

Détection et surveillance des protéines de cellules hôtes problématiques lors de l'utilisation du Purificateur hybride AEX Emphaze^{MC} 3M^{MC} dans les processus de fabrication d'AcM

Adapté de GILGUNN, S., H. EL-SABBAHY, S. ALBRECHT, M. GAIKWAD, K. CORRIGAN, L. DEAKIN, G. JELLUM et J. BONES. « Identification and tracking of problematic host cell proteins removed by a synthetic, highly functionalized nonwoven media in downstream bioprocessing of monoclonal antibodies », Journal of Chromatography A, vol. 1595 (2019), p. 28-38.

Résumé

Au cours de la purification d'un anticorps monoclonal (AcM), des protéines de cellules hôtes ont été détectées et surveillées après la clarification et la chromatographie d'affinité sur protéine A. Cette étude a examiné l'effet de la mise en œuvre du Purificateur hybride AEX Emphaze lors de la clarification sur l'élimination des protéines de cellules hôtes problématiques dans la purification en aval des anticorps monoclonaux (AcM). Les protéines des cellules hôtes dans l'éluat de la protéine A généré à partir de matériaux clarifiés à l'aide d'une filtration en profondeur 3M avec et sans Purificateur hybride AEX Emphaze ont été identifiées et quantifiées sur plusieurs cycles de chromatographie à l'aide de méthodes protéomiques de pointe. La clarification chromatographique avec le Purificateur hybride AEX Emphaze combinée avec la chromatographie d'affinité sur protéine A a permis d'éliminer les protéines des cellules hôtes problématiques courantes, notamment la sérine protéase HTRA1, la métalloprotéase matricielle-19 et la protéine S100-A6 entre autres. En outre, par rapport à la filtration en profondeur 3M seule, la mise en œuvre du Purificateur hybride AEX Emphaze, suivie d'une chromatographie d'affinité sur protéine A a permis une réduction moyenne de 38 fois plus élevée des niveaux de protéines des cellules hôtes et une concentration inférieure de 2,3 VRL dans l'ADN des cellules hôtes.

Introduction

Les anticorps monoclonaux (AcM) sont généralement produits dans les cellules menant à la production d'impuretés telles que les cellules elles-mêmes, les débris cellulaires, l'ADN des cellules hôtes et les protéines des cellules hôtes. Ces contaminants sont présents dans le fluide de culture cellulaire clarifié (FCCC) en plus du produit. Les gros débris insolubles sont pour la plupart éliminés pendant la clarification, tandis que les espèces solubles, notamment l'ADN des cellules hôtes et les protéines des cellules hôtes, sont généralement éliminées pendant le traitement en aval. Les lignes directrices de la FDA limitent la quantité de cellules hôtes dans un produit pharmaceutique final à 10 ng/dose ou moins¹. Une limite maximale de protéines des cellules hôtes de 100 ppm a été adoptée dans l'ensemble de l'industrie, tandis que les processus en pratique sont conçus pour cibler un niveau inférieur^{2,3}.

L'élimination des protéines des cellules hôtes pendant la purification est difficile, car celles-ci constituent une large gamme de protéines présentant des propriétés et des caractéristiques différentes, telles que le point isoélectrique, le poids moléculaire, l'hydrophobie et la structure⁴. En outre, les protéines des cellules hôtes risquent de compromettre la qualité du produit pharmaceutique final. De nombreuses protéines des cellules hôtes sont susceptibles de dénaturer ou d'altérer le produit. D'autres protéines des cellules hôtes risquent de provoquer une réponse immunitaire indésirable nuisant à l'efficacité et à l'innocuité du produit pharmaceutique^{5,6}.

Le tableau 1 présente un résumé de plusieurs protéines des cellules hôtes problématiques qui ont fait l'objet de cette étude et qui sont fréquemment observées au cours de la production d'AcM utilisant des cultures cellulaires à base de cellules ovariennes de hamster chinois (CHO).

