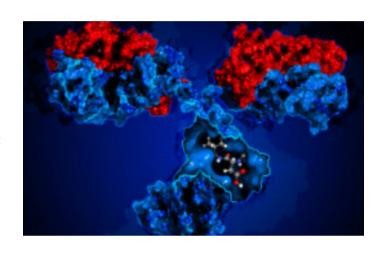
案例研究 73683

辉瑞多站点多属性监测方法(Multi-Attribute Method, MAM)的部署

辉瑞正在建立 MAM 未来实验室

辉瑞是一家领先的研究型生物制药公司,致力于利用科学原理、技术创新和公司全球资源为人类提供治疗产品,延长人类寿命并大大改善他们的生存质量。同时致力于为医疗保健产品的发现、开发和生产树立质量、安全和价值标准。其全球上市的产品包括许多知名药品和疫苗。作为全球首屈一指的创新生物制药公司,他们与医疗保健供应商、政府和当地社区紧密合作,在全球范围内支持并扩展获得可靠、经济适用医疗保健的途径。

为了支持辉瑞公司内部实现其目标,全球研发和医学部门的生物治疗药物科学(Biotherapeutics Pharmaceutical Sciences, BioTx PS)组织致力于开发高品质合规的生产流程,并以行业领先的研发周期提供安全有效的产品,持续符合化学、生产与控制(Chemistry, Manufacturing and Controls, CMC)法规。同样重要的是,BioTx PS 还需要提高并不断创新其研发能力,提供业内最复杂和多样化的治疗产品,包括单克隆抗体(monoclonal antibodies, mAbs)、抗体 - 药物偶联物(antibody-drug conjugates, ADCs)、Fc 融合蛋白、重组蛋白、疫苗、生物仿制药和基因治疗产品。BioTx PS 分为三个重要科学研究与开发(R&D)学科:分析研发(用于常规检测和深入表征)、生物工艺研发(用于细胞系和工艺开发)和制药研发(用于制剂开发和设备)。



在分析研发学科内部,对于每个治疗产品分子的整个分析研发周期(从临床前开发到上市),均有三个 Project Progression Line (PPL)来开发、认证和实施高品质方法,获得丰富的数据信息,用于工艺支持和产品表征 / 对比。采用的技术包括色谱和电泳等分析技术,近年来又扩展到了质谱分析领域。质谱和生物物理表征(MSBC)小组的任务是深入表征,使用领先的表征方法、高端仪器和创新方法以开放、合作和即时的方式解析生物治疗药物的分子结构,开发表征信息全面的药物并使其商业化。



在生物治疗药物开发过程中,明确分子的产品质量属性(product quality attributes, PQAs)及其对结构 - 功能和长期稳定性的影响对于确保产品品质、安全和有效来说至关重要。目前,通常采用色谱和电泳技术表征和监测各个PQA,支持批次放行、时间稳定性检测和工艺/配方开发。一些常规方法不仅占用大量时间和资源,且通常仅可用于间接衡量生物学相关PQA。

基于液相色谱 - 质谱(LC-MS)肽谱分析和自动化原理的 多属性方法(MAM)1可同时进行 位点特异性的POA 检测、 鉴定、定量和监测。与无法提供各个 PQA 位点特异性信息的传统分析手段相比,MAM 可对 PQA 直接进行定量分析,丰富了对工艺和产品的认识。辉瑞的目标是在新开发项目完成初始表征后进行 MAM 分析,通过 MAM 对各个样品进行全生产周期的 PQA 监测,从而指导工艺开发、结构功能研究以及最终的质控和标准制定。为此,辉瑞公司专门成立了一支专家团队,开发并实施多站点 MAM "未来实验室"项目,简化 PQA 分析。







Jason Rouse 负责管理辉瑞公司质谱和 生物物理表征(MSBC)实验室。MSBC 与辉瑞研发和生产团队合作进行产品表 征和可比性 / 生物相似性以及时间稳定 性研究和生物工艺支持。



Andrew Dawdy 是辉瑞 St. Louis 工厂 MSBC 实验室的首席科学家,也是辉瑞 MAM 团队的成员。他拥护辉瑞与赛默飞世尔(Pfizer-Thermo Fisher)的合作伙伴关系,致力于最大程度地利用 Biopharma Finder 和 Chromeleon CDS 软件实现 MAM 和其他基于 质谱 的表征。



Carly Daniels 是辉瑞 St. Louis 工厂 Project Progression Line 2 (PPL2) 的首席科学家和小组负责人,同时 领导辉瑞 MAM 团队。



Thomas Powers 是辉瑞 St. Louis 工厂 MSBC 实验室的首席科学家,也是辉瑞 MAM 团队的成员。



Keith Johnson 是辉瑞 Andover 工厂 Project
Progression Line 3(PPL3)的首席科学家和小组负责人,同时领导辉瑞 MAM 团队。



