

宿主细胞蛋白 HCP 检测

*Biologics
Testing
Solutions*

宿主细胞蛋白 (HCP) 检测

Charles River可整合全球资源与客户深入合作，针对特定项目和平台开发宿主细胞蛋白（Host Cell Protein, HCP）残留检测。此外，我们还可为客户提供商用试剂盒及其覆盖范围的验证。测定HCP含量所需的试验类型取决于产品研发阶段。在研发早期过程和临床早期阶段，通常可使用一般试验。然而，一旦进入III期临床研究阶段，就需要对生物制品使用经过专业验证的具有产品针对性的HCP检测方案。无论是正在进行临床前研发的产品，还是即将开展III期研究的产品，我们都能为客户提供试验开发和验证的解决方案。

宿主细胞蛋白是什么？

宿主细胞蛋白（HCP）是一类异质性的蛋白污染，是生物制品中无法避免的一类杂质，可能在重组发酵过程中产生，或是从外源物质引入。即使进行多次复杂的分离纯化，HCP也可能与产品共同纯化，或随产品而分离，因此需要对原料药和下游纯化过程（DSP）中间体中的HCP进行表征和量化。免疫原性反应等不良反应的风险不一定与某些宿主细胞蛋白的含量相关，即使是微量的HCP也可能具有很强的免疫原性，或是对有效期内的产品质量产生不利影响。由于灵敏度和特异性不足，传统蛋白质检测方法如HPLC和总蛋白染色，并不适用于HCP的检测。因此，经过优化的免疫分析法（ELISA）和质谱法（MS）已成为HCP测量和表征的首选方法。

目前，Charles River能够同时提供HCP免疫分析和HCP质谱分析服务的全球化供应商。基于这两项技术，应用我们的HCP-GAPex策略，我们能够提供HCP检测完整解决方案。

EVERY STEP OF THE WAY

定制定量免疫分析HCP检测方法的开发

针对产品特点定制定量HCP检测方法需要几个步骤：

- 宿主蛋白/抗原的分离与浓缩
- 用兔、山羊和鸡生产抗血清
- 从粗血清中亲和纯化抗体
- 对抗体进行特异性和灵敏度方面的质量控制（通过2D SDS-PAGE和蛋白印迹法覆盖线性表位）
- 宿主细胞蛋白检测方法建立和优化
- 根据ICH Q2（R1）指导原则验证检测方法
- 采用鸟枪法蛋白质组学（LC-MS/MS）对宿主细胞抗原进行表征
- 构象覆盖率：利用免疫亲和实验和LC-MS/MS读数测定原生蛋白表位覆盖率，对免疫原性HCP抗原进行鉴别。

我们的团队能在上述所有过程中为客户提供支持，确保在药物开发管线的每个阶段，为客户的生物制品提供充分表征且控制良好的杂质谱。

定制HCP检测方法所用抗血清的制备

不同于单克隆抗体生产过程中存在的单一成分的残留、污染和浸出物（例如胰酶或Protein A）检测，HCP由于其复杂性和异质性而往往需要多克隆抗血清进行试验开发。我们的多克隆抗血清生产可使用多个物种进行，包括兔、山羊、鸡和啮齿动物。对于兔和鸡，利用Charles River的特异性无病原体（SPF）动物，通常可提高特异性，且不会引起抗产品交叉反应。

为了尽可能在免疫实验中最更大幅度地收集信息，我们还可提供以下附加服务：

- 抗原浓度测定
- 抗原的浓缩
- 创新的免疫策略
- 抗体纯化和标记
- 通过高分辨率2D-SDS-PAGE和蛋白印迹法测定覆盖率
- LC-MS/MS法测定覆盖率

用于鉴定和定量的定制LC-MS/MS HCP检测方法

质谱法是鉴定HCP污染物的一个非常强大的工具，而LC-MS/MS可以与质谱法互补，在免疫分析方法的开发过程中，对特定HCP杂质进行鉴定和定量。采用质谱技术对产品和生产样品中的蛋白质进行直接鉴定，再加上基于MS的免疫亲和实验，这两种方法的智能组合能够提供关于下游工艺性能以及用于控制和开发下游的免疫分析试剂的全面信息。这些工作包括：

- 对模拟细胞系和转染细胞系中的HCP蛋白质组/分泌组进行表征。
- 基于LC-MS/MS技术，采用非标签定量（LFQ）方法，通过DSP对HCP进行表征和定量。
- 鉴定药品原液和药物制剂中的特定HCP。
- 基于MS技术，测定ELISA试剂对构象（原生）蛋白表位的覆盖率。
- 鉴定和填补ELISA试剂的检测空白，通过HCP-GAPex策略实现免疫分析的最大化覆盖。

服务领域：

- 免疫测定（ELISA、ILA和免疫PCR）
- 蛋白质组LC-MS/MS分析
- 多种表达系统的开发，包括：
 - 哺乳动物细胞
（例如：MRC-5、Vero、A549、BHK、CHO、293）
 - 昆虫细胞（如Sf9）
 - 细菌（如大肠杆菌 E.coli、金黄色葡萄球菌 S.aureus）
 - 酵母（如毕赤酵母 P.pastoris、酿酒酵母 S.Cerevisiae）
- 分析方法的快速建立、确认和验证
- 检测试剂的生命周期管理，包括检测试剂的长期储存、纯化和再确认。内部生产抗血清，可用于支持后期产品开发。

HCP-GAPexSM：全新控制HCP杂质的整体研究方案

Charles River能够同时提供HCP免疫分析和HCP质谱分析服务的全球化供应商。基于这两项技术，应用我们的HCP-GAPex策略，我们能够提供HCP检测完整解决方案。

用于鉴定和定量的定制LC-MS/MS HCP检测方法

	通用试剂盒检测方法	项目专属性检测方法	平台化检测方法
可用性	即时可用	需要制备抗原，包括克隆mock细胞系。	需要使用null细胞系或mock细胞系制备抗原。
开发	无需太多准备工作	包括抗原表征、免疫和确认在内的检测开发至少需要6个月时间	包括抗原表征、免疫，和确认在内的检测开发至少需要9个月时间
多样性	仅限于最常见的表达系统	各类型表达系统均可用	各类型表达系统均可用
特异性	特异性可能不佳，很可能有未检测到的HCP	特异性通常有所增强，抗体覆盖率更能针对特定的HCP模式（pattern）	与商业检测方法相比，特异性有所提高，对检测性能的理解有所增强，对HCP种类的覆盖率也有所提高
费用	初期价格相对便宜，但对整个DSP周期而言，开发成本将迅速上升	初期成本较高，但收支平衡点通常是在100套试剂盒的价值	由于可用于多种产品，具有显著的成本优势
依赖性	依赖于某个供应商，试剂和控制方案属于“black box”技术。	能对所有试剂和缓冲液取得全面控制，可以随时进行优化/调整	对所有试剂具有完整的所有权和控制权，可降低供应链和批次可比性的风险
监管需求	不适合用于支持上市许可申请	适用于支持许可产品从早期开发到最终产品上市的整个过程	适用于支持早期开发直至MAA/BLA（从早期阶段过渡到上市许可申请期间的风险更低）



关注查士生物制品服务

www.criver.com

查士利华实验室 | 生物制品检测解决方案

上海市青浦区华隆路1777号G幢一层