La concentration totale de protéines des cellules hôtes est le plus souvent mesurée à l'aide de la méthode immunoenzymatique à double détermination d'anticorps (méthode ELISA). Cette technique présente souvent une faible sensibilité et peut détecter préférentiellement certaines protéines des cellules hôtes, telles que celles provoquant une forte immunogénicité, par rapport

à d'autres espèces. Cette étude a utilisé le couplage de chromatographie en phase liquide et spectrométrie de masse (CPL-SM) pour identifier les protéines des cellules hôtes et surveiller leur élimination pendant la clarification et sur plusieurs cycles de chromatographie d'affinité sur protéine A afin de déterminer l'effet de la stratégie de clarification sur l'élimination des protéines des cellules hôtes problématiques. Les méthodes de clarification envisagées étaient la filtration en profondeur 3M et la filtration en profondeur 3M, suivie d'une clarification chromatographique par le Purificateur hybride AEX Emphaze^{MC}

3M^{MC}. Le Purificateur hybride AEX Emphaze est un produit synthétique de clarification multimécanisme contenant à la fois une membrane non tissée d'échange d'anions Q fonctionnel et microporeuse pour l'élimination des particules fines. Le matériau non-tissé fonctionnel d'amine quaternaire fournit un tamisage mécanique des particules, ainsi qu'une capacité d'échange d'anions élevée pour la réduction de l'ADN, des protéines des cellules hôtes, des endotoxines et des débris cellulaires à charges négatives.

Tableau 1. Les protéines des cellules hôtes problématiques courantes présentes dans les AcM dérivés de cultures cellulaires à base de cellules CHO

Type de protéine des cellules hôtes	Nom de la protéine des cellules hôtes	Gène	Endroit
Enzymes de dégradation	Cathepsine B/D ^{7,8,9,10}	CTSB/D	Sécrétion, espace extracellulaire
	Métalloprotéase matricielle-19 ^{7,8}	MMP19	Sécrétion, espace extracellulaire
	Sérine protease HTRA1 ^{7,8,9}	HTRA1	Sécrétion
	Isomérase-disulfure de protéine A6 ⁸	PD1A6	Lumière du réticulum endoplasmique
	Protéine S100-A6 ^{7,8}	S100A6	Membrane cellulaire/ enveloppe nucléaire
Protéines des cellules hôtes potentiellement immunogènes	Protéine ribosomique 60s L30 ⁷	RPL30	Cytoplasme
	Annexine A5 ⁷	ANXAS	Cytoplasme
	Chimiokine CXCL3 ⁷	CXCL3	Sécrétion
	Histone H3 ⁷	HIST1H3A	Noyau
	Phospholipase putative de type B du carbone 2 ^{7,8}	PLBD2	Lysosome

Matériaux et méthodes

Matériau d'alimentation

Le tocilizumab, un médicament biosimilaire IgG1 recombiné, a été exprimé à l'aide d'une lignée cellulaire de cellules CHO jusqu'à un titre d'environ 3,5 g/l. Le matériau d'alimentation a été clarifié par deux systèmes de clarification. Comme le montre la figure 1, les démarches relatives à la clarification étaient les suivantes : la filtration en profondeur 3M et une combinaison de filtration en profondeur 3M et du Purificateur hybride AEX Emphaze. Après la clarification, le matériau a été aliquoté et entreposé à une température de -80 °C.

Chromatographie d'affinité sur protéine A

Des colonnes de protéine A MabSelect SuRe^{MC} HiTrap de 1 ml combinées à un système AKTA Avant ont été utilisées pour des expériences chromatographiques. Les étapes effectuées, les débits et les volumes pour chaque matériau d'alimentation sont indiqués dans le tableau 2. Le pic d'éluat a été automatiquement recueilli dans des tubes contenant 250 µl et 300 µl de solution de tampon de neutralisation (1 M de Tris-HCl, pH 9) pour le matériau clarifié par le Purificateur hybride AEX Emphaze et le matériau clarifié par Filtre en profondeur 3M, respectivement.

Une étude préliminaire par chromatographie d'affinité sur protéine A sur 20 cycles a été réalisée pour purifier le FCCC par filtration en profondeur 3M et par le Purificateur hybride AEX Emphaze. Après le 20^e cycle, les colonnes de protéine A ont été aseptisées à l'aide de 0,1 M d'hydroxyde de sodium

(NaOH). Les cycles de chromatographie ont été poursuivis avec ces deux flux d'alimentation pendant 100 cycles supplémentaires sans aucun assainissement.

