

单克隆抗体药物中宿主细胞蛋白残留检测方法比较研究

杜海菁

苏州智核生物医药科技有限公司 江苏 苏州 215000

【摘要】：单克隆抗体药物在治疗领域中取得了显著进展，然而宿主细胞蛋白残留的检测仍是其质量控制中的一项挑战。宿主细胞蛋白的残留不仅影响药物的纯度和安全性，还可能对治疗效果产生不利影响。因此，开发高效、灵敏的检测方法对确保药物质量至关重要。本文对目前常用的宿主细胞蛋白残留检测方法进行比较研究，包括免疫学法、色谱法、质谱法等技术的原理、优缺点和应用场景。通过分析各种方法的灵敏度、准确性、操作便捷性等方面的差异，为未来的药物质量控制提供指导意见。研究结果表明，综合多种方法的优势，有望克服单一检测手段的局限性，提升单克隆抗体药物的质量标准。

【关键词】：单克隆抗体；宿主细胞蛋白；残留检测；检测方法；质量控制

DOI:10.12417/2705-098X.26.06.008

引言

单克隆抗体药物的开发与应用已成为生物制药领域的重要发展方向。尽管在疗效方面取得了显著突破，但药物的纯度和安全性仍然是亟待解决的问题之一。宿主细胞蛋白残留是生产过程中不可避免的副产物，其对药物质量的影响不容忽视。检测宿主细胞蛋白的残留不仅是保证药物安全性的重要环节，也是药物质量控制体系中的关键一环。现有的检测方法各有优缺点，选择合适的检测手段对于提高药物生产效率、保障药品安全具有重要意义。因此，如何在众多检测方法中筛选出最适合的技术，成为当前研究的重要课题。

1 宿主细胞蛋白残留对单克隆抗体药物质量的影响

宿主细胞蛋白残留在单克隆抗体药物生产过程中不可避免地出现，这些蛋白质残留物是由宿主细胞在表达过程中产生的副产物。尽管大部分宿主细胞蛋白在生产过程中可以通过纯化工艺去除，但由于其极其微小的残留量，仍可能对药物的质量产生显著影响。残留的宿主细胞蛋白不仅可能干扰药物的纯度，还可能影响药物的生物活性和疗效，甚至引发免疫反应，从而影响患者的治疗效果和安全性。具体来说，宿主细胞蛋白残留可能导致药物制剂的免疫原性增加。抗体药物在体内的免疫反应可能由这些蛋白质残留物引发，导致患者产生针对药物的抗体反应，降低药物疗效，甚至引发过敏反应^[1]。宿主细胞蛋白本身可能包含多种内源性抗原成分，这些成分在药物注射后可能成为免疫系统的靶标，产生不良反应。因此，宿主细胞蛋白的残留量直接关系到单克隆抗体药物的安全性，尤其是在长期使用中，这种风险更加明显。

宿主细胞蛋白的残留也可能干扰药物的纯化过程，降低生产效率。即使经过多次纯化步骤，若残留的宿主细胞蛋白量过高，仍可能对最终产品的质量产生影响，导致药物的杂质含量超标，进而影响药品的稳定性和有效期。药品在存储过程中，宿主细胞蛋白的存在可能导致药物降解，影响其稳定性，从而降低药物的使用寿命和疗效。确保宿主细胞蛋白的残留量处于安全水平，是保证单克隆抗体药物质量的一个关键环节。随着

生物制药技术的不断发展，对于宿主细胞蛋白残留的检测方法也日益重要，精确、灵敏的检测手段对于控制药物的纯度和安全性起着至关重要的作用。

2 常用宿主细胞蛋白残留检测方法概述

宿主细胞蛋白残留检测方法在单克隆抗体药物的质量控制中具有重要地位。随着生物制药产业的快速发展，越来越多的检测方法被提出和应用，以确保药物的安全性和有效性。免疫学法、色谱法和质谱法是目前常用的三大检测手段，各自具有不同的特点和适用范围。免疫学方法，特别是酶联免疫吸附试验（ELISA），由于其操作简便、成本较低，广泛应用于宿主细胞蛋白残留的检测。通过使用特异性抗体与目标蛋白结合，该方法能够有效识别并定量宿主细胞蛋白。ELISA 能够提供较高的灵敏度，适用于大规模筛查，但在检测复杂样本时，可能受到其他杂质的干扰，导致假阳性或假阴性的结果。虽然 ELISA 具有广泛的应用基础，但其特异性和灵敏度的限制要求在某些情况下与其他方法结合使用。

色谱法，尤其是液相色谱（HPLC）和亲和色谱，广泛应用于蛋白质分离和分析。液相色谱法可以通过分离宿主细胞蛋白和目标单克隆抗体，达到定量分析的目的。HPLC 具有较高的分离能力，可以在复杂的样本中高效分离出目标蛋白，从而提高检测的准确性。亲和色谱法则利用与目标蛋白特异性结合的亲和配体进行分离，进一步提高了检测的选择性。尽管色谱法能够提供较高的准确性和可靠性，但操作复杂性较高，且需要较长的分析时间，因此在实际应用中更多用于定量分析和复杂样本的研究。