Kristin Boggio 是辉瑞 Andover 工厂 MSBC 实验室的首席科学家,也是辉瑞 MAM 团队的成员。

辉瑞 MAM 发展历程

辉瑞公司的 MAM 团队最初将 MAM 引入他们的 前 - 研 究性新药应用(Pre-Investigational New Drug application, pre-IND)中,抗体生物治疗产品开发的早期。每个抗体 项目开始时,发现和分子设计(Discovery and Molecular Design) 小组正式交接项目后,核心质谱小组都会对分子 属性进行深入分析,包括预期和非预期翻译后修饰和化学 修饰。在此过程中, 他们通过各种分析手段对原料药(未 降解)和加速降解样品(分别进行加热和光照降解)进行 对比,以深入了解降解过程及其对结构 - 功能关系的潜在 影响。MSBC 小组利用 Thermo Scientific LC-MS 仪器和软 件生成一份重要且全面的 PQA 工作薄,供 PPL 生化 / 分 离科学小组进行后续监测,该小组为产品和工艺开发提供 支持,包括放行、稳定性、鉴定以及高分子量聚体、电荷 变异体、尺寸变异体、N-糖链等的定量。PPL 小组直接参 与生产工艺以及每个治疗产品项目制剂的最终确定,此外 还提供加速降解和实时稳定性检测信息。因此, MAM 有 望为 PPL 小组 提供更多功能支持,以位点特异性的方式 监测更多属性,并集成放行/稳定性/定性分析,和/或简 化工作流程,提高检测效率。

辉瑞 MAM 团队在生产工艺改进和站点变更的可比性研究中也实施 MAM 检测。MAM 通过分析检测为变更前后的批次提供更严格的位点特异性属性/定量信息。此外,MAM 还适用于基因治疗、ADC、融合蛋白和重组蛋白等新型治疗产品,尤其适于在项目开始时(不存在批次放行和稳定性检测的情况下)作为快速表征/监测关键属性的一种方法,指导方法开发及更耗费劳动力的工艺和制剂开发工作。他们的短期目标是在 MSBC 和 PPL 小组内进行 MAM 培训和方法转移。随着仪器和软件的不断成熟,对于未经正式培训的质谱分析人员,实际操作会越来越简单直观,长期目标是将 MAM 完全集成到质控(quality control, QC)实验室、制剂团队和 良好生产规范(good manufacturing practices, GMP)生产中。

辉瑞投资将 MAM 纳入其分析过程的主要得益是:

- 1. MAM 是一种基于 LC-MS 的单一方法,可同时分析多个位点特异性的 PQA,对常规鉴定、放行和稳定性检测进行了有效补充(图 1)。
- 2. MAM 可自动监测和定量已知 PQA,并在工艺和产品开 发过程中检测新峰,有助于构建针对特定产品的全面科 学知识信息。

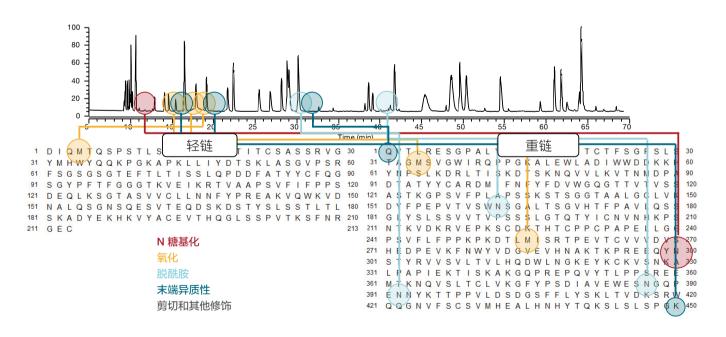


图 1. 辉瑞如何利用 MAM(一种基于 LC-MS 的单一方法)可以提供位点特异性信息的优势同时分析多个 PQA。

MAM 工作流程开发

据 2018 年一篇题为"Multi-Attribute Method'for Measuring Purity of Biopharmaceuticals and Improving Overall Control Strategy"4 的文章报道,MAM 可同时检测、定性、定量和质量控制(监测)多个分子属性。MAM 开发的主要动机是以更有效的方法提供更全面的信息。公司试图通过为更多亟待满足的医疗需求启动更多项目,MAM 除可简化产品和工艺开发,缩短为患者提供高品质药物的时间外,还被视为是可以更好地指导产品和工艺开发的新分析平台。此外,它可以作为处理 QC 实验室临床材料的平台。

如图 2 所示,MAM 由几个基本模块组成。起始步骤为快速蛋白酶解消化(通常使用胰蛋白酶),用于维持不稳定翻译后修饰(posttranslational modifications, PTMs,如 N-/O-糖基化、唾液酸化等)的完整性,并尽可能减少方法引起的化学修饰,例如某些肽段易于进一步脱酰胺、氧化等。然后,利用 Thermo Scientific™ Q Exactive™ Plus Hybrid Quadrupole-Orbitrap™ 质谱仪的 LC-MS/MS- 胰蛋白酶肽