Pour la purification de la protéine A du FCCC filtré par filtration en profondeur 3M, des stratégies d'assainissement supplémentaires ont été évaluées au cours de l'étude de cyclage : un léger assainissement avec 0,1 M de NaOH après chaque 5^e cycle et un assainissement rigoureux à l'aide de 0,5 M de NaOH après chaque 3^e cycle.

Techniques de quantification

Le titre d'anticorps a été mesuré à l'aide d'une colonne HiTrap de protéine G de 1 ml fixée à un Système de chromatographie liquide à haute performance Agilent^{MC}, 1100. L'ADN des cellules hôtes récupéré à partir d'éluats de protéine A après chaque 20^e cycle a été quantifié à l'aide d'amplification en chaîne par polymérase (ACP) quantitative. Les protéines des cellules hôtes de l'éluat de protéine A ont été quantifiées à l'aide d'une Trousse de quantification des protéines des cellules hôtes CHO ProteinSEQ^{MC}, après chaque 20^e cycle de protéine A.

Détection et analyse des protéines des cellules hôtes

Après chaque 20^e cycle de protéine A, les aliquotes d'éluat ont été recueillies, concentrées et soumises à la digestion tryptique. Les échantillons digérés ont été analysés à l'aide de données provenant du couplage de chromatographie en phase liquide et spectrométrie de masse (CPL-SM) ou de la spectrométrie de masse (SM). L'analyse des données protéomiques des spectres de masse résultants a été effectuée à l'aide du logiciel Progenesis^{MC} QI pour analyse

protéomique, version 3.2, après avoir effectué une recherche de base de données à l'aide du logiciel PEAKS contre la base de données FASTA du National Center for Biotechnology Information (NCBI) portant sur le *Crucetus griseus* (hamster chinois).

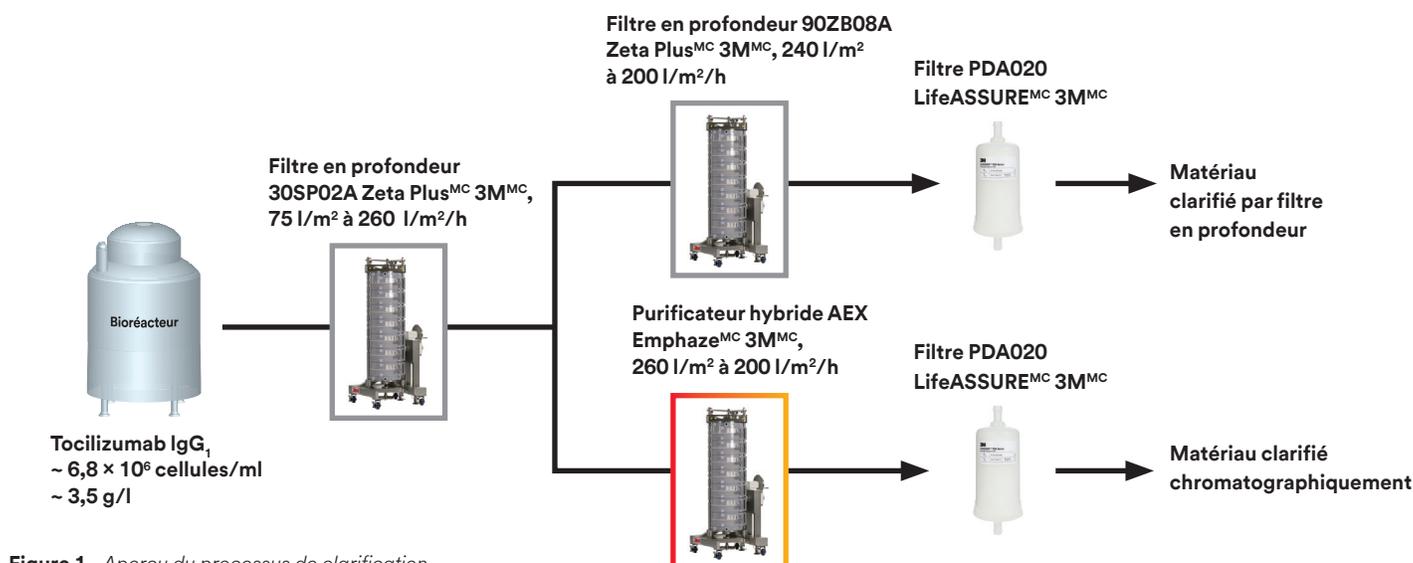


Figure 1. Aperçu du processus de clarification.

