

B9 Estudo de diferentes suplementos de meios de cultivo para otimizar cultivos de células CHO para produção de eritropoetina humana recombinante

Álvaro Paiva Braga de Sousa¹, Ethiene da Silva Correa¹, Tiago Pereira dos Santos¹, Marina Vergne de Almeida¹, Rodrigo Coelho Ventura Pinto¹

¹ Bio-Manguinhos, Fiocruz, RJ

Introdução: Bio-Manguinhos/Fiocruz, em atendimento à demanda do Ministério da Saúde do Brasil, produz biofármacos, imunobiológicos e reagentes para diagnósticos. A produção de biofármacos baseada no cultivo de células animais depende de diversos fatores que podem influenciar na qualidade final do produto. Suplementos e meios nutrientes contendo substratos essenciais ao crescimento celular e para a síntese das proteínas heterólogas são de grande importância, pois influenciam diretamente no perfil bioquímico do produto e, conseqüentemente, nos atributos de qualidade da molécula. Meios de cultivos e suplementos capazes de aumentar as concentrações de células e produtividade volumétrica, sem alterar as principais características do produto, tornam-se fundamentais para a produção em larga escala. Neste contexto, diferentes suplementos foram estudados, comparados ao meio de cultivo padrão, quanto à capacidade de sustentar a proliferação celular, visando à otimização do cultivo para a produção da Alfaepoetina.

Objetivo: Comparar diferentes suplementos (Hyclone GE), livres de componentes animal, para otimizar os cultivos de células CHO produtoras da eritropoetina humana recombinante (rh-EPO) em frasco estático.

Metodologia: Células CHO produtoras da rh-EPO foram cultivadas em frascos estáticos do tipo T25cm², utilizando meio de cultivo SFM4CHO – Utility™ (Hyclone GE), 100mM de L-Glutamina, em um volume de trabalho de 6mL por frasco. Cada suplemento a ser estudado foi preparado na concentração de 100g/L e adicionados ao meio de cultivo na concentração de 10% (v/v) no dia zero de cultivo, 30 minutos antes da realização do inóculo celular inicial de 2.0x10⁵ células viáveis/mL e viabilidade inicial na faixa de 90-95%. A quantificação celular foi realizada em câmara de Neubauer, utilizando Cristal Violeta (células totais) e Azul de Trypan (células viáveis) a 0.4% (p/v) (Sanford et al. 1950).

Resultados: Foram adicionados 06 diferentes suplementos ao meio de cultivo controle. Nos cultivos inoculados com o suplemento CB2, a concentração máxima foi 26.67x10⁵ células viáveis/mL no 4º dia, e maior viabilidade do 2º (88.21%) ao 8º dia (63.75%). Nos cultivos inoculados com o suplemento CB4, as concentrações máximas foram

de 32.55×10^5 a 32.77×10^5 células viáveis/mL, do 4º ao 6º dia, respectivamente, e maior viabilidade do 3º (88.29%) ao 8º dia (36.86%). A viabilidade do controle a partir do 6º dia sofreu queda significativamente maior quando comparado à maioria dos suplementos.

Conclusão: Em geral os suplementos CB2 e CB4 apresentaram relativa melhora na performance do cultivo. Apesar do suplemento CB2 não alcançar concentração máxima significativamente superior ao meio controle, este sustentou uma maior proliferação na fase exponencial, além do maior período com alta viabilidade. O Suplemento CB4 obteve melhor performance quanto à concentração celular máxima e sua manutenção por período mais prolongado, além de melhor viabilidade celular. Sugere-se que os suplementos citados possuem influência positiva na proliferação celular, viabilidade e possivelmente na produtividade volumétrica do processo.

Palavras-Chave: Produção Alfaeopetina, Biofármacos, Células CHO