**ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
| ОФС.0.0.0000 |
| **ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА, ПОЛУЧАЕМЫЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ РЕКОМБИНАНТНОЙ ДНК**  |

Настоящая общая фармакопейная статья содержит общие требования к производству и контролю лекарственных средств, представляющих собой белки, пептиды и их производные, получаемые с использованием технологии рекомбинантной ДНК (рДНК).

Общие требования данной фармакопейной статьи применимы к антигенам вакцин, полученным по технологии рДНК.

Некоторые аспекты данной общей фармакопейной статьи могут быть применимы к продуктам, производимым при помощи трансгенных животных и растений.

Данная общая фармакопейная статья не распространяется на модифицированные (рекомбинантные) организмы, предназначенные для использования напрямую в организме человека и животных, например, в качестве живых рекомбинантных векторов или живых вакцин, а также на препараты для генной терапии.

Перечень требований, приведённый в настоящей общей фармакопейной статье, не является окончательным. Дополнительные требования могут быть установлены для каждого конкретного лекарственного средства или могут быть представлены в фармакопейной статье.

ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

*Белки и пептиды* (далее – продукты), получаемые с использованием технологии рДНК, производят с использованием клеток, геномы которых были подвергнуты генетической модификации, при которой нуклеотидную последовательность, кодирующую целевой продукт, как правило, вводят с помощью плазмиды или вирусного вектора в подходящие компетентные микроорганизмы (бактерии или дрожжи) или в клеточную линию млекопитающих (включая человека), насекомых или растений. Клетка-хозяин с встроенным фрагментом ДНК обеспечивает экспрессию целевого продукта в виде белка или пептида, извлекаемого в ходе этапов выделения и очистки. Продукты, полученные с использованием технологии рДНК, могут подвергаться преднамеренным посттрансляционным модификациям, например, таким, как пегилирование, конъюгация, фрагментация.

*Клетка-хозяин* – клетка бактерий или эукариотических клеточных линий, используемые для встраивания вектора экспрессии. Стабильную конструкцию из компетентных клеток и вектора экспрессии, используемую в производственном процессе, называют штаммом-продуцентом (системой вектор экспрессии/клетка-хозяина).

*Экспрессирующая конструкция (вектор экспрессии)* **−** вектор, который содержит кодирующую последовательность рекомбинантного белка и элементы, необходимые для его экспрессии.

*Главный банк клеток* (ГБК) – гомогенная суспензия клеток-хозяина, трансформированных вектором экспрессии. Суспензию разливают в равных объёмах в контейнеры, замораживают и хранят в условиях, обеспечивающих их стабильность. ГБК получают в установленных условиях из отобранного клеточного клона, содержащего экспрессирующую конструкцию. В некоторых случаях может потребоваться создание отдельных ГБК для вектора экспрессии и для клетки-хозяина.

*Рабочий банк клеток* (РБК) – гомогенная суспензия клеток, полученных на определённом уровне пассажа культивированием клеток из одного или более контейнеров ГБК, разлитая в равных объёмах в контейнеры с целью хранения в условиях, обеспечивающих их стабильность. РБК используют для производства каждой серии готового продукта. Образцы рабочего банка клеток необходимо хранить, как минимум, до истечения срока годности последней выпущенной партии препарата.

*Готовый нерасфасованный продукт* – фармацевтическая субстанция, полученная методом рекомбинантной ДНК, используемая для приготовления готового лекарственного средства и предназначенная для хранения. Формирование серии готового нерасфасованного продукта должно быть установлено и документировано производителем.

*Значимые генотипические и фенотипические маркёры* – маркёры, позволяющие идентифицировать штамм-продуцент/клеточную линию и наличие экспрессирующей конструкции

*Инсерции и делеции –* нарушения структуры нуклеотидной последовательности (мутации), при которых происходит добавление определенного количества нуклеотидов (инсерция) или выпадение одного или нескольких нуклеотидов с последующим укорочением (делеция) заданной последовательности.

