

发现

## 在研究性新药申请 (IND) 提交前评估单抗特异性的案例研究— Simcere (先声药业)

### 背景介绍

确保单克隆抗体对单一的主要靶点受体具有特异性已经成为开发生物疗法的关键步骤之一。以往,组织交叉反应性 (TCR) 研究常被用于发现需要进一步研究的非靶点事件。尽管TCR研究结果显示在某些组织中的结合提示非靶点事件,但实际上并不能完全区分非靶点与靶点的相互作用。所以TCR研究无法提示可供我们考虑的有关靶点身份(甚至数量)的相关信息。

使用细胞微阵列技术进行特异性筛选可确定不同抗体与人类细胞中表达的6,200多种人类蛋白质之间的相互作用。此高度特异性平台可明确所发现的次要靶点的数量及身份,其极低的假阳性率可更好地保证所得出的数据不会生成错误的结果,并已得到赞助商和监管机构广泛的认可。

### 非靶点抗体筛查会产生怎样的数据?

本案例将对先声药业提供的对人类单克隆抗体 (mAb) IND申请前的非靶点筛选研究进行概述。该抗体是先声药业临床/临床前研发管线中针对实体瘤适应症的诸多候选抗体中的一个。除了丰富的研发管线之外,先声药业已获批上市的药品涵盖多种治疗领域,包括肿瘤、中枢神经系统疾病和自身免疫性疾病等。在研究前,先声药业已经向Retrogenix公司公开了测试抗体的主要靶点,但以下案例概述仅显示匿名数据。

EVERY STEP OF THE WAY

## Retrogenix平台

Retrogenix庞大的cDNA克隆文库目前收录了超过6,200种的人类蛋白,包括质膜单体、异二聚体(由单独的亚基共表达形成)和分泌蛋白(由惰性细胞膜栓表达)。每个cDNA被重复标记到专门的载玻片上,并覆盖HEK293细胞。这些细胞已被反向转染,导致细胞群中每个细胞都过度表达不同的单个蛋白(或异二聚体复合物)。cDNA表达平台进行的大部分筛选研究将经历以下三个阶段:

- **预筛选:**使用不同浓度的实验分子来评估与未转染的HEK293细胞的背景结合水平,以选择最佳浓度进行全面筛选。
- **文库筛选:**筛选实验分子与过表达蛋白质的完整文库相结合。一般来说,这将包括重复的载玻片上重复的cDNA点位,这为使用平台检测提供了四种相互作用的机会。
- **确认筛选:**将来自文库筛选的每个“潜在反应”与对照受体一起重复表达,并重新测试实验分子或试验条件。这通常在活性细胞(无细胞固定)和固定细胞上进行,如果发现有任何次级靶点的相互作用,通常会进一步用流式细胞术作为标准进行进一步研究。

在先声药业抗体测试的案例中,全面筛选以20 $\mu$ g/mL的浓度进行,确认筛选中还包括先声药业提供的同型匹配的对照抗体。

## 验证主要靶点的特异性

文库筛选结果显示15个初始反应,因其中两个由不止一个克隆所表达,使得反应总数成为17个。所有初始反应均在筛查确认中被重复表达(结果见图1)。

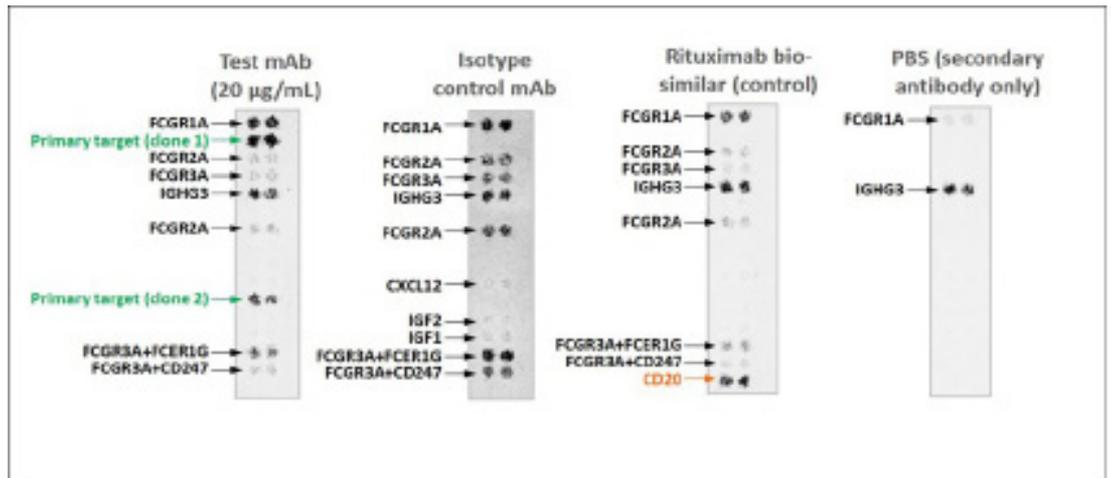


图1:先声药业的单抗试验和对照试验的确认筛选显示,单抗试验与其已知的主要靶点(两个克隆)相结合,未检测到其他特异性(非靶点)的相互作用。试验使用AlexaFluor647 anti-hIgG抗体进行检测。

在除去非特异性和非显著性反应后,测试抗体仅与其已知的主要靶点表现出特异性相互

---

作用。由于主要靶点(同型1)已克隆到两个不同的载体主干中,所以可以在阵列上的两个不同位置看到这一点。在固定细胞和活性细胞筛选中都能检测到测试抗体与其主要靶点之间的相互作用。

这些数据表明先声药业的单克隆抗体对其主要靶点具有高度特异性,该试验数据可用于关键决策的制定以及向监管机构提交的IND申请中。

## 结论

特异性是评估新型抗体疗法安全性的关键因素之一。使用Retrogenix平台进行非靶点筛选可以增强对抗体特异性的信心,亦可为研究者提供相关非靶点的数量以及身份的关键信息。Retrogenix的筛选数据已被全球监管机构广泛接受,该平台的可靠性增加了研究人员对细胞微阵列结果的依赖,常被用于取代包括TCR在内的其他方法。

感谢先声药业允许我们在此使用他们提供的数据。