

Avaliação do cultivo de células CHO adaptadas a suspensão em diferentes formulações de meios de cultura comerciais livres de soro

Larissa Andrade Almeida e Carlos Roberto Jorge Soares
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN

INTRODUÇÃO

Com os avanços da biotecnologia e o uso de células de mamífero como plataforma de síntese de proteínas terapêuticas recombinantes, algumas condições tem se tornado alvo para implementação de boas práticas de fabricação (BPF), sendo elas: as características da cultura, bem como o tipo de meio de cultura; são indicadores importantes na produção de biofármacos na indústria farmacêutica.

Alguns desses parâmetros podem ser determinados em escala piloto laboratorial (frascos *shakers* e frascos *spinner*), ou seja, são sistemas que permitem a avaliação da cultura e da produção, possibilitando o escalonamento do cultivo e também estabelecendo indicadores (viabilidade e densidade celular) e bons parâmetros para a produção (temperatura, concentração de CO₂ e rotação por minuto – rpm.)[1]

Os meios de cultivo são de extrema importância, visto que oferecem nutrientes básicos e um ambiente ideal para a manutenção osmótica, da temperatura e troca gasosa. [2] Visando a qualidade do cultivo, o uso de meios quimicamente definidos tem auxiliado na padronização da expressão de proteínas recombinantes, já que a eliminação de suplementos decorrente da variação de lote para lote do SFB permite uma avaliação mais fina da produção e do perfil de glicosilação de certas proteínas recombinantes.

OBJETIVO

Adaptar e comparar a cultura de células CHO (IPEN-hPRL) adaptada à suspensão em diferentes meios de cultivo comerciais livres de soro fetal bovino e proteínas.

METODOLOGIA

Foi utilizada uma linhagem de células CHO (IPEN-hPRL) adaptada ao crescimento em suspensão em meio CHO-S-SFM II (livre de soro e ATB). Em que primeiramente foi realizada uma expansão e criação de um *seed bank* de células CHO (IPEN-hPRL), conforme protocolos já utilizados pelo Centro de Biotecnologia. Estudos do crescimento foram realizados em frascos *shakers* e a adaptação ao meio ExpiCHO™ Expression Medium (Thermo) começou com 25% e prosseguiu para 50% em incubadora a 37°C com 8% CO₂ e agitação de 140 rpm.

Serão realizadas análises do meio condicionado e das frações resultantes das etapas de purificação da hPRL mediante eletroforese em gel de poliacrilamida 15% com 0,1% de dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), Western Blotting (WB) e cromatografia líquida de alta eficiência (RP-HPLC).

RESULTADOS

Ao realizar a cultura celular em frascos *spinner* percebemos que a concentração de células e a viabilidade não estava progredindo como esperado, portanto iniciamos a cultura em frascos *Shaker* contendo 30 ml de meio e aproximadamente 300.000 cél./ml, este

por sua vez obteve um melhor crescimento, visto isso iniciamos a adaptação com 25% e posteriormente 50% de meio ExpiCHO™, percebemos que a quantidade de células aumentava e a viabilidade permanecia em cerca de 90% por mais tempo, quando comparada ao meio CHO SFM II. Alíquotas do meio condicionado foram coletadas para as análises em SDS-PAGE, WB e RP-HPLC.

CONCLUSÕES

Os resultados preliminares, ou seja, da adaptação das células CHO-hPRL até 50% do meio ExpiCHO™ Expression Medium apresentaram-se promissores, porém os experimentos ficaram estagnados devido a pandemia e não foi possível obtê-los no tempo de vigência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] KALLEL, H., ZAÏRI, H., ROUROU, S., ESSAFI, M., BARBOUCHE, R., DELLAGI, K., FATHALLAH, D. M. Use of Taguchi's methods as a basis to optimize hybridoma cell line growth and antibody production in a spinner flask. **Cytotechnology**, v. 39, n.1, 9-14, 2002.

[2] VAN DER VALK, J., BRUNNER, D., DE SMET, K., SVENNINGSSEN, Å. F., HONEGGER, P., KNUDSEN, L. E., LINDL, T., NORABERG, J., PRICE, A. SCARINO, M. L., GSTRAUNTHALER, G. Optimization of chemically defined cell culture media—replacing fetal bovine serum in mammalian in vitro methods. **Toxicology in vitro**, v. 24, n. 4, 1053-1063, 2010.

APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

CNPq/PIBIC