

a-1- آنتی تریپسین حاصل از کشت  
سوسپانسیون سلول جهش یافته

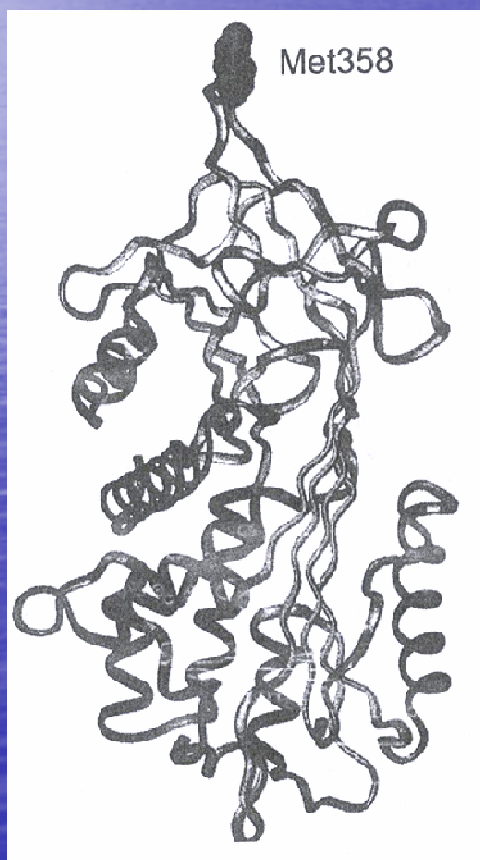
نفیسه استادمرادی

810483109

## مقدمه

*a*-1-1 آنٹی تریپسین انسانی (AAT) یک گلیکوپروتئین است که در مقادیر نسبتاً زیادی (~2mg/ml) در خون یک انسان سالم وجود دارد. این پروتئین به ثابت نگه داشتن مقادیر کافی نئوتروفیل الاستاس و دیگر پروتئین‌ها در انسان کمک می‌کند.

ساختار سه بعدی این پروتئین به شکل روبرو است:

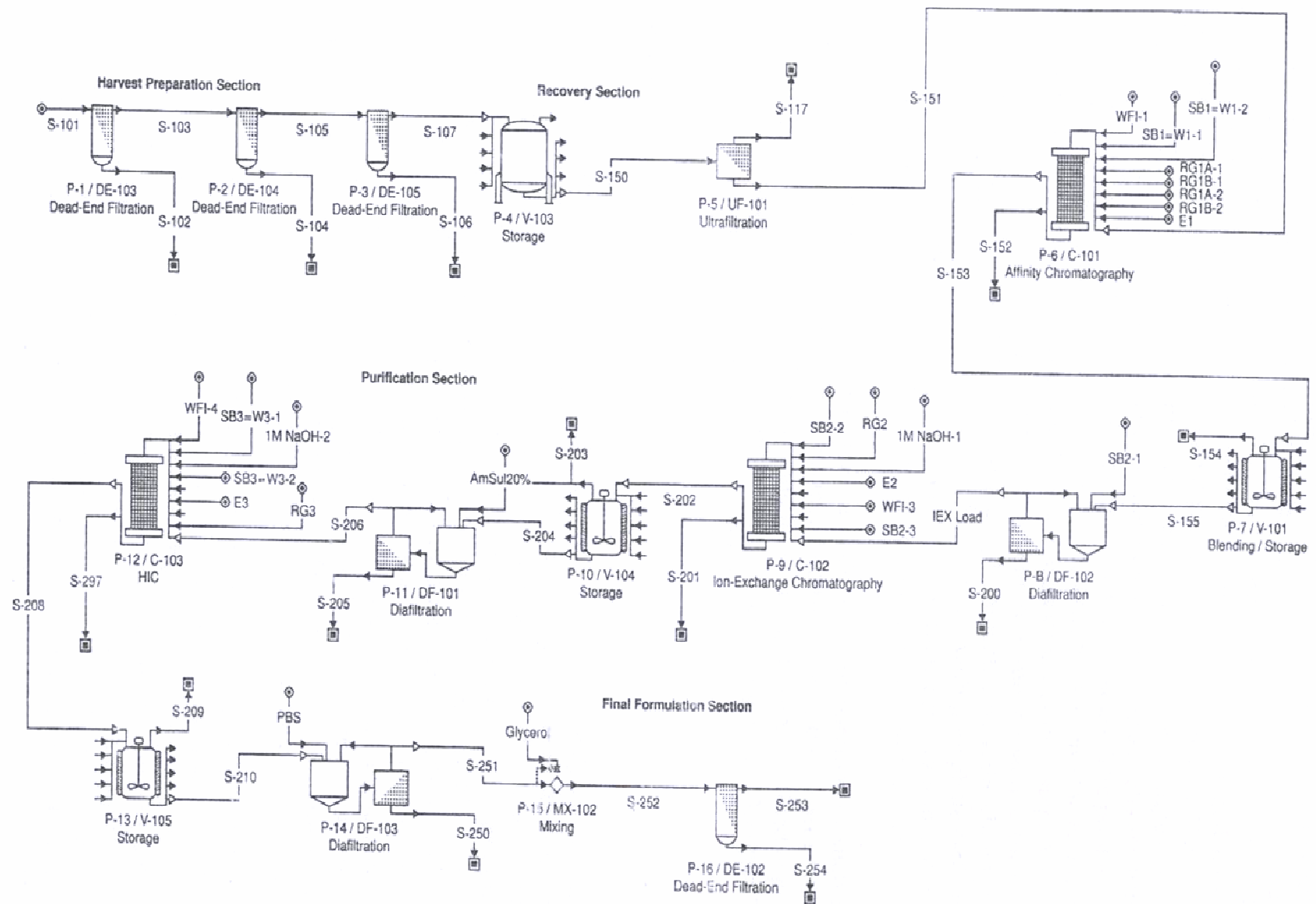


- بیماران ناهنجاری ژنتیکی در اثر محدودیت AAT حتما نیاز به تزریق وریدی این دارو دارند. قیمت فروش این درمان ها حدودا از 280\$/g تا 390\$/g است، که قیمت‌های داروی سالیانه 60000\$/year در صورت مصرف هفتگی خواهد بود.
- یک مطالعه جدید قیمت بالای درمان AAT را بررسی می کند و درمی یابد که بزرگترین هزینه مستقیم پزشکی، هزینه درمانی خود واسطه است.
- محصول ها از سرم انسانی جمع آوری شده، خالص سازی شده اند. به علت تامین امنیت مربوط به خون انسان آمیزش شده، منابع جایگزین حاصل از مهندسی ژنتیک برای AAT در حال بررسی هستند.

# توصیف فرآیند

- فرایند بازیابی و خالص سازی پروتئین های متشکل جایگزین شدیداً به گروه تولید بستگی دارد زیرا ناخالصی های یگانه در هر سیستم موجود است و پروتئین مورد نظر باید از این ناخالصیها جدا شود.
- به همین دلیل، در این مطالعه اثر پارامترهای فرایند پایین دستی بر روی اقتصاد فرایند و هزینه های کلی تولید وابسته برای آماده سازی برداشت کشت سلول رشته ای بررسی نشده اند. در عوض هزینه مواد اولیه برای فرایند خالص سازی کلی، جمع هزینه های تک تک مواد توزین شده در نظر گرفته شد.
- در مطالعه حاضر، یک بیوراکتور با مخزن جمع آوری محصول به اندازه 10000Kg، با حداکثر زمان عملکرد سالانه 7920h و تولید سالانه 32/7Kg AAT فعال در نظر گرفته شده است.

- در این فرایند ابتدا مایع کشت سلول رشته ای حاوی rAAT شفاف می شود و سپس کروماتوگرافی وابسته به جمع آوری لکتین با استفاده از رزین کنکاوالین A (ConA) برای جداسازی پروتئین به کار می رود.
- سپس با کروماتوگرافی تعویض آنیون به روش DEAE ناخالصی های رزینی با وزن مولکولی پایین را از بین می برد .
- نهایتا rAAT فعال از rAAT غیرفعال به وسیله کروماتوگرافی تعامل آبگریزی جدا می شود.
- در این مطالعه موردی، هدف ما مشخص کردن فاکتورهایی هستند که مشخصا قیمت و تولید فرایند جذب سطحی بستر پر شده سه مرحله ای برای خالص سازی rAAT را از کشت سلول رشته ای تحت تاثیر قرار می دهند.