谱分析技术,以传统、全面且具有位点特异性的方法对生物治疗分子的 PQA 进行表征,除了传统的高能碰撞解离 (higher-energy collisional

dissociation, HCD)外,可能还需要使用其他多肽内切酶和/或Thermo Scientific™ Orbitrap Fusion™ Lumos™ Tribrid™ 质谱仪选配的电子转移解离技术(electron-transfer dissociation, ETD)解析复杂序列中的修饰。最后,使用Thermo Scientific™ BioPharma™ Finder 软件的数据处理功能,检测、识别并记录包含翻译后修饰和化学修饰的 PQA列表,并将其记录在 PQA 工作簿中,实现了通过 LC-MS进行常规属性监测。生物治疗药物一旦界定为"表征良好"并生成对应 PQA 工作簿后,必要的和/或诊断性 PQA 列表即被转移到 Thermo Scientific™ Chromeleon™ 色谱数据系统(CDS)中,并基于 Thermo Scientific™ Exactive™ Plus 质谱仪进行常规属性监测。Exactive Plus 仪器仅使用一级质谱全扫描模式进行常规监测,结合色谱保留时间、高分辨/准确质量数和同位素分布自动识别和定量库中的PQA 信息。

辉瑞 MAM 平台工作流程

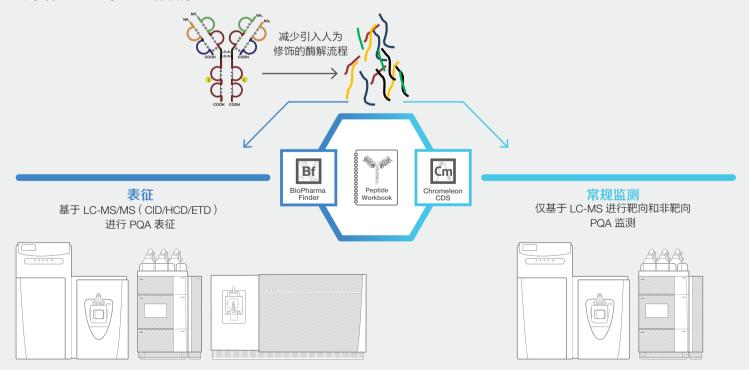


图 2. 辉瑞 MAM 工作流程。MSBC 小组基于 LC-MS/MS 进行初始表征,生成位点特异性 PQA 库。随后,PPL 小组使用 LC-MS 定期监测 PQA,构建工艺和产品信息。

理想情况下应监测蛋白质中的所有潜在 Met 和 Trp 氧化位点,但平衡考虑主要工作簿中 PQA 的数量也很重要,以确保通过 MAM 快速进行可靠监测。因此,用于一般筛查的主要工作薄可以只包含与 N- 糖基化、N-/C- 端异质性以及其他 PTM 有关的关键 PQA,以及一系列丰度更高、位点已知的 Asn 脱酰胺、Asp 异构化以及 Met/Trp 氧化的诊断性 PQA,以监测可能存在的降解。随着项目的开发,产品异质性和结构功能信息越来越多,也可以根据需要将其他 PQA 添加到主要工作簿中,以确保对产品一致性进行全面监测。此外,可以针对生物工艺优化或强制降解目的创建重点工作薄,监测更多 N- 糖型或氧化 / 脱酰胺位点。幸运的是,借助 Chromeleon CDS 和企业数据服务器,人们可以轻松回顾历史 MAM 数据以及近期 MAM 数据,并在项目开展期间使用全新 / 修订工作薄对 PQA 进行趋势分析,获取更多信息。

此外,系统适用性试验(SST)对于 MAM 的长期成功来说也非常关键。Thermo Scientific™ Pierce™ BSA Protein Digest 标准品被用作全面的 MAM 系统适用性样品。传统的系统适用性样品(简单的合成肽标准品混合物)仅可确保适用于 MAM 的几个关键指标,包括 UHPLC 性能(即保留时间(RT)重现性和峰宽 / 形)和质谱性能(即质量精度和峰面积),而 BSA Protein Digest 适用于更多需要监测的属性,包括方法诱导性化学修饰(例如,天冬酰胺 / 谷氨酰胺脱酰胺)的丰度百分比、系统诱导性氧化(目前不适用于我们的 SST 试验)和源内裂解。此外,将BSA Protein Digest 用作 SST 标准品的好处还在于,因为

Thermo Fisher 工程师安装仪器时即使用同一标准样品进行分析,故在安装时即可监测系统性能。。系统适用性的这种连续性将使长期轻松评估系统性能和仪器适用性成为可能。