***Сайт интеграции*** – участок генома клетки-хозяина, в который включаются одна или более копий экспрессирующей конструкции.

*Фланкирующие регуляторные участки* – некодирующие нуклеотидные последовательности, примыкающие к 5´ и 3´- концам кодирующей последовательности. Эти участки включают, например, промотор, энхансер и последовательности для сплайсинга, и не включают точки начала репликации гена, устойчивые к антибиотикам.

ПРОИЗВОДСТВО

*ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ*

Производство основано на валидированной системе посевных материалов с использованием подходящей системы вектор/клетка-хозяин. В системе посевного материала обычно используют главный банк клеток (ГБК) и/или рабочий банк клеток (РБК).

Описание клетки-хозяина, вектора экспрессии, системы вектор экспрессии/клетка-хозяин, ГБК и РБК, включая их происхождение, создание, поддержание и культивирование, должно быть детально задокументировано.

При использовании в производственном процессе материалов животного или человеческого происхождения применяют требования *ОФС «Вирусная безопасность»* и *ОФС «Уменьшение риска передачи возбудителей губчатой энцефалопатии животных при применении лекарственных средств»*.

Валидация производственного процесса должна охватывать:

- стадии производственного процесса, включая этапы культивирования клеток и ферментацию, очистку и любую последующую преднамеренную модификацию целевого продукта, если это применимо;

- удаление или инактивацию контаминантов;

- удаление родственных и производственных примесей (например, нежелательных молекулярных вариантов продукта, остаточных белков клетки-хозяина и ДНК штамма-продуцента, антибиотиков, компонентов среды культивирования), а также материалов, используемых в ходе очистки целевого продукта;

- удаление пирогенных веществ, если это применимо.

**Вектор экспрессии, клетка-хозяин, штамм-продуцент.**

Исходные материалы, используемые в производстве продукта рДНК, включая вектор экспрессии, клетки-хозяина и пул трансформированных или трансфицированных клеток, из которых будет получен исходный клон, должны быть подробно охарактеризованы и документально оформлены.

Должна быть представлена информация о происхождении, источнике и истории клеток-хозяина, а также задокументированы подробное описание и характеристики вектора и экспрессирующей конструкции:

- источник и характеристика гена, кодирующего целевой продукт, а также других функционально значимых участков экспрессирующей конструкции (нуклеотидная последовательность целевого гена и его фланкирующие участки, карта рестрикции и др.).

Для характеристики штамма-продуцента используют:

- фенотипические и генотипические характеристики клетки-хозяина, указание используемой среды культивирования;

- характеристики экспрессирующей конструкции в клетке-хозяина (интеграцию – механизмы и сайты интеграции), количество копий, анализ нуклеотидных последовательностей клонированного гена и фланкирующих областей вектора экспрессии, происхождение компонентных составных частей, информацию о входящих в её состав генах (помимо целевого), схему сборки экспрессирующей конструкции и др.);

- документы (информацию) об исходном сырье, методах введения (трансформации или трансфекции) в клетке-хозяина вектора экспрессии и стратегии получения штамма-продуцента из клона, используемого для создания системы банка клеток (отбор, клонирование, способы индуцирования экспрессии гена, её контроль в процессе производства и др.).

**Система банков клеток.**

Для обеспечения качества и безопасности лекарственного препарата требуется стандартизированный подход при создании штамма-продуцента.

Если предполагается использование штамма-продуцента в течение многочисленных циклов производства, рекомендуется создание двухуровневой системы банков клеток, состоящей из главного банка клеток (ГБК) и рабочего банка клеток (РБК).

Индивидуальные контейнеры, содержащие клетки одного банка клеток, хранят в валидированных идентичных условиях и после извлечения из хранилища обратно в хранилище не возвращают.

