados en este experimento. Los ratones se preinocularon con 0,3 ml de adyuvante incompleto de Freund, seis días antes de la inoculación intraperitoneal (i.p.) de 1×10^6 células híbridas T3 suspendidas en medio RPMI 1640.

El T3 secreta una inmunoglobulina (AcM) tipo IgG2a que reconoce un antígeno de superficie de los linfocitos T humanos.

A cada ratón se le extrajo el FAM 2-3 veces por semana, hasta su muerte.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los ratones IH tienen mayor fertilidad, más baja mortalidad y mayor peso, respecto a otras líneas consanguíneas (Castillo, 1983; 1984). El promedio de crías nacidas para el IH es de 7,3 con el 3,5 % de pérdida en el momento del destete, mientras que la línea BH presenta un promedio de 4,5 crías nacidas por hembra con 20 % de pérdida al

destete. El cruzamiento de las hembras IH con machos BH produce ratones híbridos IBF1, con un promedio de 8,1 crías nacidas y 6,1 % de pérdida al destete.

Además, la línea IH alcanza un mayor peso en tiempos más cortos. A los 45 días de nacidas, las hembras IH tienen un peso corporal promedio de 19,4 g y los machos 22,9 g, mientras que las hembras BH alcanzan, en esa misma edad, un peso de 15 g y los machos 16,7 g.

El comportamiento del peso para el IBF1 es ligeramente superior al IH. Así, el híbrido IBF1 presenta características reproductivas y peso corporal algo superiores al parental IH y al mismo tiempo una similitud genética al parental BALB/c, que permite el prendimiento y desarrollo de los hibridomas de origen BALB/c como tumor ascítico.

Como se observa en la tabla 1, el porcentaje de la actividad biológica y la concentración de IgG son similares en ambas líneas. Los IBF1 producen alrededor de dos veces más FAM que los BH, duplicando la concentración total de IgG. Respecto al sexo no hubo diferencias entre los parámetros evaluados, solamente se halló un volumen promedio algo superior en los machos IBF1 (8,5 ml/ratón) respecto a las hembras IBF1 (6,3 ml/ratón) y para el BH de 5 ml/ratón hembra y 4 ml/ratón macho.

Brodeur (1986) reporta aún diferencias mayores en la recolección de FAM entre el híbrido (SW/HP x BALB/c)F1 y el parental BALB/c que las reportadas por nosotros. La producción del FAM comenzó seis días después del trasplante para todos los grupos, y con el 100 % de prendimiento del tumor. Tres días después, se inició la primera extracción y se mantuvo la producción de ascitis continua durante 12 a 16 días posteriores a la inoculación, donde sobrevino la muerte de los animales, la cual fue semejante para ambos grupos y sexos.

Tabla 1

COMPARACION DEL PORCENTAJE DE LA ACTIVIDAD BIOLOGICA, CONCENTRACION DE IgG Y EL VOLUMEN DE FAM RECOLECTADO EN RATONES BH E IBF1

	BH	IBF1
Actividad Biológica ¹ (%)	66	65
IgG ² (mg/ml)	1,06	1,28
Volumen FAM ³ (x ± SD)	4,5 ± 0,7	7,4 ± 1,5
Concentración de IgG (mg/ml)	4,78	9,8

¹ Porcentaje de la actividad biológica del AcM determinada en el FAM.² Concentración de la inmunoglobulina tipo IgG.³ Volumen promedio ± desviación estándar, recolectado por ratón.

En nuestro estudio, la mayor producción de FAM en los IBF1 se produjo a causa de una velocidad mayor de producción de ascitis y no a una sobrevida más prolongada, como la reportada por Brodeur (1986).

Según los datos reproductivos, el costo del híbrido F1 es menor que el de la línea consanguínea BALB/c. Nosotros obtuvimos algo más de dos ratones IBF1 por uno BH, alcanzando los F1 el peso adecuado en menor tiempo. Esto equivale al ahorro de espacio, alimento, cajas, etc. Nuestros resultados evidencian que los ratones IBF1 adquieren las características favorables de fertilidad de la línea IH y que los hibridomas obtenidos por la fusión de un mieloma de origen BALB/c con células del bazo de la misma línea pueden trasplantarse con éxito en ratones híbridos F1, más económicos y mejores productores de FAM a iguales niveles del AcM.

Esta experiencia puede llevarse a cabo con otras líneas de ratones, principalmente utilizando parentales no consanguíneos de elevada fertilidad, lo cual prevé resultados aun mayores.

REFERENCIAS

- BRODUEUR, B.R. y H. TSANG (1986). *High yield monoclonal antibody production in ascites*. J. Immunol. Methods, **86**: 239-245.
- CASTILLO, R. (1983). *Estudio del grado de consanguinidad de la fertilidad potencial en animales de laboratorio*. Rev. Cub. Invest. Bioméd., **2**: 106-117.
- CASTILLO, R. (1984). *Características biológicas de una línea isogénica de ratones desarrollada en Cuba*. Rev. Cub. Ciencia y Técnica en la Agricultura. Secc. Vet., **6**: 43-55.
- HOOGENRAAD, N. y C. WRAIGHT (1986). *The effect of Pristane on ascites tumor formation and monoclonal antibody production*. Methods and Enzymology, **121**: 375-381.
- YAMADA, T.; S. HIROHASHI; T. SHIMASATO; M. WATANABE; S. KAMIRO, T. KNII y Y. HAYATA (1987). *Monoclonal antibody raised by sera of athymic mice bearing human lung cancer xenografts*. Oncology, **44**: 186-191.