Streszczenie

Przeciwciała monoklonalne (mAb) to złożone cząsteczki białka, które w trakcie ekspresji i procesów przetwarzania ulegają modyfikacji prowadzących do mikroheterogeniczności powstałego produktu biofarmaceutycznego. Głównym źródłem mikroheterogeniczności jest powstawanie różnych wariantów tej samej cząsteczki, spośród których największy udział mają warianty ładunkowe. Ze względu na niewielkie różnice w budowie, warianty ładunkowe nieznacznie różnią się pomiędzy sobą punktem izoelektrycznym (pI) i są klasyfikowane jako warianty kwasowe (*av*) o najniższym pI, główne (*mv*) o pośrednim pI i zasadowe (*bv*) o najwyższym pI. Obecność wariantów ładunkowych mAb wpływa na aktywność biologiczną, właściwości biofizyczne oraz stabilność biofarmaceutyku. Dlatego skład wariantów w konkretnym produkcie musi być kontrolowany i dostosowany do ściśle określonego poziomu.

W ramach badań realizowanych w niniejszej pracy doktorskiej opracowano dwie metody szybkiego dostosowywania składu wariantów ładunkowych mAb. Pierwsza z nich polegała na połączeniu chromatografii anionowymiennej (AEX) oraz strącania w obecności glikolu polietylenowego (PEG) w celu zredukowania zawartości *av* w puli wariantów mAb. Druga metoda polegała na połączeniu dwóch procesów chromatograficznych: AEX oraz chromatografii kationowymiennej (CEX) w celu rozdzielania wariantów *av*, *mv* i *bv* na osobne frakcje.

Realizację projektu badawczego poprzedzono pomiarami izoterm adsorpcji wariantów ładunkowych mAb i doborem optymalnych warunków ich rozdzielania na złożach AEX oraz CEX. Następnie przeprowadzono cykle eksperymentów prowadzące do sformułowania modelu dynamiki kolumny AEX w warunkach przeładowania masowego mAb, który oparto na równaniach modelu dyspersyjno-kinetycznego oraz modelu izotermy adsorpcji cząsteczek koloidalnych (CPA). Wyznaczono parametry modelu bez obecności i w obecności PEG w fazie ruchomej.

Model dynamiki kolumny AEX połączono z modelem procesu strącania. Był to niezbędny etap pracy prowadzący do opracowania połączonego procesu AEX oraz strącania wariantów mAb. Otrzymany model użyto do optymalizacji połączonego procesu dla

materiałów mAb o różnych składach wariantów, tj. dla materiału o różnej zawartości *av*, *mv* i *bv*.

W kolejnej części pracy na podstawie wyników odpowiednich cykli doświadczalnych sformułowano model dynamiki połączonych technik CEX i AEX, a następnie zweryfikowano go eksperymentalnie. Analogicznie jak w pierwszej części pracy, opracowane modele dynamiki oparto na równaniach modelu dyspersyjno-kinetycznego oraz modelu izotermy CPA. Następnie zoptymalizowano połączenia obu chromatografii dla materiałów mAb o różnych składach wyjściowych wariantów.