Установление характеристик и испытание банков клеток представляет собой критически важную часть контроля лекарственных средств, получаемых с использованием технологии рДНК. Испытания банков клеток проводят для подтверждения подлинности, чистоты и пригодности клеточной линии для предполагаемого использования в производстве.

Стратегия проведения испытаний банков клеток может варьироваться в зависимости от природы и биологических свойств клеток (например, потребности в питательных веществах для роста), истории культивирования клеточной линии (например, в части условий и особенностей использования сырья рекомбинантного или животного происхождения, в том числе, полученного из тканей, органов или жидкостей человека, и/или применения антибиотиков).

Банки клеток (ГБК и РБК) должны быть охарактеризованы и испытаны на разных стадиях, включая клетки на стадии до и после достижения уровня удвоения популяции или числа генераций, используемых при производстве (клетки предельного для производства клеточного возраста *in vitro*).

Сведения о банках клеток должны включать следующую информацию:

- назначение, история создания клеточной линии и получения банков клеток, включая методы, реагенты, питательные среды, использованные в процессе культивирования;

- условия хранения, включая среду для криоконсервирования, стабильность банков при хранении;

- подтверждение подлинности и чистоты клеток, в том числе, идентификацию штамма-продуцента (с помощью биохимических, генетических или протеомных методов и др.),

- подтверждение фенотипической и генотипической характеристики штамма-продуцента;

- жизнеспособность клеток;

- данные об экспрессирующей конструкции (для их получения используют методы, применяемые в молекулярной биологии, например, метод картирования с помощью рестрикционных эндонуклеаз и др.):

- последовательность нуклеотидов в экспрессирующей конструкции;

- процент клеток, сохраняющих экспрессирующую конструкцию;

- количество копий экспрессирующей конструкции;

- наличие инсерций или делеций, количество сайтов интеграции;

- способы индукции и контроля уровня экспрессии;

- данные о генетической стабильности клеток – необходимо подтвердить, что нуклеотидные последовательности кодирующего фрагмента, фланкирующих контрольных участков и промоторов идентичны последовательностям, установленным для экспрессирующей конструкции, и соответствуют планируемой аминокислотной последовательности продукта (с учётом предела обнаружения используемого метода). Генетическая стабильность подтверждается на стадии посевного материала и на конечной стадии роста клеточной популяции;

- данные, подтверждающие отсутствие в банке клеток онкогенных и посторонних агентов: вирусов, бактерий (в том числе, микоплазм), грибов (в соответствии с требованиями *ОФС «Требования к клеточным культурам – субстратам производства вакцин»*);

- данные, подтверждающие отсутствие у клеточных линий онкогенности, если не обосновано иное (в соответствии с требованиями *ОФС «Требования к клеточным культурам – субстратам производства вакцин»*).

При выявлении каких-либо изменений в последовательности нуклеотидов необходимо детально охарактеризовать и представить обоснование приемлемости подобных изменений с представлением данных о стабильности вектора экспрессии и его способности к постоянной экспрессии целевого продукта.

Для банков прокариотических и дрожжевых клеток характеристика также должна включать микробиологическую чистоту и, при необходимости, испытание на присутствие бактериофагов. Также могут потребоваться дополнительные специфичные испытания; целесообразность их проведения должна быть рассмотрена в каждом конкретном случае.

Для банков клеток животных обязательно определение морфологии. Банки клеток животных должны быть проверены на наличие контаминации, так как клеточные субстраты животных благоприятны для размножения посторонних агентов, таких как микоплазмы и вирусы. Кроме того, клеточные линии животных могут содержать эндогенные контаминанты, такие, как эндогенные ретровирусы. Стратегия испытаний в отношении контаминации должна быть разработана на основе принципов управления рисками для качества с учётом природы и истории клеточной линии.

**Питательные среды и другое исходное сырьё**.

Надлежащий контроль качества обеспечивают для питательных сред и всего исходного сырья (реактивы, сыворотки, добавки и др.), используемых при производстве рекомбинантных продуктов, с учётом их влияния на качество, безопасность и эффективность целевого продукта. В частности, должно быть известно происхождение исходного сырья и задокументирована его прослеживаемость.