辉瑞已选择使用内部开发的 mAb 标准品来监测 MAM 应用的日间系统适用性,而 Thermo Scientific™ Pierce™ LC-MS/MS 系统适用性标准品(或被称为 Thermo Scientific™ Pierce™ BSA Protein Digest 标准品)用于在 Thermo 工程师进行预防性维护和仪器维修之后重新评估 LC/MS 系统性能。此内部开发的 mAb 标准品可将系统适用性与项目初期的初始分析验收标准融合在一起。mAb 系统适用性/分析验收检测能够监测 UHPLC 性能、MS 性能、方法引起的伪峰(如脱酰胺)、系统引起的氧化以及与 BSA Protein Digest 标准品类似的源内裂解。此外,辉瑞 mAb 标准品还可用于评估胰蛋白酶消化的稳健性(即消化和烷基化效率),以靶向诊断性的方式检查 mAb 标准品位点特异性的脱酰胺、氧化、N-/C 端异质性、N- 连接糖链比率等的预期水平,确保在项目初期确立分析验收参考标准。

MAM 已在整个行业中被公认具有额外的价值。它可以节省工艺、产品开发和表征时间;提供对分子 PQAs 的深入监测。生物治疗性产品(包括基因治疗、双特异性抗体和三特异性抗体)复杂性的不断增加更加强调了 MAM 的价值。对各个属性的认识是生物治疗性产品发展的一个全新重点关注的领域,MAM 使辉瑞能够进行针对特定位点的属性分析,更好地认识属性本身及其对产品质量的影响。



与 Thermo Fisher Scientific 开展合作并使用 Thermo Scientific 产品

过去四年,辉瑞 MAM 团队一直与 Thermo Fisher Scientific 紧密合作,共同进行 MAM 开发。这项合作使他们能够提供有关工作流程各个方面的反馈,包括样品制备、硬件和软件以及性能和适用性等。两家公司的代表在密苏里州圣路易斯和马萨诸塞州安多弗实验室定期会面并交流有关MAM 开发的更多信息。在这些会议上,辉瑞提供了有关该方法开展和实施的最新信息,同时提出了他们在数据分析中遇到的困难。辉瑞团队成员 Jason Rouse 说:"这些会议的最重要意义之一是 Thermo Fisher Scientific 即时更新软件,便于最终用户轻松使用其方法。"

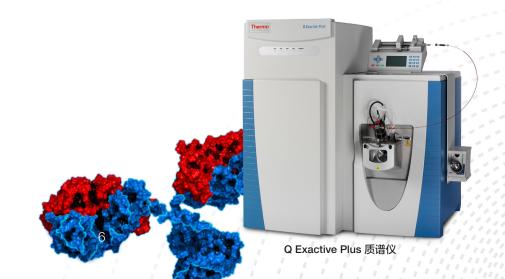
Carly Daniels 解释说: "Thermo Fisher 的 单一供应商 MAM 解决方案非常有用,它可以无缝集成硬件、软件以及最终的数据读取。Thermo Fisher 率先推出了"MAM 工作流程软件包",它是一款 LC-MS 系统与 MAM 软件的组合。通过使用此硬件 - 软件组合,能够实现各种用于表征和监测的 Thermo Scientific 软件包之间的通信连接,轻松实现同一 Thermo Scientific 仪器系列中不同型号 LC-MS 系统之间的方法转换,有助于从表征组到常规监测组的无缝过渡。"

Orbitrap 的高分辨准确质量数(HRAM)功能对于 MAM 而 言极为有用,无需使用 MS/MS 即可极为可靠地执行监测 步骤中的多肽鉴定。

MAM 中的每个肽图都是一个非常复杂的数据集,含有覆盖 m/z 谱图的成于上万个信号。能够准确分辨感兴趣的目

标物并同时兼得亚-5 ppm 质量精度的能力,极大地提高了辉瑞团队对 MAM 方法耐用性的信心。一个常见典型示例是能够分离未修饰/脱酰胺肽段 M+1/M+2 等同位素峰的能力,因为这些同位素之间的质量数差异非常小。