# توصیف مدل

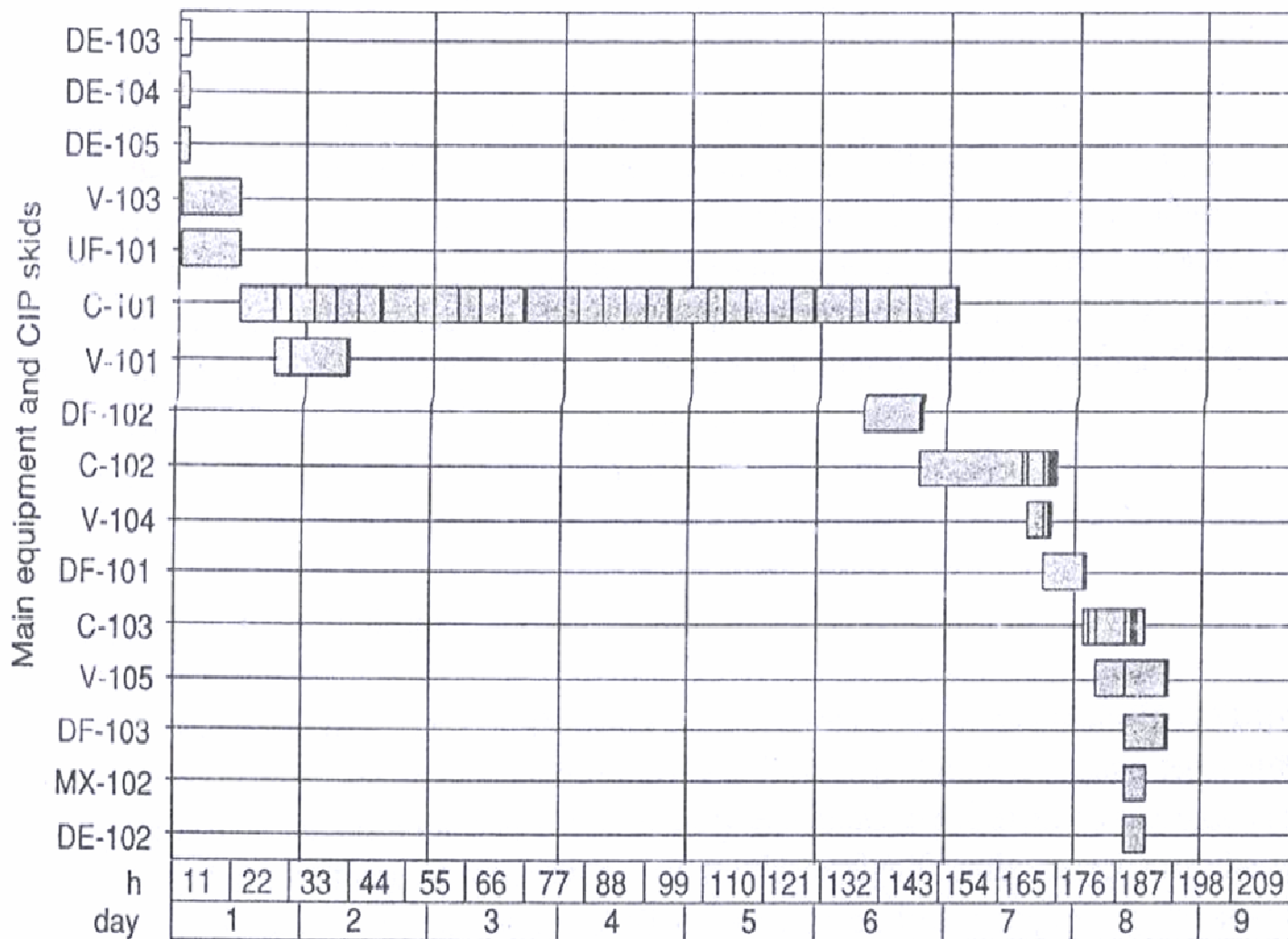
- ماده شروع کننده برای فرایند خالص سازی یک بسته 10000 کیلوگرمی از محصول کشت سلول رشته ای جدا شده از سلول های رشته ای به کار برده در ته نشینی جاذبه ای است.
- مایع پروتئینی شفاف شده بازیابی شده توده سلول ها به روش ته نشینی جاذبه ای پیش رونده، به منظور جدا کردن باقیمانده های سبک سلول، به وسیله سلسله فیلترهای جریان نرمال (بن بست)، فیلتر می شود و در یک تانک نگهداری ذخیره می شود. سیال محصول فیلتر شده بوسیله فوق فیلتراسیون در یک وسیله فیلتراسیون جریان مماس، در مکانی بین توده ها، 10 بار غلیظ می شود.
- در مرحله بعد کروماتوگرافی جایگزینی آنیونی (سفاروز DEAE) در یک ستون انجام می شود. مرحله کروماتوگرافی DEAE برای از بین بردن مولکولهایی به کار می رود که بار سطح rAAT آنها از بار سطح وابسته متفاوت است.
- یک چرخه چند مرحله ای برای از بین بردن گونه های غیرفعال AAT به کار برده می شود. در پایان، آبگیر شستشو حاوی rAAT فعال دو بار غلیظ می شود و دیافیلتراسیون می شود. محصول طی مراحل نهایی که شامل مراحل توصیف شده در اینجا نبودند، تثبیت شود.

