ناخالصی پروتئین‌های سلول میزبان HCPs و خطرات مرتبط با آلودگی محصولات نوترکیب دارویی

Hura Teb Pharmed

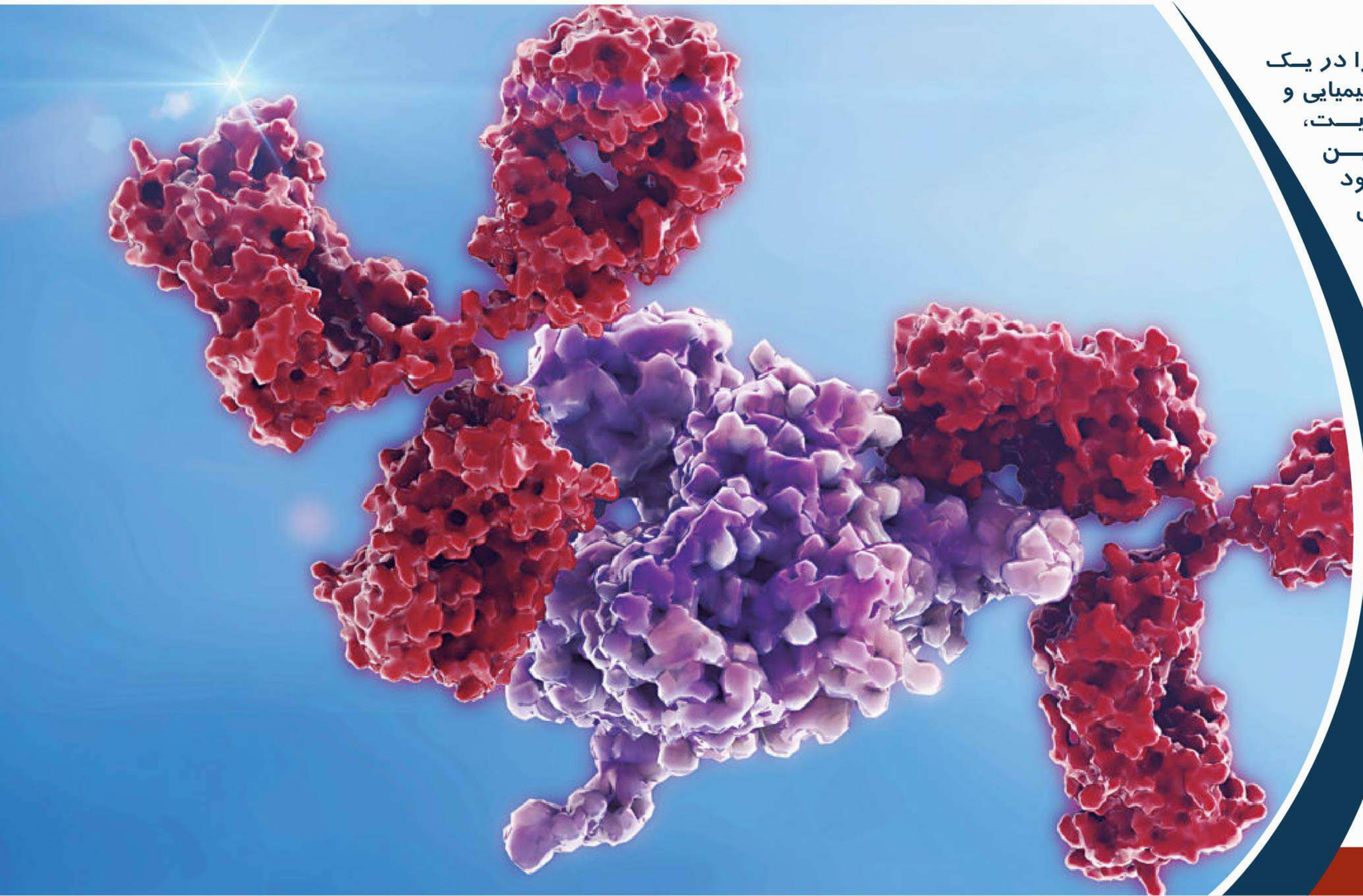
بسیاری از محصولات دارویی از طریق فناوری نوترکیب با استفاده از سلول میزبان (به عنوان مثال، باکتری، مخمر، سلول پستانداران، حشرات، یا رده های سلولی گیاهی) تولید می‌شوند. در طول تولید پروتئین نوترکیب، سلول‌های میزبان علاوه بر تولید محصول مورد نظر، پروتئین‌های مرتبط با عملکرد طبیعی سلول مانند رشد، تکثیر، بقا و غیره را نیز تولید می‌کنند.

علاوه بر این، با مرگ برخی از سلول‌ها، پروتئین‌های محلول و داخل سلولی آنها نیز در مایع کشت سلولی (CCF) آزاد می شود. بنابراین، CCF به دست‌آمده معمولاً به طور ناگزیرحاوی HCPهای ترشحی و درون سلولی است که منجر به ایجاد مخلوطی از محصول مورد نظر و ناخالصی تولید شده توسط سلول میزبان می‌شود.