为了协调仪器和软件之间的兼容性, 辉瑞团队选择 Thermo Scientific[™] Vanguish[™] UHPLC 系统作为其 MAM LC-MS 平台中的前端 UHPLC。尽管他们以前没有使用 Vanguish LC 的经验, 但 Thermo Fisher 团队提供的支持和帮助 有助于他们克服使用新硬件和软件最初面临的困难,熟 悉 Vanquish UHPLC 操作和维护,并在最短的时间内独 立开展工作。与 常规 HPLC 系统相比, 其运行时间可 缩短 50% 或更多。他们特别选择了 Thermo Scientific™ Vanguish™ Duo UHPLC 系统来实现最大 MAM 通量。清洗 一根分析柱的同时, 使用另一根分析柱采集数据可提高分 析效率,因为这样可以使 MAM 操作扩展到仪器可以连续 运行的程度。Vanquish Duo UHPLC 系统的色谱峰容量优 于标准 HPLC 系统,进一步提高了分析效率。为了保持这 种性能并最大程度地提高辉瑞 MAM 平台之间的协调性, 在选择和调谐这些系统的所有管路时需格外小心。MAM 团队还发现,其在运行 Vanguish Duo 系统时,在协调分析 柱批次方面具有巨大优势,因其可将色谱柱之间的重复保 留时间差异维持在 6-12 秒以内。经证实, Vanguish Duo UHPLC 确实是辉瑞 MAM 工作流程中的关键设施,并且 MAM 团队对他们的此项选择非常满意。Thomas Powers 解释说: "Vanguish UHPLC 系统提供了前所未有的保留 时间一致性和重现性。这大大有助于轻松实施 MAM。"



BioPharma Finder 软件提供了有效表征、量化和构建 PQA 库的功能,以开展 MAM 监测。Chromeleon CDS 提供了一种常规监测这些属性的方法,无需用户成为质谱专家即可操作。该团队开发了用于 MAM 检测的 Chromeleon CDS 工作流程,便于操作 LC-MS 系统,跟踪系统适用性元数据,自动处理 LC-MS 数据并报告数据中的定量结果。

"在我们整个 MAM 工作流程的纵向检测中,经证实,我们能够在 18 个月的时间内,在多个分析人员 / 消化步骤 / 仪器和实验室中获得针对内部 mAb 标准品的各种 PQA 的一致定量结果,无需修改 Chromeleon CDS 中的工艺方法",一直致力于工作流程软件开发的 Andrew Dawdy 说。然后,他补充说:"Thermo Scientific 的 MAM 软件功能在过去几年中有了长足的发展,这主要是因为他们愿意接受直接反馈并不断进行改进。"

Thomas Powers 解释说: "Thermo Scientific 为 MAM 提供了一个从数据采集到自动报告的全面数据解决方案。Chromeleon CDS 是用于 MAM 的主要软件,而 Chromeleon 软件与 BioPharma Finder 可以很好地进行对接以创建工作簿。此外,Chromeleon 软件提供了多项高级功能,可确保成功实现 MAM,包括记录与实验相关的所有元数据、查询特定数据文件、绘制修饰图、在分析之前确保系统适用性以及显示与报告方法相关的所有提取离子色谱图。此外,未来 eWorkflow™ 程序的实施

将把 MAM 推广给非 MS 专家成为可能,这是 MAM 的关键,也是实现其全部潜力的关键。虽然我们只是刚刚接触到将 Chromeleon CDS 用于 MAM 检测,但毫无疑问,Chromeleon 软件将有助于辉瑞成功实施 MAM。"

作为从硬件到软件、耗材、培训、服务和技术支持均达 到标准化、商业化的水准 MAM 工作流程,上述特质使得 MAM 能够被无缝集成到辉瑞的工作线中。硬件和软件的通 讯连接,以及熟悉 MAM 工作流程的工程师提供的专家支 持,都可以快速回答您的问题,并在问题出现时更快地解 决问题。

MAM 如何帮助辉瑞进行实际应用的示例

在最近的网络研讨会(Understanding Biotherapeutic Product Quality Attributes through a Multi-Attribute Method (MAM) Lab-of-the-Future, 可按需点播)2-3中, Andrew Dawdy展示了其MAM工作流程的应用示例。

MAM 在辉瑞正在开展的项目中作为非 GMP 分析进行试点,以评估工作流程,将其数据与传统分析数据进行对比并加强对 PQA 的认识。通过 MAM 检测来自三个不同生物反应器样品的 N- 糖型定量与释放的 2-AB 标记 N- 糖链检测结果进行对比。如图 3 所示,MAM 结果(蓝色)与主要、次要和痕量糖型的传统检测数据(黑色 / 灰色)相匹配。

3 个生物反应器样品的分析结果:传统 N-糖型分析(2-AB)与 MAM 分析

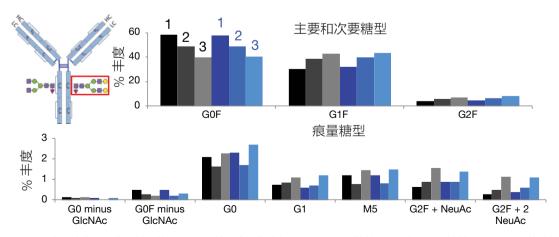


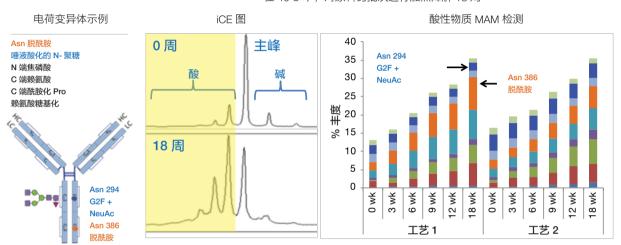
图 3. 对 3 种生物反应器样品的 MAM N- 糖型定量与常规 PNGaseF 释放的 2-AB 标记 N- 糖链 HILIC-FLR 的分析结果进行对比。MAM 结果(蓝色条)与主要、次要糖型以及痕量糖型的 2-AB 标记 N- 聚糖测定结果(黑色 / 灰色条)完美匹配。

