

BIO 01 - Avaliação de suplementos nutricionais no cultivo de células CHO recombinantes em suspensão

Ethiene da Silva Corrêa Rocha^{1*}; Tiago Pereira dos Santos¹; Rodrigo Coelho Ventura Pinto¹; Álvaro Paiva Braga de Sousa¹.

¹ Bio-Manguinhos / Fiocruz.

Introdução:

Com o avanço das técnicas de biologia molecular, os cultivos celulares passaram a ser uma importante plataforma para a produção de proteínas recombinantes com fins terapêuticos, como os biofármacos. A Eritropoetina humana recombinante (EPOhr) obtida por processos biotecnológicos é um biofármaco utilizado principalmente no tratamento da anemia associada à insuficiência renal crônica. A EPOhr é produzida em sistemas de cultivo de células animais, utilizando principalmente a linhagem celular CHO (*Chinese Hamster Ovary*). Estratégias de suplementação do meio de cultivo com componentes-chaves para o metabolismo das células estão associadas ao incremento de taxas específicas de crescimento e síntese de produto, além de garantir atributos necessários para a qualidade do produto. Os suplementos estudados foram avaliados a partir de planejamento experimental fornecendo ferramentas que favoreçam a compreensão dos dados experimentais.

Objetivo:

Comparar a performance dos cultivos de células CHO expressando EPOhr suplementados com diferentes formulações nutricionais utilizando suplementos nutricionais (*Cell Boost*) e, identificar quais *Cell Boost* poderão contribuir na obtenção de maior concentração de células viáveis/mL e de EPOhr produzida.

Metodologia:

Foram estudados seis suplementos nutricionais comerciais adicionados a 10% (v/v) no primeiro dia de cultivo (dia zero) ao meio de cultivo base, SFM4CHO -Utility, observando a influência sobre a proliferação celular e a produção da EPOhr. Inicialmente, utilizando planejamento fatorial fracionado 2⁶-2 foram identificados três suplementos que influenciaram positivamente os cultivos. Foi realizado o cálculo da integral de células viáveis (ICV) e, a dosagem de EPOhr (µg/mL) por ELISA. Os dados experimentais foram

analisados empregando o programa Statistica. O planejamento fatorial completo não propôs um modelo matemático esperado, então realizou-se um delineamento composto central rotacional (DCCR) que possibilitou melhor avaliação dos efeitos dos suplementos. Os cultivos celulares foram realizados em frascos T25 cm², mantidos a 37°C, sem CO₂.

Resultado:

A combinação dos suplementos (CB2, CB4 e CB5) melhorou o desempenho do cultivo celular e alcançou maior concentração de EPOhr. A partir do delineamento experimental, foi possível identificar as concentrações ideais dos suplementos CB2 (37,5g/L) e CB5 (12,5 g/L), que favoreceram o aumento da proliferação celular e da secreção da proteína EPOhr. A maior concentração foi de $3,27 \times 10^7$ células.dia/mL para a formulação (F11) no planejamento fatorial fracionado, e a maior concentração de EPOhr foi de 119,65 µg/mL para a formulação (F2) no DCCR.

Conclusão:

A técnica de planejamento experimental atendeu satisfatoriamente ao processo de seleção dentre os seis suplementos estudados (CB1, CB2, CB3, CB4, CB5 e CB6), fornecendo ferramentas que favoreceram a compreensão dos dados experimentais. As técnicas estatísticas utilizadas permitiram quantificar os efeitos das variáveis de processo resultando em significativo aumento de 103,11% na integral de células viáveis e de 207,98% na produção de EPOhr, selecionando, desta forma, os suplementos (CB2, CB4 e CB5).

Palavras-chave: Planejamento experimental; suplementos nutricionais; CHO