**Культивирование клеток и этап сбора продукта**.

Банк клеток (например, один или более контейнеров РБК или ГБК) используют для начала процесса культивирования. Определяют параметры производственного процесса и порядок внутрипроизводственного контроля (например, для этапа удвоения популяции клеток, достижения определённойконцентрации клеток, объёмов, рН, времени культивирования, температуры, микробиологических испытаний) с целью обеспечения надлежащей производительности и последовательности этапов процесса культивирования.

Критерии сбора продукта и завершения культивирования определяет производитель с учётом предельного возраста клеток *in vitro* (например, определённого количества пассажей или времени удвоений популяции при однократном или многократном сборе продукта), при котором клеточный субстрат показал стабильность и способность производить целевой или промежуточный продукт.

Каждый сбор продукта проверяют на отсутствие контаминации. Отсутствие контаминации при производстве подтверждают, в первую очередь, путём испытания на микробиологическую чистоту. В случае использования клеток животных отсутствие контаминации дополнительно проверяют с помощью соответствующих методов при культивировании клеток *in vitro* или молекулярно-биологических методов.

Необходим сбор данных о молекулярной целостности экспрессируемого гена и о значимых фенотипических и генотипических маркерах штамма-продуцента. Каждый сбор проверяется на содержание целевого продукта, микробиологическую чистоту, наличие эндотоксинов и микоплазмы. Рутинный контроль на посторонние вирусы выполняется на определённом этапе в зависимости от производственной схемы и природы используемых материалов. Критерии приемлемости определяются установленной процедурой мониторинга.

Сборы продукта могут быть объединены перед началом процедуры очистки.

**Очистка.**

Должно быть подтверждено, что процедуры выделения и очистки позволяют получить планируемые промежуточные продукты надлежащей чистоты. Для этого должен быть проведен анализ процедур, предпринятых как для контроля родственных примесей и родственных соединений, так и для удаления или инактивации производственных примесей и контаминантов.

Испытания для определения содержания белков клеток-хозяина, ДНК штамма-продуцента, а также иных посторонних примесей, связанных с процессом производства, проводят на достаточном количестве партий (не менее 5) продукта или серий субстанции (конечного балка). Содержание остаточной ДНК штамма-продуцента, белков клеток-хозяина и других примесей не должно превышать установленных значений.

Для обеспечения постоянства и надлежащего качества процесса очистки устанавливают внутрипроизводственный контроль для соответствующих параметров и периодичности этапов (например, для выхода, объёма, pH, времени обработки, температуры, профиля элюирования и отбора фракций, микробиологических испытаний). Для подтверждения получения целевого продукта с заданными характеристиками и чистотой так же проводится контроль гетерогенных белков и веществ, используемых при очистке, контролируется содержание целевого продукта, родственных соединений.

Если применимо, определяют и подтверждают условия и срок хранения промежуточных продуктов или возможность проведения повторной обработки.

*СТАНДАРТНЫЕ ОБРАЗЦЫ*

В качестве стандартного образца для идентификации, количественного определения и других испытаний может быть использована серия лекарственного средства с доказанной стабильностью и репрезентативностью по отношению к сериям, прошедшим клинические исследования, или репрезентативная серия фармацевтической субстанции. Стандартный образец характеризуют надлежащим образом в соответствии с фармакопейными требованиями.

*ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОДУКТА*

В процессе фармацевтической разработки необходимо получить подробную характеристику продукта, включая определение его структуры, физико-химических, биологических, иммунохимических свойств и чистоты.

Характеристика необходима для определения показателей качества, важных для безопасности и эффективности лекарственного препарата. Полученная информация обеспечивает основу для обоснования перечня показателей качества, включаемых в спецификации на выпуск, оценки стабильности и проведения любых испытаний, которые могут потребоваться для подтверждения приемлемости изменений процесса производства.