Tableau 2. Étapes du processus, tampons, débits et volumes pour les cycles de chromatographie d'affinité sur protéine A.

Étape	Tampon/échantillon	Débit (ml/min)	Volume (ml)
Étalonnage	20 millimoles de phosphate de sodium, 0,15 M de NaCl, pH 7,0	0,5	10
Alimentation	Purificateur hybride AEX Emphase ^{MC} 3M ^{MC} ou FCCC filtré par filtre en profondeur 3M	0,25	8
Lavage après chargement 1	Tampon d'étalonnage	0,25	1
Lavage après chargement 2	Tampon d'étalonnage	0,5	9
Élution	0,1 M de citrate de sodium, pH 3,2	0,5	8
Bandelette d'acide	500 millimoles d'acide acétique	0,5	2
Étalonnage	Tampon d'étalonnage	0,5	10
Assainissement	100 millimoles de NaOH ou 0,5 M de NaOH	0,3	5
Étalonnage	Tampon d'étalonnage	0,5	10

Résultats et discussion

Quantification des niveaux de protéines et d'ADN des cellules hôtes

Comme indiqué dans la figure 2, l'utilisation du Purificateur hybride AEX Emphase^{MC} 3M^{MC} lors de la clarification a permis d'améliorer considérablement la clairance des protéines et de l'ADN des cellules hôtes, et a apporté la clairance plus uniforme lors de la chromatographie d'affinité sur protéine A par rapport au matériau clarifié par filtration en profondeur 3M seule.

Sur plusieurs cycles de protéines A, la clarification chromatographique

avec le Purificateur hybride AEX Emphase a fourni une réduction uniforme des protéines des cellules hôtes de 100 ppm ou moins. En revanche, l'éluat de protéine A issu de la purification du matériau filtré par filtration en profondeur 3M présentait des concentrations de protéines des cellules hôtes allant d'environ 2 000 ppm jusqu'à environ 8 000 ppm. Pour le matériau du filtre en profondeur 3M, on a constaté une diminution de la concentration de protéines des cellules hôtes à mesure que le nombre de cycles de protéine A augmentait. Cette diminution aurait pu être attribuée à l'altération de la résine de protéine A entraînant une diminution de la liaison non spécifique avec l'augmentation du nombre de cycles et, par conséquent, une diminution de la coélution des contaminants de la colonne.

La mise en œuvre de l'assainissement au NaOH entre les cycles de protéine A pour la purification de FCCC par filtration en profondeur 3M a légèrement amélioré la clairance des protéines des cellules hôtes. Cependant, on a constaté que l'éluat contenait encore des niveaux de protéines des cellules hôtes considérablement plus élevés que l'éluat généré à partir de matériaux clarifiés par le Purificateur hybride AEX Emphase^{MC} 3M^{MC}. Par exemple, les conditions d'assainissement difficiles entre les cycles de protéine A pendant la purification du matériau soumis à la filtration en profondeur 3M ont réduit la concentration totale de protéines des cellules hôtes, mais ont tout de même eu, en moyenne, des niveaux de protéines des cellules hôtes 38 fois plus élevés que l'éluat du matériau clarifié à l'aide du Purificateur hybride AEX Emphase.

L'incorporation du Purificateur hybride AEX Emphase lors de la clarification a permis d'augmenter la clairance de l'ADN des cellules hôtes dans l'ensemble des analyses chromatographiques d'affinité sur protéine A. La figure 2B présente la concentration d'ADN des cellules hôtes dans les éluats de protéine A générés par le Purificateur hybride AEX Emphase dont la valeur

de réduction logarithmique (VRL) était, en moyenne, 2,3 fois plus basse par rapport à celle du matériau clarifié par filtration en profondeur 3M seule.

