

УДК 573.6.086.83

АПРОБИРОВАНИЕ И ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОТОКОЛОВ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЧИСТОТЫ КОНЕЧНОГО ПРОДУКТА

Бойцова Д.В. (Университет ИТМО)

Научный руководитель – руководитель Группы получения и очистки белков

Ермолаева Е.О. (АО БИОКАД)

Введение. Разработка терапевтических моноклональных антител представляет собой сложный и многоступенчатый процесс, включающий наработку сотен иммуноглобулинов и их детальную характеризацию. Однако, учитывая большое количество молекул, применение нескольких стадий очистки становится затруднительным, так как это значительно увеличивает сроки и стоимость разработки. Очищенные в одну стадию антитела могут содержать множество различных примесей, таких как агрегаты, фрагменты антител, примесные белки продуцентов и нуклеиновые кислоты [1]. Эти примеси негативно сказываются на иммуногенности препарата, его стабильности и связывании с целевым антигеном, что затрудняет интерпретацию полученных данных и может затруднить выбор финальной молекулы. Так, оптимизация выделения и очистки, этапов отмывки и элюции, антитела на сорбенте с белком А может существенно повысить чистоту получаемых антител, что, в свою очередь, упрощает процесс характеризации молекул и способствует ускоренному выбору молекулы для дальнейшей разработки.

Основная часть. В задачи данной работы входило апробирование и оптимизация протоколов хроматографической очистки на сорбенте с белком А моноклонального антитела формата IgG1 для повышения чистоты конечного продукта. Процесс работы включает несколько ключевых этапов. Первым шагом является осветление клеточной жидкости, которое выполняется с помощью фильтрации на фильтре с диаметром пор 0,22 мкм. Этот этап необходим для удаления клеточных остатков и других взвешенных частиц, что позволяет улучшить качество последующей очистки. Следующим этапом является выделение и очистка целевой молекулы — моноклонального антитела — методом аффинной хроматографии на белке А. В этом процессе применяются как стандартный для компании протокол, так и экспериментальные протоколы, позволяющие повысить чистоту целевой молекулы [1–4]. Для анализа полученных фракций используется два метода. Во-первых, проводится исследование собранных фракций с помощью вертикального гель-электрофореза. Во-вторых, осуществляется эксклюзионная высокоэффективная жидкостная хроматография, которая помогает количественно определить содержание мономера моноклонального антитела и примесных молекул [5].

Выводы. Были апробированы и оптимизированы экспериментальные протоколы хроматографической очистки моноклональных антител на сорбенте с белком А. Проведено сравнение качества препарата антитела, полученного с помощью стандартного для компании протокола, и препаратов антител, полученных с помощью экспериментальных подходов.

Список использованных источников:

1. Imura Y. et al. Washing with alkaline solutions in protein A purification improves physicochemical properties of monoclonal antibodies // *Sci Rep*. 2021. Vol. 11, № 1.
2. Stange C. et al. Influence of excipients in Protein A chromatography and virus inactivation // *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2021. Vol. 1179.
3. Shukla A.A., Hinckley P. Host cell protein clearance during protein a chromatography: Development of an improved column wash Step // *Biotechnol Prog*. 2008. Vol. 24, № 5.

4. Wang S., Raghani A. Arginine as an eluent for automated on-line Protein A/size exclusion chromatographic analysis of monoclonal antibody aggregates in cell culture // J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2014. Vol. 945–946.
5. Gagnon P. et al. Transient conformational modification of immunoglobulin G during purification by protein A affinity chromatography // J Chromatogr A. 2015. Vol. 1395.