

Título: Estabelecimento do banco de células mestre para produção da Taq DNA polimerase para o kit NAT HIV / HCV de Bio-Manguinhos / Fiocruz

Autor: Vanessa da Silveira dos Santos Pacheco

RESUMO

Considerando as propostas dos requisitos técnicos para o registro de produtos farmacêuticos da conferência internacional de harmonização, na categoria de qualidade Q5, e a diretriz da legislação brasileira RDC 55/2010, que já prevê o estabelecimento de banco de células mestre e de trabalho como pré-requisito para registro de produtos de origem biológica / biotecnológica, as áreas técnicas de Bio-Manguinhos/Fiocruz vem se antecipando as questões regulatórias e traçando estratégias para estabelecimentos do sistema de banco de células em seus produtos. A Taq DNA polimerase, enzima cuja produção foi alvo da transferência de *know how* entre Bio-Manguinhos, Qiagen e Instituto de Biologia Molecular do Paraná, é um dos insumos do kit NAT HIV/HCV. Este teste é utilizado no diagnóstico de antígenos de HVI e HCV em bancos de sangue, através da técnica de PCR em tempo real. Por ser um produto biológico, cuja variabilidade é intrínseca, a produção desta enzima é crítica quanto ao cumprimento das recomendações estabelecidas pelas boas práticas de fabricação. O objetivo do presente trabalho é o estabelecimento do banco de células mestre, bem como a avaliação dos parâmetros de estabilidade deste banco. Ao se propor na harmonização às exigências relativas à construção dos bancos, é possível garantir a segurança e eficácia do produto, além de garantir a homogeneidade, reprodutibilidade e eficiência na produtividade na produção dos lotes comerciais. Para tanto, foi realizada a transformação do plasmídeo BioMTaq em célula competente One Shot[®] InvαF', seguida de cultivo em meio seletivo. Após análise individual dos diferentes clones obtidos quanto a crescimento, aspecto e nível de expressão, o melhor clone foi selecionado. Este foi cultivado e criopreservado originando o banco de célula mestre. 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. Neste momento, foram realizados testes de viabilidade, estabilidade plasmídica e nível de expressão da Taq DNA polimerase. Ao fim das análises, foi possível concluir que foi estabelecido um banco de células 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 até 11 meses.