在强制降解研究中,某 mAb 样品在 40℃ 下进行强制降解 18 周。随后使用成像毛细管电泳(imaged capillary electrophoresis, iCE)与 MAM 分别进行电荷变异体分析,结果证实这两种技术之间具有出色的一致性。但是,iCE 数据仅提供全局信息,不提供关于属性鉴定或修饰位点的详细信息。相比之下,MAM 提供每个酸性 PQA 的鉴定和位点特异性信息,便于人们了解它们对降解的影响。在图4 中的 MAM 数据显示了这一点。除位点特异性外,MAM 功能通常还提供更全面的信息。例如,传统蛋氨酸氧化测

定通常仅能以 Fc 区域中的一个特定位点为目标,而 MAM 可通过一次检测定量多个氧化位点和氧化类型。

在同一样品的加热降解研究中,MAM 被用于确定制剂对非酶切导致的赖氨酸糖基化的影响,测定了包括位点特异性信息的赖氨酸糖基化水平,并对含蔗糖的制剂和含海藻糖的制剂进行了比较。图 5 中的曲线表明,含蔗糖制剂中的原料药具有较高的赖氨酸糖基化风险,并可以轻松确定赖氨酸糖基化热点的位置。

使用 iCE 和 MAM 法观察到的酸峰的增加关联良好。MAM 为每个酸性变异体相关 PQA 的识别和位点特异性检测提供了更多优势。



在 40℃ 下,对原料药批次进行加热降解 18 周

图 4. 基于 MAM 识别并定位电荷变异体。与传统分析方法(例如 iCE 和 CEX)相比, MAM 可以特异性地识别并定量各个电荷变异体,从而增强了对电荷变异体的认识。MAM 提供的信息可以转换为百分比值,用于表示其在完整 mAb(两条轻链,两条重链)中可能存在的比例,如果需要总值(例如总唾液酸化、总糖基化等),也可以求和。

MAM 在制剂研究中揭示了赖氨酸糖基化风险的位点和程度

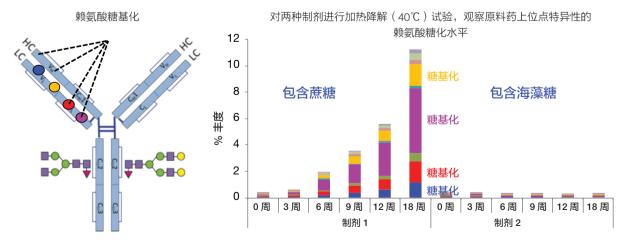


图 5. 通过 MAM 确定制剂对非酶切导致的赖氨酸糖基化的影响。MAM 结果显示,制剂 1 中的原料药赖氨酸糖基化的风险要高得多。

在同一降解试验的非靶标差异分析中,检测到一个未知峰,该峰随降解逐渐增加。通过对整个工作流程进行回溯以对该未知组分进行深入表征,可识别该未知组分为水解产生的 Fc 区域内的 D/P 剪切片段。然后将其添加到 PQA 库中进行监测。通过对多批原料药进行监测发现,通过 MAM检测到的 D/P 剪切片段与通过还原性毛细管凝胶电泳检测到的剪切片段丰度关联良好。

MAM 的行业广泛应用前景和进一步要求

随着新技术的发展,辉瑞团队将持续构建其平台开发工艺。他们希望在提高工艺效率的需求与确保新仪器和/或新方法与常规方法具有相同的耐用性、精密度和准确度之间取得平衡,,从而确保获得高品质生物制药产品。随着法规要求的不断演化,技术持续优化变得至关重要。增强对产品的认识不仅需要更好地了解其属性,还需要有关其定量水平的信息。即便使用当今先进技术,生物治疗产品的异质性也使收集这些信息成为一种挑战。

为了使 MAM 在生物治疗药物开发和 QC 实验室中均获得成功,LC-MS 系统需要更易于操作、校正和维护、耐用性更强、仪器之间的差异更小,用户界面更友好。完成自动化或提高自动化同样也是客户所需要的,在将来理想的状态是能够实现无需大量用户干预即可进行 LC-MS 数据处理。