به طور کلی، جدا از پروتئین درمانی مورد نظر، تمام پروتئین‌های درون‌زا که توسط سلول‌های میزبان بیان می‌شوند، پروتئین‌های سلول میزبان (HCP) نامیده می‌شوند.

خطرات مرتبط با HCP

Hura Teb Pharmed

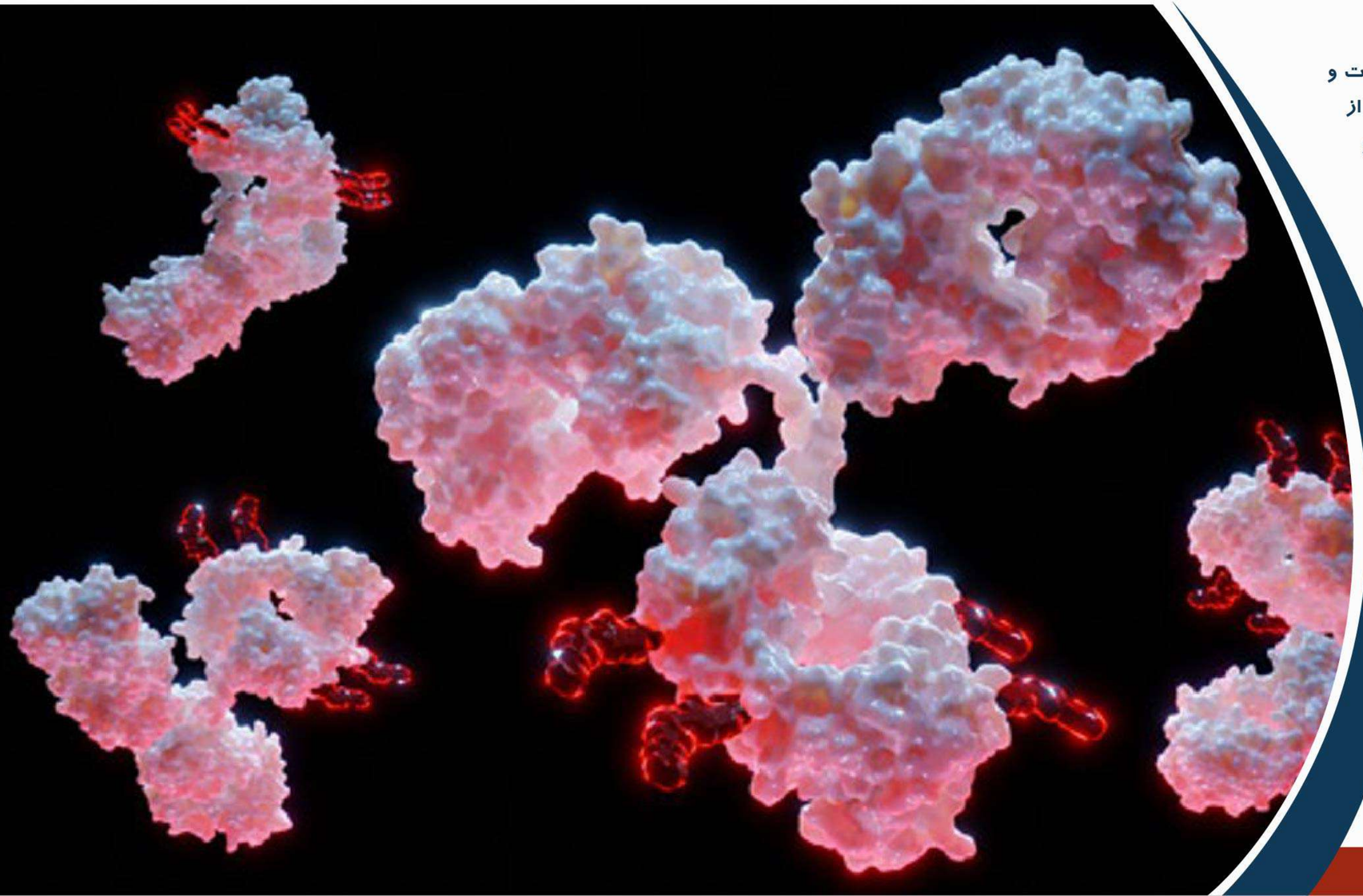


HCPها گروه عمده‌ای از ناخالصی‌های مربوط به فرآیند را در یک محصول دارویی تشکیل می‌دهند که خواص فیزیکوشیمیایی و ایمونولوژیکی متنوعی دارند. HCPهای تولیدشده بر کیفیت، ایمنی و کارایی محصول دارویی تأثیر می‌گذارند. این پروتئین‌ها حتی زمانی که در سطوح بسیار پایین وجود داشته باشند بسیار ایمنی‌زا هستند و سبب تولید آنتی بادی‌های ضد HCP و طوفان سایتوکاینی در انسان می‌گردند که در صورت عدم درمان، منجر به مرگ بیمار می‌شود. HCPها هم‌چنین در محصولات بیودارویی می‌توانند به عنوان ادجوانت عمل کرده و باعث تقویت پاسخ ایمنی به یک محصول دارویی گردند و بدین طریق ایمنی یا اثربخشی دارو را تحت تاثیر قرار دهند. HCPها هم چنین می‌توانند تأثیر مستقیمی بر کیفیت محصول مورد نظر داشته باشند. به عنوان مثال، HCPهای پروتئولیتیک، حتی در مقادیر بسیار اندک، می‌توانند محصول پروتئین مورد نظر را در طول زمان شکسته و قدرت بیولوژیکی آن را کاهش داده یا از بین ببرند.

بنابراین و با توجه به موارد اشاره شده، تشخیص و حذف پروتئین‌های سلول میزبان در محصولات درمانی یک اقدام ضروری است. از طرفی فرآیندهای تصفیه محصول باید بطور مرتب بهینه‌سازی شوند تا بتوان در حد امکان HCP ها را حذف یا غیرفعال کرد.

مشخصات HCP

Hura Teb Pharmed



مشخصات HCPها با توجه به نوع سلول میزبان، شرایط کشت و فرآیندهای تولید منحصر به فرد و خاص هستند. HCPها می‌توانند از نظر Pi (~۳-۱۱) و آب‌گریزی متفاوت باشند، و بسته به سلول میزبان و فرآیند ساخت مورد استفاده، طیف وسیعی از وزن‌های مولکولی (از ~ ۵ کیلو دالتون تا حداقل ~ ۲۵۰ کیلو دالتون) را شامل شوند. تعداد پروتئین‌های مشتق شده از سلول های میزبان نیز به طور قابل توجهی از میزبانی به میزبان دیگر متفاوت است و می‌تواند از چند صد تا بیش از هزار پروتئین باشد.

