

دکتر مریم اسلامی

پزشک، دکتری تخصصی ژنتیک، فلوشیپ پزشکی بازساختی

انقلابی در mRNA LNP

و باز کردن مرزهای جدید در داروسازی، واکسن‌ها و درمان‌ها

mRNA LNP یک رویکرد امیدوارکننده برای طیف گسترده‌ای از داروها، واکسن‌ها و راه‌حل‌های درمانی جدید است. پتانسیل پیشگامانه آن در طول همه‌گیری

COVID-19 با توسعه سریع و شگفت‌انگیز واکسن mRNA LNP برای عموم آشکار شد. این فناوری نوآورانه RNA که ترکیبی از اسید ریبونوکلیئیک پیام‌رسان (mRNA) و نانوذرات لیپیدی (LNP) است، پتانسیل منحصر به فردی را برای تغییر چشم‌انداز بیوتکنولوژی و دارویی با گشودن امکانات جدید متعدد درمان، نه تنها در زمینه بیماری‌های عفونی، بلکه برای بیماری‌های نادر یا سرطان دارد.

در این مقاله، آنچه را که mRNA LNP‌ها را منحصر به فرد می‌کند، با بررسی ماهیت، اصل کار، فرآیند تولید و کاربردهای متعددی که برای تغییر آینده پزشکی نامیده می‌شوند، بررسی خواهیم کرد.

mRNA LNP چیست؟

mRNA-LNP‌ها ذرات کروی با اندازه‌های 50 تا 200 نانومتر هستند که عموماً از

پنج جزء اصلی تشکیل شده‌اند: محموله (mRNA) و 4 جزء لیپیدی: LNP

این مولکول RNA تک رشته ای مربوط به توالی نوکلئوتیدی یک ژن است که برای سنتز پروتئین از طریق رونویسی توسط یک ریبوزوم استفاده می شود.

فسفولیپیدها: فسفولیپیدها آمفی پاتیک هستند، به این معنی که هم دارای مناطق آبدوست (آب دوست) و هم آبگریز (متنفر از آب) هستند. با توجه به این ویژگی، این لیپیدها عمدتاً در غشای نانوذرات قرار دارند و به بهبود کارایی کپسولاسیون کمک می کنند.

لیپیدهای استرول: کلسترول به دولایه لیپیدی اضافه می شود تا پایداری و سفتی آن را افزایش داده و به کاهش نشت دارو کمک کند. کلسترول همچنین به محافظت از محموله در برابر تخریب کمک می کند.

لیپیدهای PEGylated: اگرچه بخش کوچکی از ترکیب لیپیدی است، اما تأثیر قابل توجهی بر اندازه نانوذرات، مدت زمان گردش و پایداری دارد.

دم بلند آنها که عمدتاً روی سطح نانوذره قرار دارند، به یکپارچگی ساختاری نانوذره کمک می کند.

لیپیدهای کاتیونی قابل یونیزاسیون: آنها جزء اصلی مجموعه هستند زیرا حدود 50 درصد آن را تشکیل می دهند و برای محصور کردن محموله RNA حیاتی هستند.

نانوذرات لیپیدی این قابلیت منحصر به فرد را دارند که در pH 7 خنثی هستند، اما در pH پایین بارشان مثبت می شوند.

آنها سه عملکرد حیاتی را در ساختار نانوذرات انجام می دهند:

1 آنها کپسولاسیون الیگونوکلیوتیدی را در طول ساخت LNP بهبود می بخشند.

2 جذب سلولی اسید نوکلئیک را افزایش می دهند.

3 در pH خنثی به کاهش سمیت کمک می کنند.

با توجه به نقش اساسی آنها در تسهیل تحویل mRNA از طریق نانوذرات لیپیدی (LNPs)، لیپید یونیزاسیون پذیر به عنوان یک نقطه کانونی در مناقشات مداوم ثبت اختراع بین شرکت های دارویی و بیوتکنولوژی درگیر در توسعه داروهای جدید mRNA ظاهر شده است، که هر کدام با هدف توسعه اختراع ثبت شده خود هستند..

اصل کار mRNA LNP

پس از معرفی به بدن، mRNA و به طور کلی تمام اسیدهای نوکلئیک، مستعد تخریب توسط اندونوکلیازهای سرم هستند. برای محافظت از آنها، درمان های اسیدهای نوکلئیک به طور سنتی بر روش های انتقال ویروسی، مانند ویروس های غیرفعال، برای تحویل اسید نوکلئیک تکیه می کردند، اما محدودیت هایی مانند عوارض جانبی و ظرفیت بارگذاری ضعیف از خود نشان دادند.