尽管由于仪器和数据解析的复杂性,当今质谱仪可能需要专业技术人员,但目标仍然是通过开发更直观的软件和防故障操作,使一般分析人员即可轻松使用其工作流程。对QC 实验室来说尤其如此,因为操作或数据分析过程中出现的问题可能导致执行更多检测或出现假阳性结果,从而导致批处理失败或产品放行延迟。配置备用仪器并不始终

具有成本效益,尤其考虑到使生物治疗产品广泛应用于全球这一目标时。同时还应当考虑实验室工作台空间,缩小仪器占地面积以及降低这些仪器的成本和复杂性,这些对于质量控制实验室广泛实施 MAM 来说势在必行。MAM 的完全自动化也被视为有意义的考虑因素,因为自动化将减少人为因素带来的可变性,缩短制备样品或设置实验所需的手动操作时间。

在辉瑞,MAM 具有最直接的潜力来取代用于产品鉴定的 肽图分析、N- 糖链分析、蛋白质裂解谱图分析 / 监测和电 荷变异体分析(用于 mAb)。对于基因治疗或更复杂的生 物治疗产品来说,MAM 有潜力作为对关键 PTMs 进行位 点特异性监测的常规检测方法。

总结

- 辉瑞公司与 Thermo Fisher Scientific 通过合作已成功开发强大的多站点"未来实验室",通过实施 MAM 促进生物治疗药物的发展
- MAM 能够通过一次检测直接测量多个 PQAs,以更高的效率提高对产品的认识
- 辉瑞公司目前正在实施 MAM 开发项目,支持对 PQA 进行非 GMP 监测,并对其 MAM 工作流程进行"实际 工作环境"评估,以便进行后期开发
- 迄今为止, MAM 数据与传统检测方法的结果非常吻合, 对于一些处于开发阶段的项目, MAM 实时或通过对当 前和以前的数据集进行回顾性分析,获得了特定 PQA 的关键信息,可帮助解决关键结构功能研究中存在的 问题
- 辉瑞计划在圆满完成方法验证以及必要的合规性和风险评估后的 3-5 年内,在 QC 实验室实施 MAM

来自辉瑞团队的 Jason Rouse 说: "这些会议的最重要意义之一是 Thermo Fisher Scientific 即时更新软件,便于最终用户轻松使用其方法。"

- Jason Rouse

质谱分析可提供有关产品质量的完整信息,并为项目提供 关键性决策,对辉瑞公司内部生物治疗产品开发的影响越 来越大。这被认为是基于质谱的序列变异体分析、宿主细 胞蛋白质分析、在线电荷变异体分析、三硫化物分析和降 解热点表征不断发展的结果。辉瑞是一家非常有前瞻性的 公司,他们已经认识到质谱仪在这些领域的强大功能,并 热切支持在生物治疗产品开发的所有阶段广泛部署 MAM 检测。他们觉得他们有机会通过以前所未有的常规方式获 得对工艺和产品的高效、全面认识,激发并积极参与整个 行业的范式转变。这对于制药行业和致力于开发更高质量 药物的分析科学家来说都是一件令人兴奋的事情。所有这 些工作都符合监管机构和行业倡导的"质量源于设计"的 原则,目的是从开发的最早阶段构建更好的产品和工艺知 识,并在整个生产过程中始终保持这一指导原则。

目前,辉瑞团队希望在 2025 年之前将其 MAM 方法转移 到 QC 实验室并开始实施,但是为了尽快在 QC 实现这一目标,到时必须确保 MAM 已经在非 GMP 开发线(工艺支持和稳定性)中建立。

编者注

我们由衷感谢辉瑞 MAM 团队及各个项目团队做出的宝贵贡献、有意义的讨论以及对此项工作的严格审阅。此外,我们感谢辉瑞生物治疗药物科学组织的慷慨支持。

辉瑞公司 MAM 小组科学家团队

Jason C. Rouse—质谱和生物物理表征总监(MSBC)

Jason 于 1993 年获得密歇根州立大学分析化学专业博士学位,然后加入遗传学研究所(GI)担任博士后研究员。多年来,Jason 先后在 GI、惠氏和辉瑞担任重要职务,目前担任 MSBC 集团的董事。Jason 的科研兴趣包括通过在线和离线 质谱技术解析 N- 和 O- 糖链,通过超高分辨率质谱方法自上而下表征完整的糖蛋白治疗产品。此外,Jason 还是 CASSS 年度"质谱"会议的活动策划委员会成员。

