

● ECL 法を用いた抗 Host Cell Proteins (HCP) 抗体測定

TN387

Determination of Anti-Host Cell Proteins (HCP) Antibodies by ECL Method

【概要】

宿主細胞由来の不純物 (Host Cell Proteins : HCP) は不特定で多様な異種タンパクの混合物で、免疫原としての性質も多様です。そのため抗 HCP 抗体も、エピトープ、アイソタイプおよびサブクラスの多様な抗体が産生し得ます。

抗体結合タンパク質 (Protein A/G) は幅広いアイソタイプおよびサブクラスの抗体を検出可能で、かつ測定検体の動物種を超えて検出に活用出来るタンパク質です。Protein A/G を標識化することにより、簡便に抗 HCP 抗体を検出することが可能です。

当社では、電気化学発光 (Electrochemiluminescence : ECL) 法を用いた抗 HCP 抗体の測定サービスを提供しており、下記モデルアッセイを一例とし、ご要望に応じ種々のアッセイフォーマットを提案・対応いたします。

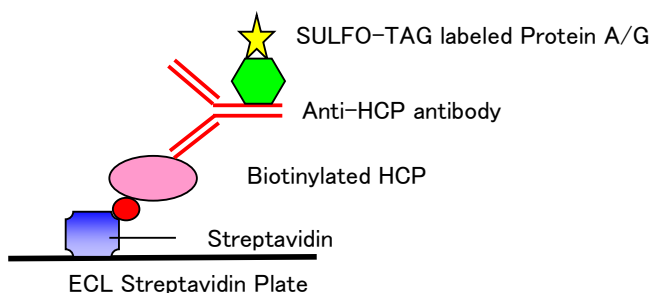
試験法開発から分析法バリデーション、検体測定まで、また、信頼性基準あるいは GLP に準拠した測定を承ります。

【背景】

バイオ医薬品は動物細胞等を用いて製造されますが、製造時に HCP が混入することで、薬物投与したヒトで HCP に対する重篤な免疫反応や主剤の免疫原性の亢進が引き起こされることがあります¹⁾。そのため、医薬品開発の臨床・非臨床試験において HCP の免疫原性評価が必要とされることがあります。

【測定方法および試験内容】

以下に、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞由来の HCP を抗原に、ヤギ抗 HCP 抗体を陽性抗体とした抗 HCP 抗体検出のモデルアッセイの例を示します。



1. 分析試料：測定対象を含んだ 1% ヒト血清
2. 測定方法
 - (1) ビオチン化 HCP をストレプトアビジンプレートに固相化
 - (2) 分析試料を添加
 - (3) SULFO-TAG 標識した Protein A/G を添加
 - (4) ECL 測定機器での (電気) 化学発光の検出により、SULFO-TAG を介した抗 HCP 抗体量を測定

[測定例]

1%ヒト血清において、3.91~2000 ng/mL(100%ヒト血清換算:391 ng/mL~ 2.00×10^5 ng/mL)の範囲で検量線が作成でき、FDAの免疫原性評価法開発・バリデーションの guidance²⁾で求められる250~500 ng/mLの定量下限濃度まで測定できることを確認しました。

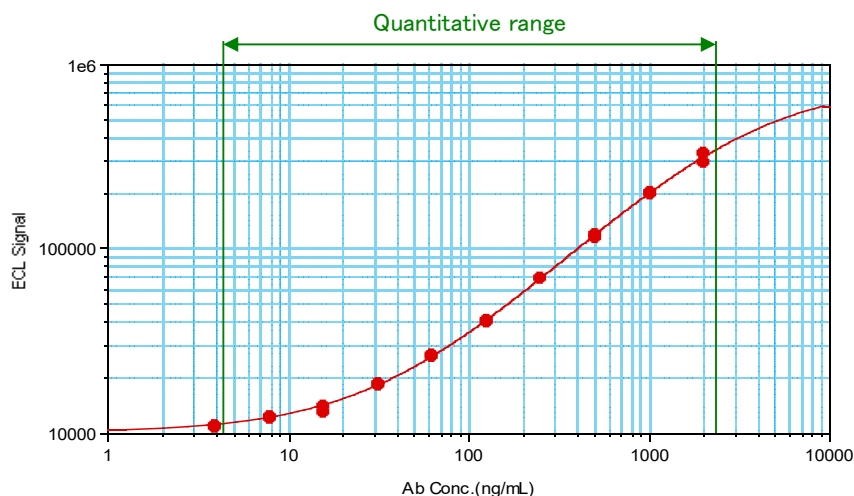


Fig. 1 Calibration curve of anti-HCP antibody detected by SULFO-TAG labeled Protein A/G

Table 1 Accuracy of back-calculated concentration in calibration curve of anti-HCP antibody (n=2)

	Nominal Concentration (ng/mL)	Accuracy (%)
STD.1	3.91	-117.9
STD.2	7.81	101.9
STD.3	15.6	-114.0
STD.4	31.3	105.0
STD.5	62.5	103.2
STD.6	125	-100.9
STD.7	250	101.6
STD.8	500	-101.5
STD.9	1000	100.6
STD.10	2000	-101.5

[参考文献]

- 1) E Koren, L A Zuckerman, A R Mire-Sluis : Immune responses to therapeutic proteins in humans--clinical significance, assessment and prediction *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 3 (4), 349 (2002).
- 2) U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration: Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products -Developing and Validating Assays for Anti-Drug Antibody Detection, January (2019).

[関連技術リンク]

ECL イムノアッセイ法を用いたタンパク医薬品の生体試料中濃度測定
<https://www.scas.co.jp/technical-informations/technical-news/pdf/tn359.pdf>

ECL 法を用いたバイオ医薬品の免疫原性アッセイ
<https://www.scas.co.jp/technical-informations/technical-news/pdf/tn371.pdf>

ECL 法を用いた薬物共存下における抗薬物抗体測定
<https://www.scas.co.jp/technical-informations/technical-news/pdf/tn376.pdf>