

---

**Charla****Producción de BeNToglucerasa para el tratamiento no invasivo de la enfermedad de Gaucher**Cotán, D.<sup>1</sup>, Luque Villalta, JC.<sup>1</sup> y Infante, Juan J.<sup>1,\*</sup>

Bionaturis, Ctra. de Utrera, km.1 41013, Sevilla edf. 24 CABD

**Palabras clave:** glucocerebrosidasa, enfermedad de Gaucher, fármaco oral**RESUMEN**

La enfermedad de Gaucher es una enfermedad rara de almacenamiento lisosomal provocada por mutaciones en el gen que codifica para la proteína beta-glucocerebrosidasa que cataliza la hidrólisis del glicolípido glucocerebrósido a glucosa y ceramida. Las personas que padecen dicha enfermedad son incapaces de descomponer el glucocerebrósido, por lo que permanece almacenado dentro de los lisosomas.

El síndrome de Gaucher se clasifica en tres tipos, dos de los cuales, el tipo II o subaguda y tipo III crónica, son de carácter neuropático y además son menos frecuentes.

Actualmente las terapias están dirigidas a eliminación de sustrato o terapias de reemplazo enzimático, siendo esta última la que más éxito reporta. Se suministra la enzima exógenamente vía intravenosa y reduce algunos síntomas como la hepatoesplenomegalia. Por otro lado, presenta algunos inconvenientes, como la incapacidad de atravesar la barrera hematoencefálica, lo que la hace ineficaz para los tipos neuropáticos. Además, su administración ha de ser continua y frecuente por su corta vida media en sangre.

Bionaturis pretende conseguir la administración del fármaco vía oral y atravesar la barrera hematoencefálica, a través de la acumulación de distintas versiones de glucocerebrosidasa humana mejorada utilizando la plataforma FLYLIFE y secuencias estabilizadoras y promotoras del cruce de barreras biológicas.

Partiendo de la síntesis de secuencias de nucleótidos de las distintas versiones de glucocerebrosidasa, procedimos a clonaras en vectores de expresión baculovíricos, que se utilizaron para insertar los constructos en el Master Viral DNA de Bionaturis y crear baculovirus recombinantes de trabajo o Working Viral Banks (WVB). Para ello se realizó la co-transfección de células de insectos (sf21) y se obtuvieron los baculovirus con la secuencia de interés por recombinación homóloga. Tras la amplificación de los stocks de baculovirus, procedimos a la caracterización de los WVBs, mediante tests de identidad, pureza y potencia que incluye el análisis de la expresión del producto de interés en células de insecto. Los resultados han sido positivos y muestran la presencia de glucocerebrosidasa recombinante en sedimento celular pero no en el sobrenadante de los cultivos infectados. Nuestros siguientes pasos van enfocados al test de expresión en larvas de lepidópteros y posterior purificación de los productos de interés.

**BIBLIOGRAFIA**

- (1) Begley, D., Pontikis, C., & Scarpa, M. (2008). Lysosomal Storage Diseases and the Blood-Brain Barrier. *Current Pharmaceutical Design*, 14(16), 1566–1580. doi:10.2174/138161208784705504
- (2) Giraldo, P., & Roca, M. (2011). [Therapeutic targets in Gaucher's disease]. *Medicina clínica*, 137 Suppl 1, 46-49. doi:10.1016/S0025-7753(11)70017-3
- (3) Lee, J.-Y., Lee, B. H., Kim, G.-H., Jung, C.-W., Lee, J., Choi, J.-H., & Yoo, H.-W. (2012). Clinical and genetic characteristics of Gaucher disease according to phenotypic subgroups. *Korean journal of pediatrics*, 55(2), 48-53. doi:10.3345/kjp.2012.55.2.48
- (4) Vaags, A. K., Campbell, T. N., & Choy, F. Y. M. (2005). HIV TAT variants
- (5) Vairo, F., Netto, C., Dorneles, A., Mittelstadt, S., Wilke, M., Doneda, D. Schwartz, I. V.D.(2013). Enzyme Replacement Therapy in a Patient with Gaucher Disease Type III: A Paradigmatic Case Showing Severe Adverse Reactions Started a Long Time After the Beginning of Treatment. *JIMD reports*. doi:10.1007/8904\_2013\_214