**VII SIMPOSIO INTERNACIONAL DE QUÍMICA**

 “Mejoras en la purificación de la purificación de la proteína P64Kr (*carrier*) usando un análisis de riesgo.”

 *“Advantages at P64Kr protein (used CIMAVAX-EGF carrier) purification process using a Risk Analysis”*

**Denis Alvarez Betancourt1, Monica M. Navarro2, Tatiana Alvarez Martin3, Yanet Proenza Delgado4, Lazaro Estenoz Cosme5, Mayte Pérez Caballero6, Osnel García Roque7, Aymara Quiala Mojena8.**

1-MC Denis Alvarez Betancourt. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), Cuba. e-mail: denis.alvarez@cigb.edu.cu.

2- MC Monica M. Navarro, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), Cuba. e-mail: monica.navarro@cigb.edu.cu.

3-Tatiana Alvarez, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), Cuba. e-mail: tatiana.alvarez@cigb.edu.cu.

4-Yanet Proenza, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), Cuba. e-mail: yanet.proenza@cigb.edu.cu.

5-Lazaro Estenoz, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), Cuba. e-mail: lazaro.estenoz.alvarez@cigb.edu.cu.

6-Mayte Pérez, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), Cuba. e-mail: mayte.perez@cigb.edu.cu.

7-Osnel García, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), Cuba. e-mail: osnel.garcia.alvarez@cigb.edu.cu.

8-Aymara Quiala. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), Cuba. e-mail: aymara.quiale@cigb.edu.cu.

**Resumen:**

La P64Kr es una proteína que se utiliza como *carrier* en la vacuna CIMVax-EGF. A partir de la utilización de las herramientas del análisis de riesgo AMFE y Análisis de Causa y Efecto, se realiza una propuesta de mejora de este proceso de purificación. Como acciones se realizó un cambio de la tecnología de purificación. Se incluye un protocolo de estudio de comparabilidad, la realización del proceso productivo modificado y la validación del mismo. Materiales y Métodos: Se utilizan las herramientas del análisis de riesgo a partir de los resultados de las revisiones periódicas de la calidad del proceso de purificación de la P64Kr. Se propone un cambio de los pasos de resuspensión, intercambio iónico y tamizado molecular. Se incluye un protocolo de comparabilidad y la modificación del plan maestro de validación de proceso. Se realizaron procesos productivos aplicando este cambio y se hace una comparación de la calidad de la proteína a partir de especificaciones establecidas. Se realizó además la validación del proceso productivo. Resultados y conclusiones: Con el cambio propuesto a partir del análisis de riesgo se pudo obtener un producto con la calidad requerida. No existieron diferencias significativas en los resultados de los pasos de purificación en cuanto a recobrado y pureza incrementando la misma del 95 al 98 %. Se conservan los extremos N y C terminal y se secuenció el 68.4 % de la proteína. La validación muestra el cumplimiento de las especificaciones y la caracterización de los pasos productivos en el proceso modificado.

***Abstract:***

*P64Kr is a protein used like carrier for CIMAVAX-EGF vaccine against lung cancer conjugated with EGFhr. Based on FMEA and Cause and Effect Analysis risk tools, a proposal is made to improve the purification process of this protein.**As actions of**Risk Analyses, changes in the purification technology were made****.*** *It includes a comparability protocol study, the realization of batch with modified productive process and its validation.**Materials and Methods: Risk analysis tools are used based on the results of periodic reviews of the quality for the P64Kr purification process during different campaign****.*** *A change of the steps of resuspension (Buffer modification), ion exchange (Inclusion of other wash) and buffer change chromatography (Substitution for UF/DF process) is proposed****.*** *A comparability protocol and modification of the process validation master plan are included.**Production processes were carried out applying there changes and a comparison of the quality of the protein is made according established specifications****.*** *The validation of the productive process was also carried out. Results and conclusions: With the proposed change from the risk analysis, a product with the required quality could be obtained. There were no significant differences in the results of the purification steps**in terms of recovery and purity, increasing it from 95 to 98 %. The N and C terminal ends were conserved and 68.4% of the protein was sequenced compared whit a reference material (batch without). The validation shows the fulfillment of the specifications and the characterization of the productive steps in the modified process.*

**Palabras Clave: *Carrier*; Riesgo; Purificación; P64Kr.**

***Keywords: Carrier, Risk; Purification; P64Kr***