

Производство лекарственных средств КЛЕТОЧНЫЕ СУБСТРАТЫ

Вытворчасць лекавых сродкаў КЛЕТКАВЫЯ СУБСТРАТЫ

Издание официальное

Ключевые слова: банк клеток, донор, клеточная линия, клеточный субстрат, реципиент, родительские клетки

Предисловие

Цели, основные принципы, положения по государственному регулированию и управлению в области технического нормирования и стандартизации установлены Законом Республики Беларусь «О техническом нормировании и стандартизации»

1 РАЗРАБОТАН Государственным предприятием «НПЦ ЛОТИОС».

ВНЕСЕН Департаментом фармацевтической промышленности Министерства здравоохранения Республики Беларусь

2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ приказом Департамента фармацевтической промышленности Министерства здравоохранения Республики Беларусь от «24» декабря 2013 г. № 71

3 Настоящий технический кодекс установившейся практики разработан на основе руководства ICH Q5D R2MP/ICH/294/95 Topic Q5D “Quality of Biotechnological Products: Derivation and Characterisation of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products» («Качество биотехнологических лекарственных средств: Получение и характеристика клеточных субстратов, используемых в производстве биотехнологических/биологических лекарственных средств»)

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Настоящий технический кодекс установившейся практики не может быть воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Департамента фармацевтической промышленности

Издан на русском языке

Введение

Качество биологических лекарственных средств, получаемых посредством клеточных технологий, находится в прямой зависимости от характеристик используемых клеток человека, животных или микроорганизмов.

Любые изменения свойств клеточного материала, происходящие на начальных этапах разработки либо в ходе производственного процесса, могут оказать влияние на качество и безопасность лекарственного средства, получаемого в итоге. Производителям необходимо осуществлять тщательный анализ и описание свойств применяемых клеток, а также всех манипуляций, осуществляемых с ними.

Данный документ представляет собой руководство по осуществлению процедур получения клеток для последующего применения в фармацевтических целях, контроля их качества, документирования данных, и является дополнением к существующим руководствам по фармацевтической биотехнологии.

№ 2023113114148.218941.34800.34800 Рабочий экземпляр Производственное республиканское унитарное предприятие "Минсклиттеркапс"
Дата печати: 13.11.2023 11:41:48 Распечатан Сиволош Юрий Николаевич для Сиволош Юрий Николаевич

Производство лекарственных средств
КЛЕТОЧНЫЕ СУБСТРАТЫ
 Вытворчасць лекавых сродкаў
КЛЕТКАВЫЯ СУБСТРАТЫ
 Manufacture of pharmaceutical products
 Cell Substrates

Дата введения 2014-04-01

1 Область применения

Настоящий технический кодекс установившейся практики (далее – технический кодекс) устанавливает требования к получению и оценке качества клеточных субстратов (клеточных линий человека и животных, а также микробных клеток), имеющих систему банков клеток и применяющихся при производстве биологических лекарственных средств для *in vivo* или *ex vivo* использования у человека.

Под биологическими лекарственными средствами в техническом кодексе понимают все лекарственные средства, получаемые посредством клеток, культивируемых из банков клеток. Исключением являются микробные метаболиты, такие как, антибиотики, аминокислоты, углеводы и другие низкомолекулярные вещества.

Настоящий технический кодекс следует использовать совместно с правилами Надлежащей производственной практики для биологических лекарственных средств (ТКП 030, приложение 2).

Требования настоящего технического кодекса не распространяются на клетки, не имеющие системы банков, а также клеточные субстраты, используемые с целью получения реагентов для *in vitro* диагностики.

Требования технического кодекса распространяются на все научно-исследовательские учреждения и фармацевтические предприятия, осуществляющие производство биологических лекарственных средств на территории Республики Беларусь.

2 Нормативные ссылки

В настоящем техническом кодексе использованы ссылки на следующие технические нормативные правовые акты в области технического нормирования и стандартизации (далее – ТНПА):

ТКП 030-2013 (02040) Надлежащая производственная практика (GMP)

ТКП 512-2013 (02041) Производство лекарственных средств. Лекарственные средства на основе технологии рекомбинантной ДНК

ТКП 515-2013 (02041) Производство лекарственных средств. Вирусная безопасность лекарственных средств, полученных биотехнологическим способом с использованием клеток человеческого и животного происхождения

Примечание - При пользовании настоящим техническим кодексом целесообразно проверить действие ТНПА по каталогу, составленному по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим информационным указателям, опубликованным в текущем году.

