# POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

## Krystalizacja przeciwciał monoklonalnych przez wymuszone konwekcyjne odparowanie rozpuszczalnika

Białka oraz peptydy coraz częściej znajdują zastosowanie w biotechnologii i medycynie. Szczególnym zainteresowaniem w przemyśle biofarmaceutycznym cieszą się przeciwciała monoklonalne. Wykorzystuje się je w innowacyjnych terapiach przy leczeniu chorób nowotworowych i autoimmunologicznych.

Białka o znaczeniu terapeutycznym produkowane są z wykorzystaniem metod inżynierii genetycznej. W pierwszym etapie produkcji polipeptydy są syntezowane w zmodyfikowanych genetycznie komórkach bakteryjnych, zwierzęcych bądź roślinnych. Kolejny etap to tzw. DSP (Downstream Processing), w którym izoluje się białko – produkt kluczowy z mieszaniny pohodowlanej przy zastosowaniu zaawansowanych metod oczyszczania, głównie różnego rodzaju technik chromatograficznych. Specyficzna synteza oraz stosowanie specjalnych technik rozdzielania znacznie podnoszą koszt produkcji białek, w tym przeciwciał. Koszty DSP sięgają często nawet do 80% całkowitych kosztów produkcji, ponieważ gotowy produkt musi się charakteryzować wysoką czystością i pełną aktywnością biologiczną. W związku z tym obecnie badania naukowe ukierunkowane są na poszukiwanie nowych metod oczyszczania i rozdzielania białek, które pozwolą obniżyć te koszty.

Alternatywną metodą, która pozwala obniżyć koszty DSP jest krystalizacja. Metoda ta jeszcze do niedawna służyła prawie wyłącznie do uzyskiwania pojedynczych kryształów białek na potrzeby badań krystalograficznych. Obecnie coraz częściej wykorzystuje się ją do oczyszczania lub formulacji białek terapeutycznych w przemyśle biofarmaceutycznym. Zaletą tej techniki jest nie tylko niski kosztów procesu ale również wysoka wydajność oraz wysoka czystość i stabilność fazy krystalicznej. Ostatnia zaleta jest szczególnie istotna przy przechowywaniu gotowego produktu, ponieważ pozwala zachować pełną aktywność biologiczną polipeptydów przez długi czas.

Obecnie krystalizację realizuje się najczęściej jako proces okresowy prowadzony w termostatowanym reaktorze z mieszaniem. W takim reaktorze umieszcza się roztwór krystalizacyjny otrzymany przez bezpośrednie zmieszanie roztworu zawierającego białko z czynnikiem strącającym. Ze względu na możliwość występowania lokalnych gradientów stężenia czynnika strącającego takie postępowanie, może prowadzić do agregacji białek oraz/lub do powstawania fazy amorficznej. Dlatego też coraz częściej poszukuje się nowych sposobów realizacji procesu krystalizacji białek.

Jedną z nowych technik, która została opracowana w ramach mojej pracy doktorskiej, jest krystalizacja przez wymuszone konwekcyjne odparowanie rozpuszczalnika. W technice tej roztwór krystalizacyjny jest zatężany w wyniku odparowania wody w komorze, przez którą przepływa suche, ciepłe powietrze omywając powierzchnię roztworu. W tych warunkach prowadzenia procesu roztwór krystalizacyjny jednak nie ogrzewa się, a wręcz przeciwnie chłodzi w wyniku zużywania dużych ilości ciepła na odparowanie wody, a ten fakt sprzyja zachowaniu natywności białka. Powolny wzrost stężenia czynnika strącającego oraz białka w roztworze faworyzuje powstawanie fazy krystalicznej, a nie amorficznej. Dodatkową zaletą tej techniki jest możliwość prowadzenia procesu z roztworów o niskim stężeniu początkowym białka, które jest charakterystyczne dla mieszanin pohodowlanych w przemyśle biofarmaceutycznym.

Celem projektu jest zaimplementowanie krystalizacji przez wymuszone konwekcyjne odparowanie rozpuszczalnika do oczyszczaniem przeciwciał monoklonalnych o znaczeniu terapeutycznym. Zaproponowana przeze mnie koncepcja krystalizacji przez odparowanie rozpuszczalnika została zrealizowana jak dotąd wyłącznie dla białka modelowego (owoalbuminy). W ramach tego projektu krystalizacja zostanie wykorzystana do oczyszczania rzeczywistej mieszaniny przemysłowej. Mieszanina pohodowlana zawierająca przeciwciała monoklonalne o zastosowaniu terapeutycznym zostanie dostarczona przez firmę zewnętrzną.

W wyniku realizacji projektu opracowana będzie technika krystalizacji dla przeciwciała monoklonalnego przez wymuszone konwekcyjne odparowanie rozpuszczalnika. Dodatkowo zostanie zbadany wpływ parametrów operacyjnych na przebieg procesu, zostanie przeprowadzona optymalizacja wydajności procesu oraz opracowana procedura postępowania przy projektowaniu procesu. Wszystko to pozwoli w przyszłości na wykorzystanie tej nowej techniki krystalizacji do oczyszczania innych przeciwciał monoklonalnych produkowanych w przemyśle biofarmaceutycznym.