**Структура.**

При установлении характеристик продукта необходимо максимально полно охарактеризовать первичную структуру целевого продукта и структуры более высокого порядка, любые посттрансляционные модификации, например, гликозилирование, а также преднамеренные модификации целевого продукта.

Аминокислотную последовательность устанавливают на основании последовательности ДНК вектора экспрессии и подтверждают испытанием полученного продукта. Первичную структуру в части целевой аминокислотной последовательности, N- и C-концевых аминокислотных последовательностей, свободных сульфидных групп, положения и числа дисульфидных связей продукта определяют с помощью комбинации методов, например, таких как пептидное картирование и масс-спектрометрия и др.

Испытания пегилированных белков должны включать в себя определение участка модификации и степени занятости сайта, но не ограничиваться этим.

Характеристика гликозилирования должна включать определение общего состава моносахаридов (нейтральные сахара, аминосахара и сиаловые кислоты), сайтов связывания, типа гликозилирования (например, N- или
O-гликозилирование), степени занятости сайта и олигосахаридных структур гликановых цепей (удлинения, протяжённости, разветвлённости, типа соединения).

Особое внимание необходимо уделить гликановым структурам, нехарактерным для природных белков человека, в связи с их возможной иммуногенностью, а также гликанам, оказывающим влияние на активность продукта.

Определение конформации белка проводят с использованием комбинации подходящих физико-химических методов, например, спектроскопия кругового дихроизма, инфракрасная спектроскопия с Фурье-преобразованием, флуоресценция, дифференциальная сканирующая калориметрия, спектрометрия протонного ядерного магнитного резонанса и/или масс-спектрометрия водородно-дейтериевого обмена и др.

Необходимо изучение состава форм белка с различным зарядом (заряженных изоформ). Влияние изоформенного состава на безопасность и эффективность целевого продукта должно быть подтверждено в надлежащих испытаниях.

Биологические испытания, связанные с определением функциональной активности, также могут служить дополнительным подтверждением конформации белка.

**Активность**.

Активность (уникальную способность продукта вызывать определённый фармакологический эффект) оценивают биологическими и биохимическими (включая иммунохимические методы) методами, в зависимости от природы и свойств продукта.

Механизм действия продукта должен быть изучен и охарактеризован, при возможности, в соответствующих испытаниях активности.

**Иммунохимические свойства**.

Должны быть представлены данные по сравнению аффинности к их мишеням для целевого продукта, родственных соединений и родственных примесей.

Если иммунохимические свойства имеют отношение к механизму действия, в частности, для антител, то их необходимо тщательно охарактеризовать (например, определение Fc-эффекторной функции).

**Родственные примеси и родственные соединения.**

Продукты, получаемые с помощью технологии рДНК, обычно имеют несколько источников гетерогенности (например, N-концевой или
C-концевой процессинг, N-концевое пироглутамирование, дезамидирование, окисление, изомеризация, фрагментация, нарушения положения дисульфидных связей, N- и О-гликозилирование, гликирование, агрегация), что приводит к сложному профилю продукта, состоящему из нескольких сходных молекулярных соединений или молекулярных вариантов.

Если безопасность и эффективность таких молекулярных вариантов сопоставимы с продуктом и не имеют негативного влияния на безопасность и эффективность лекарственного препарата, то их относят к родственным соединениям и не рассматривают в качестве примесей.

Другие молекулярные варианты, которые не обладают сопоставимыми с целевым продуктом активностью, безопасностью и эффективностью, рассматривают как родственные примеси.

Методы, используемые для оценки родственных соединений и родственных примесей, должны быть способны выявлять структурные варианты с различными физико-химическими свойствами, например, зарядом, размером и гидрофобностью. Общепринятым подходом является применение комбинации ортогональных методов, например, хроматографических, электрофоретических и спектроскопических.