Если ссылочные ТНПА заменены (изменены), то при пользовании настоящим техническим кодексом, следует руководствоваться замененными (измененными) ТНПА. Если ссылочные ТНПА отменены без замены, то положение, в котором дана ссылка на них, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем техническом кодексе применяют термины, установленные ТКП 030, а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 банк клеток:

- система банка клеток (cell bank system): Это система, посредством которой производят последовательные серии продукции с использованием клеточных культур, происходящих из одного и того же главного банка клеток (характеризуется идентичностью клеточной линии и полным отсутствием контаминации). Для приготовления рабочего банка клеток используется некоторое число контейнеров из главного банка клеток. Систему банка клеток валидируют в отношении количества пассажей или числа удвоений популяции после сверхдостижимого количества пассажей во время обычного технологического процесса.

- главный банк клеток (master cell bank, MCB): Полностью охарактеризованная культура клеток, распределенная в контейнеры за одну операцию, обрабатываемая вместе таким образом, чтобы обеспечить еди-

нообразии, и сохраняемая таким способом, чтобы обеспечить стабильность. Обычно главный банк клеток хранят при температуре минус 70°C или ниже.

- рабочий банк клеток (working cell bank, WCB): Культура клеток, происходящая из главного банка клеток и предназначенная для подготовки клеточных культур, используемых в технологическом процессе. Обычно рабочий банк клеток хранится при температуре минус 70°C или ниже.

3.2 гибридома (hybridoma): Клеточный гибрид, получаемый слиянием нормальной клетки (например, иммунного лимфоцита) и опухолевой. Обладает способностью к синтезу специфического белка, например антитела (свойство нормальной клетки), и к неограниченному росту (свойство опухолевой клетки).

3.3 диплоидная клеточная линия: Линия, имеющая ограниченную продолжительность жизни *in vitro* и парные хромосомы (эуплоид), структурно идентична видам, из которых она получена.

3.4 кариология: Изучение развития, структуры и функции клеточного ядра.

3.5 непрерывная клеточная линия (continuous cell line, immortal cell line): Клеточная линия, имеющая бесконечную способность к росту.

3.6 родительские клетки (parental cells): Клетки, используемые для создания клеточного субстрата или промежуточной клеточной линии. При культивировании микроорганизмов часто используется термин «клетки-хозяева» (host cells).

3.7 трансфекция: Внесение в клетку молекул ДНК.

4 Обозначения и сокращения

В настоящем техническом кодексе применяются следующие обозначения и сокращения:

ДНК: Дезоксирибонуклеиновая кислота.

рДНК: Рекombинантная дезоксирибонуклеиновая кислота.

КС: Клеточный субстрат

***in vitro*:** Технология выполнения экспериментов вне живого организма.

***in vivo*:** Технология выполнения экспериментов на живом организме.

***ex vivo*:** Технология проведения экспериментов в живой ткани, перенесённой из организма в искусственную внешнюю среду.

5 Общие положения

5.1 На протяжении всего периода разработки биологического лекарственного средства необходимо вести подробные записи всех манипуляций, осуществляемых с клеточным субстратом (КС). Описание истории культивирования клеток является одним из возможных, но не единственным методом, используемым с этой целью. Принципы надлежащей практики культивирования клеток изложены в [1].

5.2 Источник клеток, из которого был получен КС, необходимо четко идентифицировать (с указанием лаборатории или коллекции культур). Предпочтительно использовать информацию, полученную непосредственно от производителя, предоставившего клетки. Если она отсутствует, допускается использование соответствующих литературных данных.

5.3 Для клеточных линий человека необходимо предоставлять следующую информацию о доноре:

- ткань или орган, из которого взяты клетки;
- этническая и географическая принадлежность;
- возраст;
- пол;
- общее физиологическое состояние (копия медицинской карты);
- результаты любых тестов на возбудителей инфекционных заболеваний (если имеются).

5.4 Для клеточных линий животных необходимо предоставлять следующую информацию:

- вид;
- линия;
- условия разведения;
- ткань или орган животного-донора;
- географическое происхождение;
- возраст;
- пол;
- результаты тестов на возбудителей инфекционных заболеваний;
- общее физиологическое состояние животного-донора.

