

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Modelowanie matematyczne dynamiki procesu chromatografii białek o niestabilnej strukturze

Skuteczne oczyszczanie substancji, które mają zastosowanie medyczne jest jednym z najważniejszych i rzeczywistych celów inżynierii chemicznej. W przemyśle biofarmaceutycznym, jako związki farmaceutycznie czynne można zastosować tylko produkty o bardzo wysokiej czystości, gdyż zapewnia to ich stabilność biochemiczną oraz aktywność cząsteczki, a minimalizuje ich niepożądany wpływ na organizm. Dotyczy to zwłaszcza białek, a w szczególności odnosi się do przeciwciał monoklonalnych (mAbs), które ze względu na ich bardzo dużą selektywność, należą do najbardziej pożądanых białek stosowanych do celów terapeutycznych, diagnostycznych i analitycznych. Przeciwciała monoklonalne są stosowane jako leki oraz markery diagnostyczne w leczeniu wielu chorób, w tym różnych typów raka (na przykład reumatoidalnego zapalenia stawów, raka piersi).

Oczyszczanie białek, a zwłaszcza przeciwciał monoklonalnych, jest wciąż bardzo trudne. Wynika to ze złożoności zachowania się makrocząsteczek na powierzchni adsorbentu, w tym z konformacyjnymi zmianami ich struktury. Problemy związane ze stabilnością struktury konformacyjnej białek często powodują nieoczekiwane obniżenie selektywności i wydajności rozdzielania, a co za tym idzie strat w preparatywnej i przemysłowej chromatografii białek. Wynikają one z powstawaniem nieaktywnych form białka w wyniku jego rozwijania. Chociaż w ostatnich latach poświęcono tej kwestii znaczny potencjał badawczy, mechanizm rozwijania cząsteczek białka na złożach chromatograficznych nadal nie jest dobrze poznany. Mechanizm ten zależy od złożonych kinetycznych i termodynamicznych efektów adsorpcyjnych, na które z kolei mają wpływ różne zmienne procesowe i dlatego jest trudny do opisanego i przewidywanego. Ponadto, ze względu na trudności związane z pomiarami stabilności białek w kontakcie ze złożem chromatograficznym, jak również w interpretacji wyników takich pomiarów, zjawisko rozwijania białek zwykle przebiega w sposób niekontrolowany podczas procesu chromatograficznego.

Dlatego też w projekcie zamierza się podjąć badania nad mechanizmem rozwijania białka w obecności złoża chromatograficznego, a następnie opisać to zjawisko ilościowo formułując model matematyczny kinetyki tego mechanizmu, który zostanie zaimplementowany w modelu dynamiki chromatografii. Model ten zostanie wykorzystany do wyznaczenia okna operacyjnego dla efektywnego rozdzielania niestabilnych białek z zastosowaniem chromatografii.

W trakcie realizacji projektu zostanie użytych kilka ortogonalnych metod analitycznych do badania stabilności białka w fazie ciekłej i zaadsorbowanej, a w tym: metoda wymiany wodoru-deuteru połączona ze spektrometrią mas (HX-MS) oraz różnicowa fluorymetria skaningowa (DSF). Pierwsza z metod (HX-MS) jest to dokładna technika z ugruntowaną procedurą interpretacji pomiarów, jednak wiąże się to z wyrafinowaniem i czasochłonnością procedury doświadczalnej. Druga metoda (DSF) jest prosta, szybka i pozwala na wykonanie dużej liczby pomiarów przy bardzo małym zużyciu materiału. Jednakże jak do tej pory nie istnieje ilościowy opis danych generowanych przez DSF i ich powiązanie z przebiegiem procesu chromatograficznego. Dlatego w projekcie zamierza się znaleźć zależności pomiędzy wynikami otrzymanymi za pomocą HX-MS i DSF i opracować metodę interpretacji danych DSF i ich powiązania z przebiegiem elucji chromatograficznej. Wyniki tego cyklu badań będą podstawą opracowania procedury pozwalającej na formułowanie matematycznego modelu mechanizmu rozwijania białek na powierzchniach złożów chromatograficznych. Taka droga badawcza umożliwi wykorzystanie potencjału chromatografii białek, w tym mAbs, z jednoczesnym uniknięciem niepożądanych skutków wynikających ze strat wydajności towarzyszących chromatografii białek o niestabilnej strukturze oraz pozwoli na dobór odpowiednich warunków procesu oczyszczania, w którym chromatografia odgrywa najbardziej znaczącą rolę.

Przedmiotem badań będzie kilka białek modelowych, ze szczególnym uwzględnieniem przeciwciał monoklonalnych. Zostaną przebadane różne złoża chromatograficzne, które są powszechnie stosowane w oczyszczaniu mAbs, w chromatografii: jonowymiennej, oddziaływań hydrofobowych i powinowactwa. Część badań zostanie przeprowadzona we współpracy z grupą badawczą prof. G. Carty z Uniwersytetu w Wirginii, dysponującą specjalistycznym sprzętem do pomiarów HX-MS oraz do bezpośredniego wyznaczania kinetyki adsorpcji białek na powierzchni ziarna adsorbentu.