

R20 - ESTABELECIMENTO DO BANCO DE CÉLULAS MESTRE PARA PRODUÇÃO DA TAQ DNA POLIMERASE PARA O KIT NAT HIV / HCV BIO-MANGUINHOS

Vanessa da Silveira dos Santos Pacheco¹, Elezer Monte Blanco Lemes²

1. Bio-Manguinhos, Fiocruz, Departamento de Garantia da Qualidade, Rio de Janeiro, Brasil.
2. Bio-Manguinhos, Fiocruz, Vice Diretoria de Produção, Rio de Janeiro, Brasil.

Objetivos: O presente trabalho estabelece do banco de células mestre (BCM) para a produção da enzima Taq DNA polimerase, que compõe um dos insumos do kit NAT HIV / HCV de Bio-Manguinhos, alvo de transferência de tecnologia e avalia também a estabilidade do mesmo, por pelo 11 meses.

Metodologia: Previamente a confecção do BCM foram analisados separadamente o plasmídeo BioMTaq e a célula competente One Shot[®] InvαF' de forma a checar a presença do gene de interesse (Taq DNA polimerase de 2507 pb), bem como a capacidade de transformação da célula. Foi, então, realizada a transformação do plasmídeo BioMTaq na célula competente One Shot[®] InvαF', seguida de cultivo em meio LB com ampicilina. Após análise individual de diferentes clones obtidos quanto a crescimento, aspecto e nível de expressão, o melhor clone foi selecionado. Este foi cultivado e criopreservado em glicerol originando o BCM. Após seu estabelecimento, definiu-se uma matriz para o estudo de estabilidade, de forma a avaliar as condições microbiológicas, bioquímicas e moleculares com o tempo de preservação, através dos estudos de viabilidade, estabilidade plasmídica e nível de expressão da Taq DNA polimerase.

Resultados: A análise individual do plasmídeo e da célula competente mostrou que ambos se encontravam em perfeitas condições para a transformação e conseqüentemente para o estabelecimento do banco de células mestre. A partir dos resultados do estudo de estabilidade, os testes de viabilidade, estabilidade plasmídica e nível de expressão da Taq DNA polimerase foram satisfatórios frente aos critérios pré-estabelecidos e o estudo de

estabilidade demonstrou a reprodutibilidade dos ensaios propostos, bem como a estabilidade plasmídica após 11 meses de armazenamento a -70°C .

Conclusão: Concluiu-se que foi estabelecido um banco de células mestre homogêneo para a produção da Taq DNA polimerase e o estudo de estabilidade mostrou que as condições adotadas foram eficientes em manter a estabilidade do banco de células mestre em até 11 meses. Além disso, o estudo permitiu atender os requisitos técnicos para registro de produtos biológicos e biotecnológicos demandados pela Conferência Internacional para Harmonização e a RDC 55 de 2010.