Определение особенностей молекулярных вариантов продукта по заряду, например, после различного сиалилирования или дезамидирования, N- или C-концевого процессинга, выполняют соответствующими методами (капиллярного электрофореза, изоэлектрического фокусирования, ионообменной хроматографии и др.), которые можно использовать совместно с другими методами, например, такими как масс-спектрометрия.

Высокомолекулярные формы продукта, такие как димеры и олигомеры более высокого порядка, могут быть разделены и количественно определены с помощью методов разделения по размеру (например, эксклюзионной хроматографии, проточного фракционирования в поперечных полях, аналитического ультрацентрифугирования) в сочетании с подходящими методами детектирования (например, ультрафиолетовой спектрофотометрии, флуориметрии, светорассеяния).

**Производственные примеси и контаминанты.**

Примеси, связанные с производственным процессом (производственные примеси), могут включать белки клетки-хозяина, ДНК штамма-продуцента и компоненты питательной среды (например, индукторы, антибиотики, сыворотки). Производственные примеси должны быть оценены качественно и количественно.

Остаточные белки клеток-хозяина определяют с помощью подходящего чувствительного и надёжного испытания, способного обнаруживать широкий спектр белковых примесей.

Остаточную ДНК штамма-продуцента определяют с помощью специфичных количественных методов с достаточной чувствительностью в соответствии с рекомендациями *ОФС «Определение и характеристика остаточной ДНК клетки-хозяина»*.

Примеси, образующиеся в ходе производственного процесса, могут включать ферменты, реактивы (например, гуанидин), красители, окислители и восстановители, антибиотики, соли (например, тяжёлых металлов), растворители, лиганды (например, протеин А) и другие вещества.

Контаминанты (загрязняющие вещества) включают в себя все случайно попавшие в продукт вещества, не предназначенные для использования в производственном процессе (например, микроорганизмы, ферменты, бактериальные эндотоксины).

Примеси связанные с производственным процессом и контаминанты контролируют с помощью надлежащих стратегий, основанных на принципах управления рисками.

**Содержание белка.**

Количественное определение белка проводят с помощью соответствующих физико-химических или иммунохимических методов. Содержание общего белка (выраженное в единицах массы) может определяться с помощью методов, представленных в *ОФС «Определение белка»*.

При необходимости могут применяться другие методы с использованием подходящего стандартного образца (например, хроматография). Для модифицированных белков количественное определение относится только к белковой части молекулы.

*СТРАТЕГИЯ КОНТРОЛЯ*

На основе знаний о рекомбинантном продукте и производственном процессе устанавливают запланированный комплекс мероприятий контроля, обеспечивающих эффективность производства и качество конечной продукции (т.е. стратегию контроля). Стратегия контроля должна включать в себя контроль параметров процесса, контроль в процессе производства, контроль исходного сырья, промежуточных продуктов, фармацевтической субстанции и лекарственного препарата, а также используемые методы и частоту контроля.

Стратегия контроля должна гарантировать, что характеристики качества, имеющие отношение к безопасности и эффективности, находятся в пределах допустимого диапазона изменчивости каждого параметра процесса, исходя из степени его влияния на ожидаемое качество лекарственного препарата.

Выбор испытаний и этапов, на которых их проводят, должен быть основан на знании производственного процесса и всесторонней характеристике фармацевтической субстанции и лекарственного препарата. Часть испытаний отбирают для включения в спецификации. Спецификации на фармацевтическую субстанцию и лекарственный препарат, полученные с использованием технологии рДНК, являются одной из частей общей стратегии контроля.

*ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ СУБСТАНЦИЯ*

Для фармацевтической субстанции испытания предусматривают контроль молекулярной идентичности и структурной целостности методом пептидного картирования (установление первичной аминокислотной последовательности), изоэлектрического профиля, гликанового профиля (для гликопротеинов), а также оценивают описание (внешний вид, цветность, прозрачность, если применимо), проводят идентификацию, определяют микробиологическую чистоту, бактериальные эндотоксины, родственные соединения, профиль примесей, в том числе родственные примеси, производственные примеси, содержание белка и активность, при необходимости с проведением сравнения с подходящими стандартными образцами.