5.5 Для клеток микроорганизмов необходимо предоставлять следующую информацию:

- вид;
- линия (штамм);
- известные генотипические и фенотипические характеристики организмов, из которых был получен клеточный субстрат;
- патогенность;

- возможность образования токсинов;
- частота пересева;
- любая доступная информация относительно безопасности использования у человека.

5.6 Для клеточных линий любого типа дополнительно необходимо предоставлять следующую информацию:

- жизнеспособность клеток после их размораживания, которая определяется числом клеток, выживших после криоконсервации. Жизнеспособность клеток устанавливают по эффективности клонирования, по окрашиванию витальными красителями и по скорости увеличения клеточной массы в процессе культивирования;

- морфология клеток в культуре и способ культивирования. Клеточную морфологию документируют микрофотографиями живых или фиксированных культур.

5.7 Историю культивирования клеток (клеточных линий) необходимо тщательно документировать. Используемая производителем технология должна быть подробно описана, также как и процедуры культивирования *in vitro* и методы, применяемые для установления характеристик клеточной линии (физические, химические, биологические и др.).

5.8 Необходимо предоставлять описание всех используемых генетических манипуляций или применяемых процедур селекции.

5.9 Необходимо представлять доказательства того, что клеточная линия является чистой культурой, не контаминированной клетками других типов.

5.10 Для непрерывных клеточных линий многоклеточного донора продолжительность жизни культуры обычно вычисляется путем оценки либо числа удваивания популяции, либо числа пересевов при определенном коэффициенте разбавления, либо времени в днях.

5.11 Для диплоидных клеточных линий, имеющих ограниченную продолжительность жизни *in vitro*, важна точная оценка числа удваивания популяции на протяжении всех этапов исследования, развития и производства.

5.12 Клеточная линия, которая продуцирует любые вирусы, способные инфицировать клетки человека, может быть использована только при наличии исключительных обстоятельств. Безопасность продукции, получаемой при использовании таких клеточных линий, должна рассматриваться в каждом случае индивидуально. Необходимо предпринять соответствующие меры предосторожности для защиты персонала, участвующего в производственном процессе, от заражения

5.13 Необходимо проводить тщательный контроль реагентов биологического происхождения, используемых при культивировании линии клеток. Эритроциты барана, сыворотка эмбрионов телят, бычий сывороточный альбумин, человеческий трансферрин, инсулин, трипсин и др. должны быть свободны от микробиологических загрязнений, таких как микоплазмы, грибы и бактерии. Особое внимание необходимо уделять возможной вирусной контаминации.

5.14 Необходимо приводить характеристики всех компонентов культуральной среды, в частности информировать о возможном контакте клеток с материалами человеческого или животного происхождения (сыворотка, ферменты, гидролизаты, другие живые клетки), с указанием их источника, методов получения и контроля безопасности, включая результаты проведенных тестов, и т.д.

6 Требования к процессу получения клеточных субстратов

6.1 Выбор линии родительских клеток является одной из основных процедур в процессе получения КС. Для лекарственных средств, получаемых по технологии рДНК, линией родительских клеток обычно является клеточная линия реципиента, не подвергшаяся трансфекции. Рекомендуются, но не являются обязательным, использование стандартизованных банков родительских клеток.

6.2 В процессе получения КС для придания ему необходимых целевых свойств используют ряд специальных процедур. К ним относятся слияние клеток, клонирование, изолирование колоний, трансфекция, селекция, амплификация генов и адаптация к специфическим культуральным условиям или средам. Клеточные субстраты, такие как, например, диплоидные фибробласты человека, не нуждаются в большом количестве предварительных процедур или клонировании перед помещением в банк клеток.

6.3 Для биологических лекарственных средств, при получении которых не используются технологии рДНК, КС является производным линии родительских клеток, не подвергающихся никакой модификации, помещенной в главный банк клеток.

6.4 Для биологических лекарственных средств, получаемых с использованием гибридом (например, лекарственные средства на основе моноклональных антител), КС получают слиянием линий родительских клеток миелом с другими родительскими клетками, например, с иммунными клетками селезенки.

6.5 Одним из наиболее важных преимуществ использования серийно пересеваемых клеток при производстве биологических лекарственных средств является обеспечение постоянного наличия стандартизованного клеточного материала для начала производственного процесса. Производители могут поддерживать собственные банки клеток, либо получать их из внешних источников, но в любом случае они несут ответственность за обеспечение их качества и безопасности.