## بحث

- جدول 2-14 نتایج حاصل از تحلیل اقتصادی طراحی مطالعه موردی را نشان می‌دهد. 53 راکتور توده ای برای تولید AAT 7/32Kg فعال در سال مورد نیاز است.
- هزینه تولید واحد مشابه  $780\$/g$  است که هدررفت خالص برابر  $390\$/g$ -280 را برای فروش نتیجه خواهد داد.
- مرحله کروماتوگرافی همچنان طولانی ترین مرحله واحد است که بیش از 72% کل زمان ماند راکتور توده ای را صرف می‌کند، در حالی که دیگر واحدهای اصلی تجهیزات برای زمان زیادی بی مصرف هستند و این مسئله یک مشکل جدی در این فرایند محسوب می‌شود.



	مشخصات توده
<p>53</p> <p>7/32</p> <p>1/21 میلیون دلار</p> <p>5/25 میلیون دلار</p> <p>37/8 میلیون دلار</p> <p>5/03 میلیون دلار (60%)</p> <p>45/5 میلیون دلار</p> <p>12/1 میلیون دلار (20%)</p> <p>16/4 میلیون دلار (76%)</p> <p>52/7 میلیون دلار</p> <p>780</p>	<p>تعداد توده ها در سال</p> <p>جرم rAAT فعال</p> <p>سود کلی سرمایه</p> <p>هزینه های عملیاتی سالانه</p> <p>مواد خام</p> <p>بافرهای ConA</p> <p>مواد مصرفی</p> <p>فیلترهای بن بست جمع آوری محصول</p> <p>رزین ConA</p> <p>فراوری ضایعات</p> <p>هزینه تولید واحد</p>



# نتیجه گیری

- مدلی برای بازیابی و خالص سازی AAT دارای صفات متشکل جدید از کشت‌های سوسپانسیونی سلول رشته ای جهش یافته با استفاده از جداسازی کروماتوگرافی سه مرحله ای و مراحل دیافیلتراسیون واسطه، توسعه یافته است.
- ارزیابی اقتصادی اولیه برای مدل مورد مبنا نشان می دهد که هزینه تولید واحد به طور مشخصی بالاتر از هزینه AAT حاصل از پلاسمای انسانی موجود در بازار است.
- برای بهبود اقتصاد فرایند می توان از مرحله خالص سازی وابسته یا به کارگیری جایگزین، کروماتوگرافی ارزانتر یا مراحل فوق فیلتراسیون بهره گرفت.
- همانند فرایندهای دیگر تولیدات بیولوژیک، پیش بینی می شود اثرات زیست محیطی متعادل تر باشد