

安捷伦案例研究

访谈：评估寡核苷酸的创新鉴定分析策略

请介绍一下您的公司。

Vetter 是一家家族所有的合同开发和制造组织 (CDMO)，总部位于德国拉芬斯堡，在德国、奥地利和美国设有生产基地。目前，公司在全球拥有超过 5700 名员工，专门生产各种形式的无菌注射用品（注射器、卡式瓶、西林瓶和双腔系统）。核心服务包括注射药物的临床和商业生产、二次包装和器械组装。

Vetter 在通过分析服务支持生物技术和制药客户的生产流程方面拥有丰富的经验，例如来料、中间产物和灌装药品的质量控制 (QC) 测试，稳定性研究以及开发分析。

如需了解有关 Vetter 的更多信息，请访问 vetter-pharma.com。

您实验室的工作内容有哪些？

Vetter 开发服务 (VDS) 部的分析科学实验室 (ASL) 专门根据 cGMP 要求从事开发和过程表征分析。VDS 支持客户产品的开发，尤其是生产或包装工艺。

ASL 为生产和灌装工艺的开发和实施提供分析支持，例如，在开发冻干研究中测量残留水分，在开发混合或泵送研究中测定蛋白质浓度和稳定性，或通过我们的 ASL “H₂O₂ 测定卓越中心” 支持洁净室的消毒工艺开发。



Alexandra Heussner 博士

德国拉芬斯堡 Vetter Pharma-Fertigung GmbH & Co. KG,
开发服务部,
分析科学实验室 (ASL),
实验室经理



Melanie Zerulla-Wernitz 博士

德国拉芬斯堡 Vetter Pharma-Fertigung GmbH & Co. KG,
开发服务部,
分析科学实验室 (ASL) 主管

Vetter 是肠外药物（包括眼用产品）灌装领域的专家；因此，我们实验室的大部分业务集中在 ASL “颗粒物卓越中心” 的不可见颗粒物分析。

此外，我们支持通过可行性研究和实验室资格或程序验证，将客户的分析方法转移到 Vetter 和 Vetter 内部。

最终，我们支持在公司范围内实施新的分析程序和技术，对分析系统进行持续的现代化和升级，并为新产品提供前沿技术。

请介绍您遇到的一些挑战。

寡核苷酸是一类新型生物药物，在方面没有成熟的前沿分析技术产品备案审批策略。作为 CDMO，Vetter 需要灵活的分析解决方案，以满足大量客户的各种产品需求。我们必须针对客户未来的开发和商业化生产需求预测最可能的系统或程序选择，以便提供必要的分析数据，确保患者安全，并能够以适当的时间和精力满足法规要求。

另一个挑战在于，分析系统或程序的创新或系统升级在 cGMP 环境中面临着严格的法规要求，而且技术上往往较为复杂。我们需要一种包括分析技术专家、质量保证专家和 IT 专业人员的综合方法。寻找一种既能满足数据可靠性要求，又能在不损失必要功能的情况下方便地使用分析系统的解决方案尤其具有挑战性。我们努力尽早考虑客户和 Vetter 的未来需求，尤其是在合规方面。

Agilent Cary 3500 紫外-可见分光光度计如何帮助您克服这些挑战？

我们目前的一个项目旨在优化寡核苷酸类药物的分析。例如，HPLC 或 UPLC 程序等标准身份 (ID) 确认测试通常无法确认此类产品的身份。

分析人员倾向于结合使用解链温度 (T_m) 以及完整质量数测量，结合序列和质量数以实现明确鉴定。我们对不同的分析技术进行了深入研究，这种基于 T_m 的策略在专家会议上经过了讨论，并得到了许多寡核苷酸开发和生产制药公司的支持。

对于这种方法，Cary 3500 UV-Vis 提供了前沿技术。温度可通过集成式帕尔帖元件准确设置，并通过比色皿内探头进行控制。可容纳四对比色皿的多区控温仪器设计提供了多达 4 个不同的温区，允许平行测量样品和参比。

为什么使用 UV-Vis 进行寡核苷酸鉴定测试？

任何药品生产过程的首要目标是确保每一单位产品都含有正确数量和质量的指定药品。这是通过高质量的生产过程和 QC 测试实现的。

目前 ID 测试中的 QC 实践涉及高度复杂的技术，例如通过 MS/MS 测序或失败序列分析从头确认序列。特别是对于单链寡核苷酸，可以将完整质量数测量与另一种序列敏感技术相结合，例如 MS-碎裂模式、T_m 或 NMR 分析，并与得到充分表征的参比标样进行比较。对于双链寡核苷酸，如果在退火前还测量了单个单链的完整质量数，ID 测试甚至可以简化为完整质量数测量和确认形成的双链^[1]。

虽然还有其他可能性，但我们相信，结合 T_m 和质量数测量将是未来 QC ID 测试的标准分析策略。无论是从科学角度，还是从法规和业务角度来看，这都是合理的；在 QC 实验室中实施基于 UV 的 T_m 系统和程序相对容易，并且使用维护成本较低。与 MS/MS 测序或 NMR 等其他方法相比，这种方法更简单，而且往往有熟练的工作人员可以迅速完成新仪器和程序的培训，无需聘请训练有素的专家。

这些仪器还可以执行标准 UV-Vis 方法，因此它们可以集成到现有的仪器组合中，从一开始便实现较高的产能利用率。在 Vetter，我们已经在 ASL 以及 QC 实验室中成功实施了这种方法。