6.6 Двухуровневая система банка клеток, в которой из главного банка получают рабочий, является общепринятой и наиболее распространенной в производстве биологических лекарственных средств. Одноуровневая система, состоящая только из главного банка, может быть использована в случае, если ежегодно требуется относительно небольшое количество контейнеров с клетками [1].

6.7 Для формирования банков клеток увеличивающееся в процессе культивирования количество КС распределяют в соответствующее возрастающее число контейнеров. С целью обеспечения постоянства состава содержимого каждого контейнера, готовят единый пул из клеток всех культуральных флаконов. Далее, клетки помещают в консервирующую среду, переносят в стерильные контейнеры, после чего плотно закрывают и хранят при определенных условиях. Например, клетки животных, находящиеся в среде, содержащей криопротекторы, замораживаются в плотно закрытых контейнерах при определенных контролируемых условиях, а затем переносятся на хранение в фазу жидкого азота либо хранятся при других эквивалентных сверхнизких температурах. Для консервации и хранения могут быть использованы и другие методы, выбор которых зависит от вида используемых КС, а также способности поддерживать необходимый уровень жизнеспособности клеток после восстановления, который должен оставаться постоянным.

6.8 Отправной точкой для оценки возраста клеток *in vitro* является размораживание одного или более контейнеров главного банка клеток. Для диплоидных клеточных линий данный показатель определяется как срок, необходимый для удвоения популяции клеток.

6.9 Для бесперебойного обеспечения производства КС необходимо тщательно продумывать меры, направленные на предотвращение форс-мажорных обстоятельств, способных повредить или уничтожить банк клеток (пожар, отключение электричества, человеческие ошибки и т.д.). К ним относится использование источников бесперебойного питания, автоматических систем заполнения жидким азотом, хранение контейнеров в разных холодильниках и т.д.

6.10 Рабочий банк клеток создается из одного или более контейнеров главного банка клеток. Клетки из него используются непосредственно в производственном процессе. По мере необходимости получают дополнительные рабочие банки клеток. Каждый новый рабочий банк должен быть подвергнут стандартизации и тестированию.

6.11 Производителям следует предпринимать профилактические меры, направленные на предотвращение контаминации КС или банков клеток, поскольку ни один из режимов тестирования не может гарантировать обнаружения всех потенциальных контаминантов.

6.12 Главный и рабочий банки клеток могут отличаться друг от друга в определенных аспектах, например, компонентами культуральной среды, условиями культивирования и т.п. Также, условия культивирования клеток в банках могут отличаться от таковых, используемых в производственном процессе. Если данные различия не влияют на качество получаемого лекарственного средства, нет необходимости повторно клонировать родительские клетки или готовить новый банк клеток. Однако важно, чтобы банк клеток со стандартизованными характеристиками обеспечивал постоянство качества продукции.

6.13 В ряде микробных систем, специальные процедуры, описанные в п. 6.2 и основанные на использовании алликвот тщательно протестированных банков родительских клеток и банков плазмид, проводятся для каждой новой серии контейнеров КС. Полученный таким образом банк клеток принимается за главный и используется далее как источник КС в производственном процессе.

6.14 Необходимо предоставлять следующие сведения об используемых банках клеток и осуществляемых с ними манипуляциях [1]:

- информацию об используемом типе банка клеток, его размере;
- тип контейнера (виалы, ампулы или другие соответствующие сосуды);
- используемая система укупорки;
- методы, используемые для подготовки банка клеток, включая описание криопротекторов и сред;
- условия криоконсервирования и хранения;
- описание мер, предпринятых для предотвращения микробного загрязнения и перекрестной контаминации клетками других типов, имеющихся в лаборатории, а также для обеспечения прослеживаемости контейнеров банка клеток;
- подробное описание системы ведения документации и нанесения маркировки. Маркировка должна быть устойчивой к воздействию условий консервации, хранения, размораживания без потери информативности.

7 Контроль качества клеточных субстратов

7.1 Общие требования к контролю качества

7.1.1 Стандартизация КС и последующее тестирование являются ключевыми составляющими контроля качества при производстве биологических лекарственных средств. Целью данных процедур является подтверждение подлинности, чистоты КС, а также возможности его дальнейшего использования в производственном процессе.