به موازات این، در طول 50 سال گذشته، نانوذرات مبتنی بر لیپید، مانند لیپوزوم ها، برای دارورسانی و انتقال ذرات کوچک مورد استفاده قرار گرفته اند. با این حال، ساختار ساده آنها مانع تحویل کارآمد اسید نوکلئیک و کپسوله سازی می شود در حالی که باعث سمیت بالا می شود. به همین دلیل، نوع خاصی از نانوذرات تخصصی در انتقال الیگونوکلیوتیدها مهندسی شده است.

: LNP

ساختار منحصر به فرد آن‌ها، از جمله یک لیپید قابل یونیزاسیون، امکان کپسوله‌سازی بالا را فراهم می‌کند و در عین حال تحویل کارآمد اسیدهای نوکلئیک را تضمین می‌کند.

مکانیسم درون سلولی تحویل mRNA توسط نانوذرات لیپیدی به عوامل مختلفی بستگی دارد:

اول، کپسوله کردن mRNA در LNP زمان گردش خون را با جلوگیری از تخریب آن بهبود می‌بخشد. علاوه بر این، LNP به سلول متصل می‌شود، LNP به اسید نوکلئیک کمک می‌کند از طریق فرآیند اندوسیتوز از سد سلولی عبور کند. در نهایت، افت pH که در طول اندوسیتوز اتفاق می‌افتد منجر به تخریب ساختار RNA LNP می‌شود و محموله را به داخل سیتوپلاسم آزاد می‌کند.

فرآیند تهیه mRNA-LNP پیچیده است و شامل چندین مرحله متمایز است:

شناسایی mRNA

در ابتدا، فرآیند با شناسایی توالی mRNA مناسب که پروتئین مورد نظر را کد می‌کند، آغاز می‌شود. این توالی توسط سر و دم خود محصور شده است و از ساختار mRNA درون‌زا تقلید می‌کند. هدف این شبیه‌سازی بهینه‌سازی بیان ژن و افزایش پایداری است.

هنگامی که توالی mRNA مناسب شناسایی شد، باید قبل از کپسوله شدن در LNP تولید و خالص شود.

RNA را می توان از طریق سه روش اولیه تولید کرد:

سنتز شیمیایی: این روش ساده ترین، پیوسته ترین و مقرون به صرفه است. با این حال، فقط برای RNA های کوتاه (>100 نوکلئوتید) مناسب است و برای الیگونوکلئوتیدهای بلند ایده آل نیست.

سلول میزبان (تولید نوترکیب): علیرغم پیشرفت های علمی اخیر در جلوگیری از تخریب RNA، استفاده از سلول میزبان به عنوان مثال، E. coli برای تولید نوترکیب فاقد راه حل های تولید مقیاس پذیر است.

سنتز آنزیمی: دو رویکرد در سنتز آنزیمی در حال افزایش است: واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) همراه با رونویسی زنجیره ای پلیمرز (PCT) و رونویسی پیشرفته در شرایط آزمایشگاهی (IVT).

در حالی که PCT نیاز به بهبود بیشتری دارد، IVT به استاندارد طلایی برای تولید mRNA تبدیل شده است.

یک الگوی DNA - معمولاً یک DNA پلاسمیدی - پروتئین مورد نظر را کد می کند، توسط یک آنزیم به یک رشته RNA رونویسی می شود و سپس خالص می شود. کپسوله سازی در نانوذرات

همانطور که در بالا توضیح داده شد، پس از تولید، رشته mRNA باید برای تحویل درون سلولی کارآمد در یک LNP محصور شود.

فرآیند تولید mRNA LNP

به طور سنتی، نانوذرات مبتنی بر لیپید به صورت دسته‌ای از طریق روش‌های پراثری مانند هیدراتاسیون لایه نازک، همگن‌سازی با فشار بالا و فراصوت تولید می‌شدند. با این حال، این روش‌ها تکرارپذیری ضعیف، کارایی کپسوله‌سازی و بازدهی ضعیفی را نشان دادند، که آنها را برای توسعه واکسن mRNA نامناسب کرد.

در پاسخ، mRNA-LNP اکنون با استفاده از روش‌های خودآرایی تولید می‌شود. لیپیدها در یک حلال، به طور معمول اتانول، حل می‌شوند، در حالی که محلول آب با pH پایین حاوی mRNA یک ضد حلال است. در طول اختلاط، محلول‌ها با هم ترکیب می‌شوند و حلالیت چربی را کاهش می‌دهند و باعث ایجاد خودآرایی نانوذرات می‌شوند.

با توجه به تأثیر قابل توجه شرایط اختلاط بر ویژگی‌های نانوذرات (اندازه، بار و غیره)، میکروسیال‌ها به عنوان پرکاربردترین روش برای ساخت mRNA-LNP ظاهر شده‌اند. توانایی منحصر به فرد آن در تکرار شرایط اختلاط، همراه با مقیاس پذیری از میکرولیتر به لیتر، آن را به انتخاب ارجح در فرآیند تولید تبدیل می‌کند.