Andrew Dawdy—首席科学家

Andrew 于 2013 年获得弗吉尼亚大学化学专业博士学位,从事蛋白质 质谱 研究。Andrew 在过去的七年中一直从事药物开发工作,其中最近五年在密苏里州辉瑞 St. Louis 工厂从事生物治疗产品开发工作。Andrew 作为 MSBC 实验室的首席科学家,致力于支持多类药物的开发工作,包括 mAb、ADC、融合蛋白和重组蛋白。Andrew 领导辉瑞在线 CEX-MS 和 MAM 的开发和实施,分别在 ASMS 2018 和 2019 上进行了汇报,并主持了有关该主题的晚间研讨会。

Carly N. Daniels—首席科学家兼小组负责人

Carly 于 2015 年加入辉瑞,领导分析研究与开发部的 Project Progression Line 小组,是该小组的首席科学家兼小组负责人。她获得了佛罗里达大学生物化学专业理学学士学位,以及加利福尼亚大学洛杉矶分校生物化学和分子生物学博士学位。加入辉瑞之前,她曾在美国食品药品监督管理局从事博士后研究。在辉瑞任职期间,她致力于各种生物治疗产品的分析方法开发,主要包括聚糖谱分析、肽谱分析和 LC-MS 技术。现任 MAM 联盟的董事会成员。

Keith A. Johnson—高级首席科学家兼小组负责人

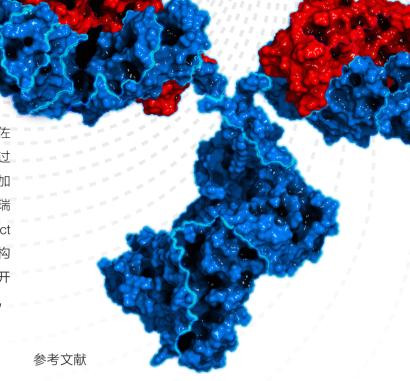
Keith 获得科罗拉多大学化学专业理学学士学位,以及佐治亚大学分析化学专业博士学位。攻读博士期间,他通过质谱技术对非共价蛋白质复合物进行了研究。2001 年加入惠氏分析研究与开发小组。现在辉瑞公司任职。在辉瑞任职期间,他隶属质谱和生物物理表征小组以及 Project Progression Line 小组,从事有关蛋白质生物治疗产品结构表征和分析方法开发的研究,支持辉瑞生物治疗产品的开发。Keith 的其他供职包括领导分析小组技术与创新团队,领导产品开发团队。

Thomas W. Powers—首席科学家

Thomas 获得南卡罗来纳州医科大学生物医学科学专业博士学位,期间开发了 N-糖链的质谱成像方法,并将该方法及其他表征方法应用于生物标记物的发现。获得博士学位后,Thomas 加入辉瑞 St. Louis 分析研究与开发小组,过去五年来一直在那里工作。Thomas 就职于 MSBC 实验室,在处理 mAb、ADC、重组蛋白和基因治疗产品等各类治疗药物方面拥有丰富的经验。

Kristin J. Boggio—首席科学家

Kristin 于 2012 年获得布兰代斯大学物理化学专业博士学位,开发了生物分子的质谱分析方法。Kristin 获得博士学位后,利用 TMT 试剂和自下而上的质谱技术完成了神经科学领域的博士后研究,对 ALS 细胞模型中的差异进行了定量。Kristin 于 2015 年加入辉瑞质谱和生物物理表征小组,致力于开发质谱分析方法,表征辉瑞多样化的生物治疗产品,包括疫苗和融合蛋白。目前,她是波士顿质谱讨论组(GBMSDG)的董事会成员。



- Development of a quantitative mass spectrometry multi-attribute method for characterization, quality control testing and disposition of biologics. Richard S Rogers, Nancy S Nightlinger, Brittney Livingston, Phil Campbell, Robert Bailey & Alain Balland, mAbs 7:5, 881--890; September/October 2015; © 2015 Amgen Inc. [Online] https://www. tandfonline.com/doi/full/10.1080/19420862.2015.1069454 (accessed July 27, 2020).
- Understanding Biotherapeutic Product Quality Attributes through a Multi-Attribute Method (MAM) Lab-of-the-Future. [Online] https://event. on24.com/wcc/r/2058775/ 73D72321DAA24A6131F114C0FA902859
 ?partnerref=THERMO (accessed July 27, 2020).
- Advances in Biopharmaceutical Characterization eBook Series [Online] https:// www.thermofisher.com/us/en/home/global/forms/industrial/ biopharmaceutical- characterization-ebook-series.html (accessed July 27, 2020).
- 4. Seminal 2018 industry publication (Rogers et al. AAPS Journal, 20:7, 1). A View on the Importance of 'Multi-Attribute Method' for Measuring Purity of Biopharmaceuticals and Improving Overall Control Strategy.

更多信息请访问 www.pfizer.com

Twitter @Pfizer and @Pfizer_News twitter.com/pfizer

LinkedIn linkedin.com/company/pfizer/

YouTube youtube.com/user/PfizerNews/featured

Facebook at Facebook.com/Pfizer