7.1.2 Осуществление тестирования также позволяет производителю установить источники загрязнения клетками других линий, случайными и эндогенными агентами, молекулярными контаминантами (например, токсины или антибиотики).

7.1.3 Объем тестирования определяется в соответствии с биологическими свойствами клеток (например, условиями роста), историей культивирования (включая факты использования биологических реагентов-производных человека и животных) и наличием доступных методик. В некоторых случаях могут быть полезны дополнительные тесты на канцерогенность, а также кариологический анализ (см. п. 7.3.3).

7.1.4 Необходимо единожды проводить тесты на подлинность и чистоту для характеристики каждого главного банка клеток, а также исследование стабильности в процессе клеточного культивирования для каждого получаемого биологического лекарственного средства. Кроме того, испытания на чистоту и ограниченное количество тестов для подтверждения подлинности проводятся единожды для каждого рабочего банка клеток. Производитель имеет право тестировать рабочий банк клеток вместо главного, если это обосновано особенностями производственного процесса.

7.1.5 Для проведения стандартизации характеристик КС, содержащих экзогенные комбинированные экспрессирующие векторы, необходимо обратиться к ТКП 512. Также может оказаться полезным изучение кодирующей последовательности в некоторых нерекомбинантных ДНК-производных клеточных линиях, где генетическая последовательность уже охарактеризована и хорошо изучена. Однако, как правило, нет необходимости проводить изучение последовательностей, кодирующих сложные естественные продукты, такие как, микробные антигены для получения вакцин, либо моноклональные антитела из гибридом.

7.1.6 По мере появления новых методик, применение которых возможно для тестирования КС, производители могут использовать их взамен устаревших, при условии сопоставимой специфичности, чувствительности и точности.

7.2 Основные тесты, применяемые при характеристике клеточных субстратов

7.2.1 Подлинность

Подлинность устанавливается посредством анализа либо отличительных маркеров, таких как специфические изоэнзимы, либо на основании оценки фенотипических/генотипических характеристик. Тест на подлинность, как правило, проводится для главного банка клеток.

Для большинства микробных клеток для подтверждения подлинности может быть использован анализ роста на избирательной среде. Для системы *E.coli*, когда может быть использовано большое количество штаммов, биологические методы, в частности, фаготипирование, рассматриваются как дополнительный тест для подтверждения подлинности. Экспрессия целевого продукта также может служить подтверждением подлинности микробных клеточных систем.

Для банка плазмид дополнительное тестирование может быть проведено по анализу вектора экспрессии как описано в ТКП 512.

Для клеток человека или животных, выращиваемых на подложке, необходимо проводить морфологический анализ в сочетании с другими методами. Для подтверждения вида донора клеток в большинстве случаев достаточно методов изоферментного анализа, остальные методики (цитогенетические, применение видоспецифических антисывороток) используются по мере необходимости, в зависимости от истории культивирования клеточной линии.

Альтернативные подходы направлены на выявление специфических маркеров методами дифференциальной цитогенетики (определение уникальных маркеров-хромосом), либо ДНК анализом, позволяющим установить геномную модель полиморфизма (вариабельность двойных повторов, геномные динуклеотидные повторы и т.п.).

Оба подхода (подтверждение вида донора и тест на присутствие уникальных маркеров клеточной линии) являются равноценными и взаимозаменяемыми.

7.2.2 Чистота

Одной из главных целей процедуры стандартизации КС является подтверждение того, что как главный, так и рабочий банки клеток являются биологически чистыми, т.е. свободными от микробной и клеточной контаминации. Для надежного обнаружения микробных контаминантов необходимо предусмотреть использование селективных реагентов.

Для клеток, источником которых являются многоклеточные организмы, тесты на наличие бактерий и грибов необходимо проводить на отдельных контейнерах главного и рабочего банка клеток (1% от общего числа, но не менее, чем на двух контейнерах), в соответствии с методами, изложенными в ГФ РБ [2].

Тесты на наличие микоплазмы проводят на одном контейнере главного и рабочего банка клеток в соответствии с методами, изложенными в ГФ РБ [2].

Необходимо проводить тестирование КС на установление возможного присутствия широкого спектра вирусов, используя соответствующие скрининговые и надежные специфичные тесты в соответствии с ТКП 15, а также согласно [1].

