

BIO 10 - Avaliação de diferentes sistemas de cultivo em escala de bancada para a expressão transiente de anticorpos monoclonais

Úrsula Fernanda Tavares Rodrigues da Silva^{1*}; Ana Caroline Cavalcante de Araújo¹; Guillermo Marini¹; José Procópio Moreno Senna¹.

¹ Bio-Manguinhos / Fiocruz.

Introdução:

A expressão de anticorpos monoclonais em escala de bancada é uma etapa importante para a geração de quantidades suficientes de anticorpos, para a realização de ensaios visando estabelecer prova de princípio. Isto é fundamental, visto que o desenvolvimento de sistemas de expressão estável com o propósito de produção em larga escala, pode levar tempo, e caso os estudos de prova de conceito não proporcionem o resultado desejado, um grande investimento de tempo e recursos terão sido gastos.

Objetivo:

Avaliar o aumento da produtividade de anticorpos monoclonais recombinantes anti-PBP2a de MRSA, através da expressão transiente utilizando diferentes sistemas de cultivo, modo de operação, e analisando também a influência do fator operacional temperatura. E em seguida, estabelecer as melhores condições de rendimento e cultivo.

Metodologia:

Para avaliação do sistema de cultivo serão utilizados: erlemeyers, frascos spinner e garrafas roller. Será estudado, o modo de operação batelada e semi-perfusão. Além disto, será avaliada a influência do fator operacional temperatura em condições de hipotermia. Os parâmetros de caracterização da produção do anticorpo incluem ensaios por SDS-Page, ponto isoelétrico, isoformas, formação de agregado e atividade neutralizante, avaliação do crescimento, viabilidade celular e concentração de anticorpos monoclonais pós transfecção. Na expressão transitória de proteínas terapêuticas, será empregado o sistema EXPI-293 (*Thermo Fischer Scientific*), para geração de anticorpos monoclonais terapêuticos com a finalidade de realização de ensaios preliminares de demonstração de prova de princípio.

Resultados:

Ensaio preliminares empregando a expressão transiente no modo de operação batelada e cultivo em triplicata de erlenmeyers, utilizando também células controle, além do branco de reagentes (células e reagentes de transfecção) revelaram que as células não transfectadas (células controle) continuaram crescendo após o tempo de início. O mesmo não foi observado nas triplicatas e nem no branco. Após a transfecção das células e cultivo, os sobrenadantes das triplicatas foram purificados. O rendimento observado no cromatograma de purificação foi baixo, como observado em ensaios anteriores.

Conclusão:

Os resultados preliminares indicam que foram obtidos resultados de baixo rendimento no protocolo indicado pelo fabricante. Isso faz com que seja necessário avaliar outros sistemas de cultivos e modo de operação (como a troca de meio a cada 48 horas / semi-perfusão) para tentar obter uma melhora na produtividade do anticorpo monoclonal. As perspectivas incluem o término da caracterização do processo iniciado em erlenmeyers e nas próximas etapas, avaliar a experimentação no sistema Roller e Spinner. A partir, disto selecionar o sistema de maior produtividade e avaliar os diferentes modos de operação (batelada e semi-perfusão) e o fator operacional temperatura em condições de hipotermia no rendimento do anticorpo monoclonal produzido.

Palavras-Chave: Anticorpos monoclonais; Expressão transiente; Sistemas de cultivo