Если фармацевтическая субстанция содержит конъюгированный или химически модифицированный белок (например, пегилированный белок), соответствующие испытания должны быть проведены как для модифицированного, так и для немодифицированного продукта. Проводят испытания для молекулярных вариантов, родственных продукту (например, доля модифицированного и немодифицированного белка) и для производственных примесей, полученных в результате модификации (например, побочные продукты модификации, реагенты) и устанавливают критерии их приемлемости.

*ГОТОВЫЙ НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ*

Для получения готового нерасфасованного продукта могут быть объединены одна или несколько серий фармацевтической субстанции. В процессе его получения могут быть добавлены подходящие стабилизаторы или другие вспомогательные вещества.

Готовый нерасфасованный продукт должен храниться с соблюдением валидированных условий, обеспечивающих микробиологическую чистоту/стерильность и стабильность.

Готовый нерасфасованный продукт должен отвечать установленным требованиям, которые формируются на основании его характеристик и результатов валидации технологического процесса и стабильности.

Формирование партии (серии) должно быть установлено и документировано.

*ЛЕКАРСТВЕННЫЙ ПРЕПАРАТ*

Лекарственный препарат должен отвечать требованиям общих фармакопейный статей для соответствующих лекарственных форм и соответствующих фармакопейных и общих фармакопейных статей. Для оценки качества применяют испытания, представленные ниже.

**Идентификация.**

Методы подтверждения подлинности должны быть специфичными и основанными на уникальных особенностях молекулярной структуры, биологических свойствах или других свойствах молекулы, таких, как, например, размер, первичная структура, изоэлектрический профиль, хроматографические свойства и функциональная конформация. В испытаниях используют принцип ортогонального подхода с применением комплекса биологических и физико-химических методов, предусмотренных при определении молекулярной идентичности, структурной целостности и активности продукта, фармацевтической субстанции или лекарственного препарата. Если возможно, проводят сравнение с соответствующим стандартным образцом.

**Испытания.**

Используют комплекс надлежащих методов, способных определить производственные примеси, родственные примеси и родственные соединения (например, возникающие в результате укорачивания, фрагментации, агрегации, окисления, дезамидирования продукта и др.), подтвердить молекулярную идентичность и структурную целостность, и устанавливают критерии их приемлемости. Подтверждение молекулярной идентичности и структурной целостности включает оценку первичной аминокислотной последовательности методом пептидного картирования в соответствии с требованиями *ОФС «Пептидное картирование»*; изоэлектрического профиля методами капиллярного электрофореза, ионообменной хроматографии или иным подходящим методом; гликанового профиля методами высокоэффективной жидкостной хроматографии, капиллярного электрофореза, хромато-масс-спектрометрии или иным подходящим методом; другие характеристики. Выбор комплекса методов должен быть обоснован.

Испытания для модифицированных белков проводят в зависимости от типа модификации белка в конкретном лекарственном препарате. Пределы содержания должны быть установлены.

**Количественное определение.**

***Содержание.*** Содержание фармацевтической субстанции должно соответствовать пределам, утверждённым для конкретного лекарственного препарата. Обычно оно основано на определении содержания белка и выражается в единицах массы. Могут быть использованы методы, представленные в *ОФС «Определение белка»*. При необходимости, могут применяться другие методы с использованием подходящего стандартного образца, например, жидкостная хроматография. Для модифицированных белков количественное определение относится только к белковой части молекулы.

***Активность*.** Активность устанавливают подходящим специфичным методом в испытаниях с использованием стандартного образца и количественно оценивают по сравнению с активностью стандартного образца. Для вычисления и обработки результатов испытаний используют подходящие статистические методы.