فرمولاسیون LNP

همانطور که در بررسی بهینه‌سازی فرمول mRNA LNP معرفی شد، علاوه بر فرآیند تولید، پارامترهای متعددی از نانوذرات لیپیدی در بازده انتقال نقش دارند، از جمله ترکیب لیپید، نسبت لیپید، اندازه، pH، فرآیند دیالیز...

کاربردهای mRNA LNP

درمان‌های mRNA طیف وسیعی از کاربردهای بالقوه دارند، از جمله:

واکسن‌های mRNA برای بیماری‌های عفونی

mRNA-LNP: ها برای تولید واکسن‌های پیشگیری‌کننده بسیار مؤثر در برابر انواع بیماری‌های عفونی، از جمله COVID-19، آنفولانزا، و مالاریا استفاده شده‌اند. در زمینه واکسن‌ها، از آن‌ها برای تحویل mRNA استفاده می‌شود که آنتی‌ژن‌های پاتوژن هدف را رمزگذاری می‌کند، مانند پروتئین اسپایک ویروس COVID-19 برای واکسن کووید 19. هنگامی که mRNA به سلول‌ها تحویل داده می‌شود، آزاد شدن این پروتئین باعث واکنش ایمنی در برابر پاتوژن می‌شود و به محافظت از بیمار در برابر عفونت کمک می‌کند. تا ژوئیه 2021، در مجموع 73 واکسن پیشگیرانه در حال حاضر در آزمایشات بالینی یا بالینی وجود دارد و 3 مورد قبلاً تأیید شده است (1).

ایمونوتراپی/واکسن سرطان: وقتی صحبت از سرطان می‌شود، mRNA LNP عموماً به عنوان واکسن‌های درمانی استفاده می‌شود. آنها با ارائه mRNA که سلول‌های T گیرنده آنتی‌ژن کایمیریک (CAR) را کد می‌کند، کار می‌کنند. سلول‌های CAR T سلول‌های T مهندسی شده‌ای هستند که یک گیرنده آنتی‌ژن کایمیریک را بر روی سطح خود بیان می‌کنند. این گیرنده به سلول‌های CAR T اجازه می‌دهد تا سلول‌های سرطانی را شناسایی کرده و از بین ببرند.

mRNA-LNP برای تحویل mRNA سلول CAR T به بیماران مبتلا به لوسمی و لنفوم، با نتایج امیدوارکننده استفاده شده است.

ژن درمانی: علاوه بر این، تحویل mRNA LNP را می توان برای معرفی یک رشته RNA که پروتئین های درمانی را برای درمان بیماری های ژنتیکی کد می کند، استفاده کرد. به عنوان مثال، mRNA-LNP ها برای درمان دیستروفی عضلانی دوشن، فیبروز کیستیک و بیماری سلول داسی شکل در حال بررسی هستند. در ژن درمانی، هدف ارائه mRNA است که یک کپی عملکردی از ژن جهش یافته در بیماری را رمزگذاری می کند. هنگامی که mRNA به سلول ها تحویل داده می شود، به پروتئینی تبدیل می شود که می تواند پروتئین معیوب را جبران کند.

ویرایش ژن: CRISPR-Cas9 در زمینه ویرایش ژنوم، یک رشته mRNA که برای یک ماشین ویرایش ژن CRISPR-Cas9 کد می کند به سلول تحویل داده می شود . CRISPR-Cas9 ابزار قدرتمندی است که می توان از آن برای ایجاد تغییرات دقیق در DNA استفاده کرد.

mRNA-LNP ها برای رساندن ماشین آلات CRISPR-Cas9 به سلول ها برای تصحیح جهش های ژنتیکی که باعث ایجاد انواع بیماری ها از جمله بیماری سلول داسی شکل و بتا تالاسمی می شوند، استفاده شده است.

mRNA-LNP ها یک رویکرد جدید امیدوارکننده برای تحویل دارو هستند. آنها چندین مزیت نسبت به سایر سیستم های دارورسانی دارند، از جمله راندمان بالا، سمیت کم و تطبیق پذیری mRNA-LNP ها و پتانسیل استفاده برای توسعه طیف گسترده ای از درمان های جدید و موثر برای انواع بیماری ها را دارند.

علاوه بر کاربردهایی که در بالا ذکر شد، mRNA-LNP ها نیز برای استفاده در زمینه های دیگر، مانند درمان جایگزینی پروتئین، درمان بیماری های خود ایمنی، درمان بیماری های عصبی، درمان بیماری های قلبی عروقی، مورد بررسی قرار می گیرند. به طور کلی تر، فناوری RNA-LNP همچنین می تواند برای تحویل انواع دیگر اسیدهای نوکلئیک مانند siRNA ، ... miRNA استفاده شود. درمان های RNA هنوز در مراحل اولیه توسعه هستند، اما این پتانسیل را دارد که روش بسیاری از بیماری ها را متحول کند.

<https://insidetx.com/review/mrna-lnp-revolution/>