

生物製劑品管技術之最新發展

以細胞株產製之蛋白質藥物或單株抗體產品，依照規定必須進行嚴格的品管檢測以確保無細菌及病毒之污染。抗體生成試驗(mouse antibody production)是針對來自老鼠細胞生產來源生物製劑產品之傳統病毒檢測法。抗體生成試驗是 Rowe 等人於 1959 年針對多瘤性病毒(Polyoma)病毒發展出之活體檢測技術，後來漸漸擴大應用至法規中要求之其他十八種病毒，包括小鼠微小病毒(MVM)、小鼠肝炎病毒(MHV)、小鼠小病毒(MPV)、淋巴球性膜絡腦炎病毒(LCMV)、小鼠輪狀病毒(MRV)、小鼠腦脊髓炎病毒(TMEV)、里奧病毒(Reovirus)、小鼠痘病毒(Ectromella virus)、漢他病毒(Hantavirus)、仙台病毒(Sendai virus)、小鼠肺炎病毒(Pneumovirus)、小鼠巨細胞病毒(MCMV)、小鼠腺病毒(MAV)等。此項檢測依照不同病毒特性進行實驗設計，一般最少需要四週之感染期，經收集老鼠血液後再配合抗體以酵素免疫呈色法、螢光染色法或血球凝集試驗進行結果判讀。最近發展出一種快速診斷法可以取代此傳統檢測技術，是利用分子生物原理直接檢測出樣品中的病毒核酸，而非間接偵測病毒所引起免疫反應；再加上近年來發展迅速之即時定量聚合酵素反應系統(Real-time PCR)更可大幅降低成本、提高效率並且符合動物保護之議題。

就實驗室設施與人員之需求方面：傳統抗體生成試驗需要專業獸醫師、動物房、檢疫合格之實驗動物及專一性抗體等配套條件。檢測結果會因實驗動物的飼養管理品質及實驗動物本身之免疫系統而有差異。例如需要無菌之籠架、飼料及飲用水以確保實驗動物體內不會產生干擾抗體，注射樣品時亦需在無菌操作台中執行以免污染其他實驗動物；後續分析需要高專一性之抗體才能準確檢測出特異性的免疫反應。而 real-time PCR 方法僅需受過分生訓練之人員及分生相關儀器。

就時效方面：傳統抗體生成試驗至少需要 28 天的試驗期，而 real-time PCR 僅需 2~3 個工作天即可完成結果判讀，且可同時處理大量樣品及同時檢測法規中要求之十二種或十八種病毒。就樣品需求方面：傳統抗體生成試驗至少需 3.5 ml，方能進行十隻小鼠之免疫注射；而單項病毒 real-time PCR 僅需 5 μ l 之核酸萃取液，大約 200 μ l 之樣品即足夠完成所有要求之病毒檢測。

就檢測靈敏度方面：根據文獻已知法定小鼠病毒，其中十三種病毒以 real-time PCR 檢測之靈敏度均優於傳統抗體生成試驗；有五種病毒以傳統抗體生成試驗或 real-time PCR 檢測法具有相同之靈敏度。為避免發生 real-time PCR 偽陽性反應，建議樣品製備、試劑混合與反應槽分設於不同的實驗室中；各獨立空間之儀器設備不應混用，實驗流程應遵守由潔淨度等級高者往潔淨度等級低者進行。

應用 real-time PCR 取代傳統抗體生成試驗，還符合了國際上動物試驗之減量、精緻、與替代之原則，未來將可廣泛針對生物製劑提供高靈敏度、高可信度、高效率之病毒檢測系統，加速產品安全管制流程與降低檢測成本，間接提高了產品競爭力。

(王仕蓉撰/周佑吉審)