На чистоту КС может оказать влияние контаминация клеточными линиями, происходящими от одного или нескольких видов доноров. Выбор необходимых тестов для установления чистоты определяется исходя из вероятности подобной перекрестной контаминации.

Для некоторых производителей невозможно избежать одновременного выращивания культур различных клеточных линий в одной и той же лаборатории. В этом случае для предотвращения перекрестного загрязнения необходимо предусматривать меры, направленные на ограничение проведения параллельных процедур с клеточными линиями в открытых контейнерах. Если такие процедуры (размножение, объединение клеток, отбор алликовот и т.п.) тем не менее, проводятся (или проводились ранее) в присутствии другой клеточной линии, то необходимо протестировать банки клеток на присутствие материалов, производных другой клеточной линии. С этой целью подходят методы, указанные в п. 7.2.1. Еще одним подтверждением отсутствия перекрестной контаминации является получение из КС запланированного биологического лекарственного средства.

Для микробных клеток дизайн проведения тестов для установления контаминации другими микроорганизмами, клеточными фрагментами и т.д. разрабатывается исходя из их свойств, вероятности присутствия контаминантов, описанных в научной литературе, методов культивирования, используемых материалов и т.д. В качестве одного из тестов может использоваться визуальное описание характеристик тщательно изолированных колоний с применением микробиологических сред, поддерживающих/не поддерживающих рост КС.

7.3.3 Исследование кариологии и канцерогенности

Одним из методов установления идентичности КС является подробный кариологический анализ, позволяющий с помощью дифференциальной окраски хромосом определить видоспецифичность данной клеточной линии. Кариологическая характеристика является высокоспецифичной и включает установление наличия определенного спектра перестроенных (маркерных) хромосом; определение модального числа хромосом, количества полиплоидов и т.д.

Решение о необходимости проведения кариологического анализа и тестов на канцерогенность для оценки безопасности диплоидной клеточной линии или установления характеристик новой клеточной линии принимается производителем в зависимости от типа используемых клеток, природы получаемого лекарственного средства и особенностей производственного процесса.

Для биологических лекарственных средств, в которых нельзя исключить присутствие живых клеток, в том числе и по причине того, что они не могут быть подвергнуты тщательной очистке (например, некоторые традиционные «живые» вакцины), тестирование КС на кариологические показатели и канцерогенность, как правило, проводится.

Для биологических лекарственных средств, прошедших тщательную очистку и вследствие этого не контаминированных клетками, кариологический анализ и тесты на канцерогенность не проводятся, при условии, что производитель нормирует содержание остаточных количеств ДНК клеток донора, и значения данного показателя имеют постоянную величину, что подтверждается отчетами по валидации производственного процесса или результатами анализа конечной продукции.

Для биологических лекарственных средств, производимых с использованием генетически немодифицированных MRC-5 или WI-38 клеток, не требуется тестирование клеточного субстрата на кариологию и канцерогенность, так как для этих клеточных линий уже установлены подробные характеристики. Однако, для каждого рабочего банка клеток, полученного на их основе, производителю необходимо однократно подтвердить, что клетки, выращиваемые в ходе производственного процесса, являются диплоидными и имеют ожидаемую продолжительность жизни *in vitro*.

Изучение кариологии не является обязательным для клеточных линий грызунов или новых клеточных линий, не являющихся диплоидными. Повторное тестирование на канцерогенность для клеток с установленным ранее канцерогенным потенциалом также не требуется.

Допустимость использования в производственном процессе клеточных линий, обладающих канцерогенностью или аномальной кариологией, оценивается с учетом соотношения между риском и пользой при клиническом применении получаемого на их основе биологического лекарственного средства.

Для новых или ранее не охарактеризованных диплоидных КС необходимо представлять подтверждение диплоидной кариологии, а также оценивать потенциальную канцерогенность клеток главного банка.

7.3.4 Исследование стабильности клеточного субстрата

Существует два подхода к изучению стабильности КС: оценка постоянства получения целевого биологического лекарственного средства (является приоритетным) и сохранение на необходимом уровне способности к производству при хранении в определенных условиях.

Тип тестирования и выбор оцениваемых параметров зависят от природы КС, методов культивирования, характеристик получаемого лекарственного средства [1].