Lorsque le Purificateur hybride AEX Emphase a été mis en œuvre pendant la clarification, le rendement de la chromatographie d'affinité sur protéine A a été maintenu sur plusieurs cycles : la concentration d'ADN des cellules hôtes dans l'éluat de la protéine A est restée faible et, compte tenu de l'erreur de dosage en raison de la faible concentration d'ADN, se situait à environ 10 parties par milliard sur 100 cycles sans assainissement. En revanche, la concentration d'ADN des cellules hôtes dans les éluats générés à partir de matériaux clarifiés par filtration en profondeur 3M uniquement semblait suivre une tendance décroissante au fur et à mesure que le nombre de cycles de protéine A augmentait. Cette tendance était la plus prononcée lorsque la résine de protéine A n'était pas désinfectée, mais elle était toujours présente dans les régimes de l'assainissement doux et rigoureux, et l'on estime qu'elle était attribuable à l'altération de la résine.

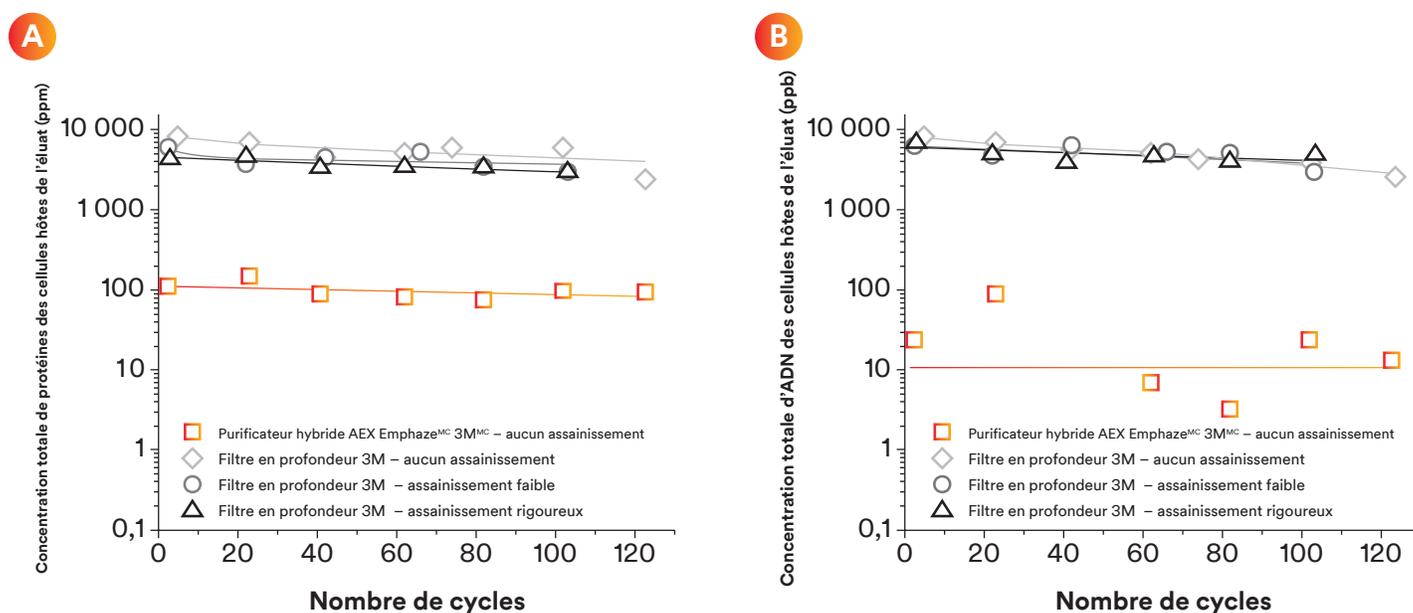


Figure 2. (A) Concentration de protéines des cellules hôtes dans l'éluat de protéine A sur plusieurs cycles de chromatographie. (B) Concentration d'ADN des cellules hôtes dans l'éluat de protéine A sur plusieurs cycles de chromatographie.