اگرچه سیستم‌های بیان مبتنی بر سلول مختلفی برای تولید محصولات دارویی وجود دارند اما بیشترین استفاده مربوط به سلول پروکاریوت E. coli سلول‌های پستانداران CHO، NSO، SP۲/۰ و رده سلولی کلیه جنینی انسان HEK۲۹۳ می‌باشد.

سنجش HCP اطلاعات مهمی از جمله ترکیب مواد وارد شده به فرآیند و تاثیر هر مرحله بر پاک‌سازی HCP ارائه می‌دهد. بنابراین بررسی خصوصیات فرآیند و اعتبار سنجی آن امری ضروری است. به این ترتیب، سنجش HCP بخش اساسی توسعه فرآیند تصفیه است و به اطمینان از ثبات تولید کمک می‌کند. در نهایت، برای اندازه‌گیری HCPهای موجود در محصول دارویی که به بیمار تحویل داده می‌شود، به سنجش‌های HCP تکرارپذیر و قابل اعتماد نیاز می‌باشد.

سنجش HCP

Hura Teb Pharmed

از آنجایی که این HCPها به طور بالقوه ایمونوژن هستند، یک روش مناسب برای ارزیابی حضور HCPها روش ایمونواسی است. رایج ترین نوع آن روش ایمنی سنجی ساندویچ می‌باشدکه از سیستم تشخیصی مبتنی بر آنزیم (ELISA)، رنگ سنجی، الکتروکمی لومینسانس (ECL) یا موارد دیگر استفاده می‌شود. این روش دارای حساسیت و اختصاصیت بالا می‌باشد. از طرفی می‌تواند نتایج را بصورت کمی ارائه دهد و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه است. سایر روش‌های ایمونواسی (به عنوان مثال، ایمونواسی‌های رقابتی) نیز وجود دارند که حساسیت و اختصاصیت آنها پایین تر از روش ایمنی سنجی ساندویچ می‌باشد.

در این روش از آنتی‌بادی‌های پلی کلونال جهت شناسایی انواع HCPها استفاده میگردد. جهت تولید آنتی بادی‌های ضد HCPها، مخلوط HCP را به حیوانی مانند خرگوش، بز یا مرغ تزریق می‌کنند. پاسخ ایمنی ایجاد شده در حیوانات سبب تولید آنتی‌بادی‌های ضد HCP می گردد. آنتی بادی های پلی کلونال تولید شده در حیوانات باید قادر به تشخیص همه و یا اکثرپروتئین‌های موجود در مخلوط HCP باشند.

علاوه بر روش ایمنی‌سنجی، انواع دیگر سنجش‌ها مانند الکتروفورز، پروتئومیکس و کروماتوگرافی نیز وجود دارند که می‌توانند به عنوان تست‌های تاییدی و مکمل پس از روش ایمنی سنجی مورد استفاده قرار گیرند.

با توجه به مطالب ذکر شده، تولیدکنندگان داروهای زیستی به یک سیستم کنترل یکپارچه نیاز دارند که از خلوص کلی محصول و سازگاری تولید اطمینان حاصل کند.