Для клеточных линий, содержащих системы экспрессии рДНК, постоянство кодирующей последовательности вектора необходимо проверять на клетках, культивируемых до возраста, принимаемого за максимально допустимый для применения в производственном процессе (характеристика устанавливается производителем исходя из информации, полученной при исследовании производительности КС на опытно-промышленных или промышленных сериях). С этой целью применяются методы анализа нуклеиновых кислот или подходы, применяемые при тестировании готового лекарственного средства в соответствии с ТКП 512.

В случае использования нерекомбинантных клеточных линий, в которых последовательность, кодирующая целевое лекарственное средство, уже была проанализирована при тестировании главного или рабочего банка клеток, ее стабильность в течение производственного процесса устанавливают на клетках, культивируемых до возраста, принимаемого за максимально допустимый для применения, с использованием методов анализа нуклеиновых кислот или на основании информации, полученной при тестировании получаемого очищенного протеина.

Если КС не может быть проанализирован, как описано выше, для оценки стабильности может использоваться анализ других специфических особенностей клеток (показатели морфологии, роста, биохимические и иммунологические маркеры, подходящие фенотипические или генотипические характеристики).

В случаях, когда непосредственное сопоставление характеристик главного банка клеток и клеток, достигших возраста близкого к максимально допустимому для применения в производственном процессе, невозможно или затруднительно, сравнительный анализ проводят с данными, полученными для клеток, находящихся на ранних стадиях культивирования. В ходе тестирования изучают изменение таких показателей, как потребление кислорода или глюкозы, степень выработки аммиака или молочной кислоты.

Значения предельного возраста клеток, допустимого для применения в производственном процессе, могут быть пересмотрены в сторону увеличения на основании соответствующих экспериментальных данных. Для диплоидных клеточных линий необходимо предоставлять информацию, подтверждающую достижение предельной продолжительности жизни клеток главного банка в условиях, сопоставимых с наблюдаемыми при производстве.

Информацию, характеризующую стабильность КС, обычно получают при тестировании, осуществляемом в ходе наработки серий лекарственного средства, предназначенных для клинических испытаний. Анализ выживаемости клеток после размораживания позволяет установить пригодность КС для дальнейшего использования, что подтверждается получением целевого лекарственного средства. Вся полученная информация должна быть подробно изложена в регистрационном досье на лекарственное средство. Дополнительно прилагается план дальнейшего мониторинга стабильности.

Если банк клеток не используется в производственном процессе в течение длительного времени, следует проводить анализ жизнеспособности, находящихся в нем клеток не реже, чем один раз в 5 лет [1]. Если данный показатель существенно не изменился, более тщательное тестирование не требуется.

Для оценки стабильности в течение процесса культивирования должны быть изучены, по меньшей мере, две временные точки: первая – с использованием клеток, подвергавшихся минимальному количеству пересевов; вторая – на клетках, возраст которых (in vitro) близок к максимально допустимому для применения в производственном процессе.

Библиография

- [1] World Health Organization, 2010. – 94 p.
(Всемирная организация здравоохранения, 2010)
- Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks
(Рекомендации по оценке животных клеточных культур, используемых в качестве субстратов при производстве биологических лекарственных средств и для характеристики банков клеток)
Неофициальный перевод Государственного предприятия «НПЦ ЛОТИОС»
Перевод с английского языка (en)
- [2] ГФ РБ II – 2-е изд. – т. 1. Молодечно, 2012.

ТКП 522-2013 (02041)

№ 2023113114148.218941.34800 Рабочий экземпляр. Производственное республиканское унитарное предприятие «Минсклиттеркаст»
Дата печати: 13.11.2023 11:41:48 Распечатан Сиволош Юрий Николаевич для Сиволош Юрий Николаевич

Директор Государственного предприятия «НПЦ ЛОТИОС»,
д.м.н., профессор

Гапанович В.Н.

Заведующий отделом экспериментальной медицины и фар-
мации Государственного предприятия «НПЦ ЛОТИОС»,
к.б.н., доцент

Мельнова Н.И.

Заместитель директора по научной работе Государственного
предприятия «НПЦ ЛОТИОС», к.б.н.

Андреев С.В.

Заведующий отделом промышленной биотехнологии Госу-
дарственного предприятия «НПЦ ЛОТИОС», к.б.н.

Белявский К.М.

Младший научный сотрудник отдела экспериментальной
медицины и фармации Государственного предприятия «НПЦ
ЛОТИОС»

Каратай Н.М.