质谱法（MS）作为近年来发展迅速的高精度检测技术，在宿主细胞蛋白残留的分析中也取得了广泛应用^[2]。质谱法能够精确测定样本中蛋白质的分子质量和结构，具有极高的灵敏度和分辨率，能够识别低丰度的宿主细胞蛋白。通过质谱分析，能够快速获得样品中蛋白的定性和定量信息，且对复杂样本中的干扰因素具有较强的抗干扰能力。然而，质谱法的设备要求较高，操作过程也较为复杂，且价格较为昂贵，因此在日常

的质量控制中应用受到一定限制，更多应用于研发阶段或高端分析。除了上述几种常用方法，近年来也有新兴的检测手段不断涌现，如基于核酸探针的检测技术、表面等离子共振技术等。它们在灵敏度、特异性和检测速度上不断取得突破，为宿主细胞蛋白残留的检测提供了更多选择。这些新兴技术尚处于研究和应用的初期阶段，仍需更多地验证和优化，以便在实际生产过程中得到广泛应用。

3 免疫学法与色谱法在残留检测中的应用比较

免疫学法与色谱法在宿主细胞蛋白残留检测中的应用各具优势，二者在灵敏度、特异性、操作难易度和适用场景上存在显著差异。免疫学法，尤其是酶联免疫吸附试验（ELISA），凭借其较低的成本和简便的操作流程，广泛应用于常规检测中。这种方法通过特异性抗体与目标蛋白结合，能够快速而有效地检测出宿主细胞蛋白残留。由于其高度的特异性，ELISA在检测某一特定宿主细胞蛋白时表现出色，能够实现较低浓度的蛋白定量分析。在单克隆抗体的质量控制中，ELISA尤其适用于筛查大规模样品或进行初步检测，其高通量特点使其能够在短时间内完成大量样品的检测。

免疫学法也存在一些局限性，尤其是在复杂样品中。由于样品中可能包含多个与宿主细胞蛋白相似的杂质，可能会影响免疫反应的准确性，从而导致假阳性或假阴性结果。对于多种宿主细胞蛋白的检测，ELISA的灵敏度可能不够高，特别是在浓度极低时，其检测能力受到一定限制^[1]。免疫学法虽然在定性和半定量分析中具有优势，但在面对复杂样本时，其应用范围受到了一定制约。

色谱法，如液相色谱（HPLC）和亲和色谱，常用于更加精细和复杂的分析。液相色谱通过分离样本中的各类蛋白质，可以精确地对宿主细胞蛋白残留进行定量检测。其优势在于分离效果优良，能够在复杂的蛋白质混合物中有效分离出目标蛋白，避免了免疫学法可能产生的交叉反应。HPLC特别适用于高纯度药物的检测，其通过检测蛋白的保留时间和峰面积来分析蛋白质的浓度。亲和色谱法则通过使用特异性配体对宿主细胞蛋白进行捕获，进一步增强了选择性和特异性。该方法能在保持高分辨率的同时，去除样品中的其他干扰物质，从而提高检测的准确性。

尽管色谱法在分离和定量分析上具有较强优势，但其操作相对复杂，需要专业设备和技术支持，且分析时间较长。相比之下，免疫学法操作简单、耗时短，因此在常规质量控制中仍占据主导地位。免疫学法适用于对特定宿主细胞蛋白的快速检测，而色谱法则更加适合于复杂样本的深入分析和多种蛋白质的同时检测。二者各有优势，常常结合使用，以弥补单一方法的不足，确保检测结果的准确性与可靠性。

4 质谱法的优势与局限性分析

质谱法在宿主细胞蛋白残留检测中展现了显著的优势，尤其在分析复杂样本时，能够提供高度灵敏和精确的检测结果。质谱技术通过测定蛋白质的分子质量和结构特征，能够对样品中的每种蛋白质进行定性与定量分析。其最主要的优点在于对低丰度蛋白的检测能力，远超过传统的免疫学法和色谱法。宿主细胞蛋白残留的浓度往往较低，质谱能够在复杂的背景中有效识别和分析微量的残留蛋白，极大提高了检测的灵敏度和准确性。

质谱法能够同时分析多种蛋白质，具有较高的分辨率和通量。这使得它在单克隆抗体药物的质量控制中，不仅能精确检测单一宿主细胞蛋白的残留，还能够分析复杂蛋白质混合物中的成分^[4]。在药物生产过程中，宿主细胞蛋白种类繁多，质谱法能够同时识别多个蛋白残留，大大提高了检测效率，并能够更全面地评估药物的纯度。尽管质谱法具有显著的优势，但其局限性也不容忽视。质谱仪器的高昂成本和对操作人员技术要求的高度专业化，使得质谱法在日常生产中的普及受到一定限制。质谱分析需要高端的设备支持，同时也要求操作人员具备较高的技术水平，这无疑增加了检测的复杂性和经济负担。样品的准备和前处理过程中，可能会出现蛋白质降解或样品损失的问题，从而影响检测结果的准确性。