Analyse et catégorisation des protéines des cellules hôtes problématiques

Les protéines difficiles à éliminer par le processus de purification ou qui nuisent à l'innocuité et l'efficacité du médicament final sont couramment appelées des protéines des cellules hôtes problématiques⁹. Le fait de ne pas réduire la concentration de ces protéines risque de compromettre la qualité du produit, car les protéines des cellules hôtes peuvent entraîner la formation d'agrégats ou peuvent catalyser la fragmentation et la dégradation du produit¹¹. Les protéines des cellules hôtes peuvent non seulement nuire à la qualité des produits, mais aussi à la sécurité des patients. Les protéines des cellules hôtes problématiques figurant dans cette étude ont été classées en trois catégories : (1) les histones, (2) les protéines dégradantes ou (3) les protéines immunogènes. La figure 3 montre la concentration de certaines protéines des cellules hôtes difficiles pour chacune de ces catégories après clarification et après chromatographie d'affinité sur protéine A.

Les *histones* sont des composants de la chromatine. Il a été démontré que la liaison non spécifique des hétéroagrégats de chromatine (composés d'ADN, d'histones, de protéines non-histones et d'IgG de formes aberrantes) à la protéine A influence à la fois la capacité de la colonne de protéine A et la pureté de l'éluat. L'élimination de la chromatine pendant la clarification, comme l'a démontré l'élimination des histones, peut améliorer le rendement de la protéine A¹¹. Après une filtration en profondeur 3M, les histones H2B et H3 étaient toujours présentes dans le filtrat et persistaient chez la protéine A. En revanche, la clarification avec le Purificateur hybride AEX Emphase a permis l'élimination de ces histones à une concentration inférieure à la limite de détection. La concentration d'histones dans l'éluat de la protéine A généré par le Purificateur hybride AEX Emphase est demeurée très faible et proche de la limite de détection.

Les *protéines des cellules hôtes protéolytiques* sont des protéines enzymatiquement actives pouvant avoir une incidence sur la qualité d'AcM cible par la dégradation, l'agrégation et/ou la fragmentation. Le Purificateur hybride AEX Emphaze^{MC} 3M^{MC} a permis de réduire les niveaux de protéines des cellules hôtes protéolytiques pendant la clarification par rapport au FCCC filtré par filtration en profondeur 3M. De plus, l'utilisation du Purificateur hybride AEX Emphaze avec la protéine A a permis d'éliminer les protéines des cellules hôtes dégradantes détectées.

Les *protéines des cellules hôtes immunogènes* sont des impuretés qui peuvent provoquer une réponse immunitaire chez les patients. Les trois protéines immunogènes présentées à la figure 3 présentent une cote d'immunogénicité élevée dérivé de CHOPPI, un outil Web spécialement développé pour la détermination du risque d'immunogénicité des protéines des cellules hôtes dans les traitements protéiques à base de cellules CHO.

La chimiokine CXC 3 a été éliminée par le Purificateur hybride AEX Emphaze lors de la clarification primaire, alors que la filtration en profondeur 3M seule n'a pas été en mesure de la clarifier. La protéine S100-A6 était présente après la filtration en profondeur et la clarification chromatographique avec le Purificateur hybride AEX Emphaze. Cette protéine a été détectée dans l'éluat de la protéine A généré à partir du matériau filtré par filtration en profondeur 3M, mais elle était inférieure à la limite de détection dans l'éluat de la protéine A produit à partir de la matière clarifiée à l'aide du Purificateur hybride AEX Emphaze. La troisième protéine des cellules hôtes immunogène présentée à la figure 3, PLBL2, est susceptible de se lier aux AcM humanisés rendant difficile la clairance de ces protéines des cellules hôtes. Peu importe la méthode de clarification, PLBL2 n'a pas été détectée dans l'éluat de la protéine A.