您是如何使用 Cary 3500 紫外-可见分光光度计进行寡核苷酸鉴定测试的？

为深入了解仪器和 Tm 应用程序，我们进行了几项研究。使用不同的参数设置对仪器性能进行研究，结果表明仪器性能非常稳定。我们与一些专家围绕这项研究进行了讨论，并在最近的白皮书中对此进行了详细介绍^[2-4]。

在另一项旨在确定 ID 测试中 Tm 测量灵敏度的研究中，我们考察了该程序对各种寡核苷酸序列的特异性。我们对模型寡核苷酸序列和变体进行了设计、合成与分析；发现即使是单碱基交换或单核苷酸缺失或插入，也会导致寡核苷酸双链的实测 Tm 发生显著变化。该方法对寡核苷酸序列的细微变化普遍具有高特异性，证明其适用于药物 QC 环境中的寡核苷酸 ID 测试。该程序的稳定性和灵敏度足以满足公司内部以及 Vetter 客户和监管机构的要求^[5]。

这些和其他正在进行的研究强化了 Vetter 在寡核苷酸和特殊分析领域的专业技能。

测量需要多长时间？是否难以实现？

根据所选择的参数，在 GMP 环境中对一个样品进行一次分析可能需要不到一个小时。升温速率会显著影响所需的时间。我们的理想选择包括 10 °C/min 的升温速率，这样可以实现 10 分钟测量。

Cary 3500 紫外-可见分光光度计系统本身非常简便易用。任何熟练的实验室技术人员或研究人员都可以在短期培训后使用该系统 and 程序。

请描述您与安捷伦的合作体验。

在 ASL 和 QC 考虑用于 Tm 分析的仪器时，我们选择了安捷伦，并成为 Cary 3500 紫外-可见分光光度计的首批用户之一。据我们所知，我们也是遵守 FDA 21 CFR Part 11 法规认证指南要求的受监管环境的首批软件用户。

在与安捷伦的长期合作中，我们体验良好。我们在 QC 中运行各种安捷伦仪器，包括安捷伦 HPLC 系统，并在 ASL 中使用 Agilent 7800 ICP-MS。安捷伦一直是可靠、专业的合作伙伴，为我们提供服务和解答疑问；即使面对复杂的问题，安捷伦技术人员也能在短时间内提供全面的支持。

您认为这项技术的前景如何？

随着新的机会出现，我们将继续研究这种 ID 测试的性能。我们的目标是建立和验证基于现有知识的分析平台程序，从而快速实施 ID 测量，特别是对于新产品或缺乏合适的方法转移分析程序的客户。

这一目标包括对我们的仪器进行系统升级，从而进一步提高数据分析的精度。在 2019 年底该系统进入市场后，我们立即对其进行了实施和确认，目前我们仍然运行第一版软件，因为它具有遵循 21 CFR Part 11 的受监管环境所需的功能。现在，更新后的软件为数据分析提供了新的内置计算功能，例如平滑函数和增强的导数功能。可以将它们保存在方法中，并在数据采集结束时自动应用。我们目前正在与安捷伦合作，评估如何在系统层面而不是在产品特定的程序验证中对这些功能进行确认。

作者简介

Alexandra Heussner 博士是德国拉芬斯堡 Vetter 公司开发服务部一名杰出的跨学科科学家和实验室经理。Heussner 博士为我们理解天然毒素和药物的毒理学做出了贡献，并通过整合生物科学、信息技术和统计学，支持方法的开发和实施。她在英国桑德兰大学获得应用科学博士学位，并在从事多年的学术研究后，于 2016 年加入 Vetter。她目前在分析科学实验室与她的团队一起负责分析程序的实施、开发和验证。她是肠外药物协会 (PDA) 的成员。

Melanie Zerulla-Wernitz 博士是分析科学实验室的负责人，她带领着一个结合自然科学和应用科学的多样化科学家团队。她拥有德国康斯坦茨大学自然科学博士学位。Zerulla-Wernitz 博士在从事多年的临床前开发工作后，于 2004 年加入 Vetter。她的职业生涯之初在质量控制部工作，后来晋升到开发服务部。她在芝加哥的 Vetter 开发服务部工作了一年，然后继续带领分析科学实验室，致力于扩展其服务和分析产品组合。

参考文献

1. Capaldi, D. et al. Strategies for Identity Testing of Therapeutic Oligonucleotide Drug Substances and Drug Products. *Nucleic Acid Therapeutics* **2020**, 30(5), 249–264. doi: 10.1089/nat.2020.0878
2. Schuler, S. et al. Challenging Oligonucleotide ID Testing. *8th Annual Oligo Networking Event*, 23–25 Mar **2021**
3. Schuler, S. et al. Emerging Therapeutic Oligonucleotides – ID Testing. *PDA UPS Conference*, 05–06 Oct **2021**
4. Heussner A. H. Emerging Therapeutic Oligonucleotides – Analytical Challenges Accepted. *PDA UPS Conference* 05–06 Oct **2021**
5. Heussner, A. H. et al. Investigating Tm Method Specificity Using Oligonucleotide Sequence Variants. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology* **2022**, (submitted)

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com/chem/cary3500uv-vis

RA44813.3348032407

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2022
2022 年 9 月 30 日, 中国出版
5994-5144ZHCN