另一大挑战是质谱法对样品纯度的要求较高。样品中的杂质和干扰物质可能影响质谱分析的精确度，尤其是在分析复杂生物样品时，干扰成分的存在可能导致质谱信号的叠加，从而影响对目标宿主细胞蛋白的正确识别。在进行质谱检测时，通常需要进行精细的样品前处理和浓缩，以保证结果的准确性和可靠性。质谱法凭借其高灵敏度和高分辨率，成为宿主细胞蛋白残留检测中的重要工具，特别适合在研发和高级质量控制阶段应用。受限于设备需求、操作难度和成本等因素，其在日常生产中的广泛应用仍面临一定挑战。

5 综合检测方法的优化与未来发展方向

在宿主细胞蛋白残留检测的过程中，单一检测方法往往无法满足精确、高效的要求，综合检测方法的应用成为提高检测准确性和可靠性的重要方向。将免疫学法、色谱法与质谱法等技术进行组合使用，能够发挥各自的优势，弥补单一方法的不足，优化检测效果。在实际应用中，综合方法通过结合不同技术的优点，能够提供更为全面、灵敏的检测手段，尤其在复杂样本的分析中，能够有效提升检测的精准度和通量。

免疫学法的优势在于操作简便、成本较低，适合进行高通量筛查。单独依靠免疫学方法在多种宿主细胞蛋白同时检测或低丰度蛋白的检测时，可能存在灵敏度不足或特异性差的问题。通过结合色谱法，可以在分离复杂蛋白质混合物的同时，利用免疫学法对目标蛋白进行定量分析，克服了免疫学法中可

能出现的交叉反应问题。在这种组合方法中,免疫学法为色谱法提供了特异性识别,而色谱法则增强了整体检测的分离和定量能力。质谱法的引入则为综合方法的优化提供了更多的可能性。通过质谱技术,能够高效地对低丰度蛋白进行检测,并且能够处理复杂样本中的干扰物质^[5]。在色谱法和免疫学法的基础上引入质谱技术,不仅能够提高检测灵敏度,还能增强对复杂混合样本中多种蛋白质的同时检测能力。这种多技术的联合使用,尤其在单克隆抗体药物的生产过程中,能够提供更加全面的质量监控,确保药品的纯度与安全性。

优化综合检测方法的关键在于如何高效地整合不同技术的优点,克服各自的局限性。色谱与质谱的结合能够有效地分离和识别宿主细胞蛋白,且质谱分析能够提供更加精确的定量结果。免疫学法与质谱法的联合则可以利用免疫学方法的高通量优势,以及质谱法的高灵敏度,从而在保证分析速度的同时,提供高准确度的检测数据。随着生物技术的不断发展,这些技术的结合将变得更加紧密,自动化程度更高,操作简便性得到

提升,成本也有望逐步降低,从而使得这些综合检测方法能够广泛应用于生产过程中。未来,综合检测方法的进一步发展可能会侧重于提高检测的实时性和灵敏度。随着新型传感器技术和微型化设备的发展,实时检测和便捷的现场检测有望成为宿主细胞蛋白残留检测的一大趋势。人工智能与数据分析技术的结合,将有助于提高检测数据的处理效率,优化实验设计,最终实现更加智能化、自动化的检测流程。

6 结语

宿主细胞蛋白残留检测方法在单克隆抗体药物的质量控制中至关重要。随着技术的不断进步,免疫学法、色谱法和质谱法等方法各具优势,但单一方法在灵敏度、特异性和适用范围上仍存在局限。因此,综合检测方法成为提升检测准确性和高效性的有效手段。未来,随着新技术的不断融入和自动化、智能化检测手段的发展,宿主细胞蛋白残留的检测方法将变得更加精准、快速,为单克隆抗体药物的质量保证提供更加坚实的技术支持。

参考文献:

- [1] 武峰峰.PEDV Nsp14 蛋白通过调控翻译起始因子抑制宿主蛋白合成的机制研究[D].黑龙江八一农垦大学,2023.
- [2] 贾含笑.PCV2 复制起始区 DNA 互作蛋白筛选及其对病毒复制调控的初步研究[D].华中农业大学,2022.
- [3] 张学志.宿主蛋白 CCT5 在猪细小病毒复制过程中作用及机制研究[D].西北农林科技大学,2022.
- [4] 范前进.PDCoV S 蛋白诱导产生中和抗体区域的鉴定及与其相互作用蛋白的筛选[D].中国农业科学院,2021.
- [5] 徐昫眺.不同来源乳酸菌的分离筛选和代表株的基因组分析及单抗制备[D].扬州大学,2025.