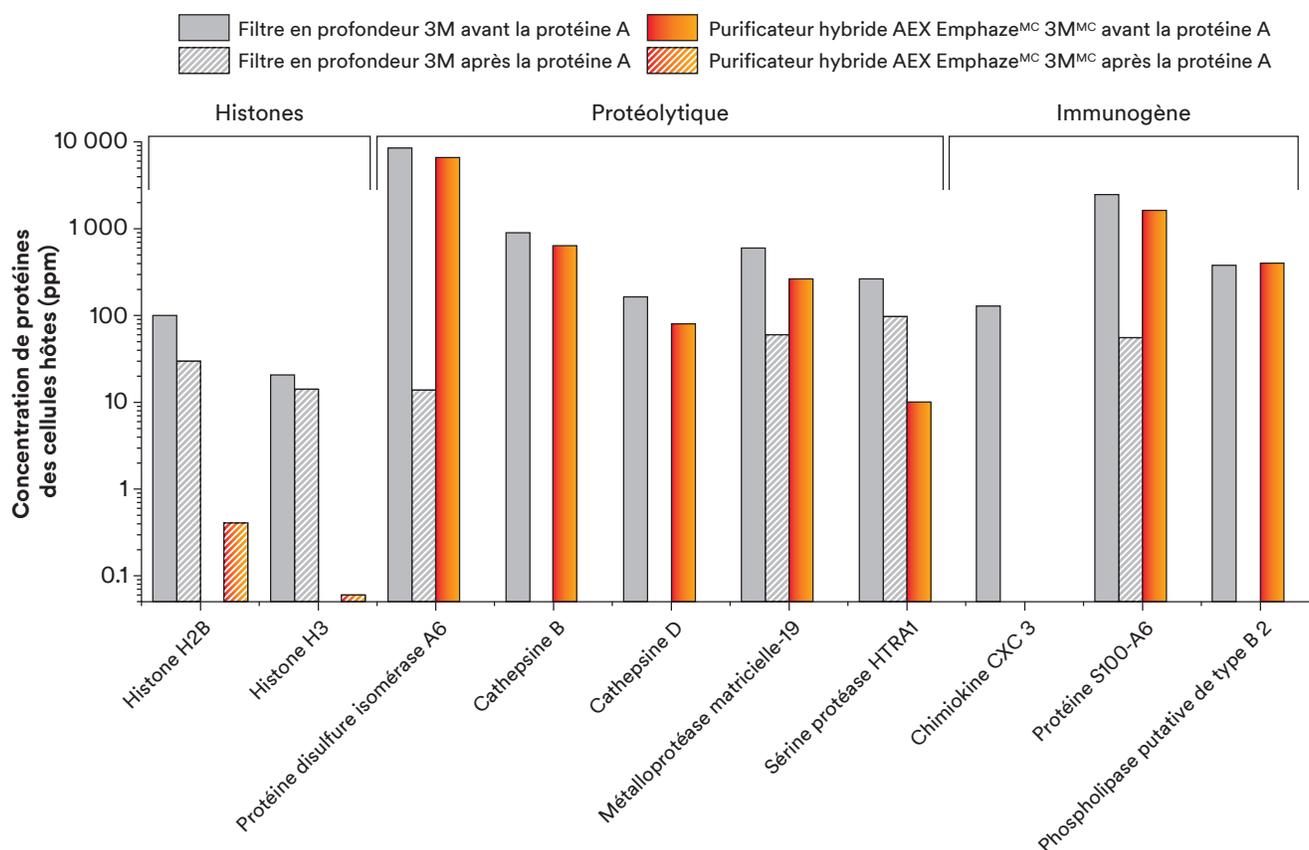


Figure 3. Retrait de certaines protéines des cellules hôtes problématiques lors de la clarification primaire par chromatographie d'affinité sur protéine A.

Surveillance des protéines des cellules hôtes courantes et problématiques dans l'éluat de protéine A

Plusieurs des protéines des cellules hôtes les plus fréquemment détectées, ainsi que certaines protéines des cellules hôtes problématiques, ont été surveillées dans l'éluat de protéine A sur 100 cycles de chromatographie (consulter la figure 4). L'utilisation de différentes conditions d'assainissement entre les cycles de protéine A pour la purification du FCCC par filtre en profondeur 3M a eu une incidence sur la concentration et le nombre de protéines des

cellules hôtes distinctes présentes dans l'éluat. Par rapport à l'absence d'assainissement, un assainissement léger de la résine de protéine A a permis de réduire la concentration de protéines des cellules hôtes dans l'éluat de protéine A. Lors de l'application de conditions d'assainissement rigoureux, les concentrations les plus élevées et la plus grande diversité de protéines des cellules hôtes étaient présentes dans l'éluat de protéine A.

L'éluat de protéine A provenant du matériau clarifié par le Purificateur hybride AEX Emphaze^{MC} 3M^{MC} a démontré une bonne clairance de toutes les protéines des cellules hôtes problématiques envisagées et une réduction considérable de la majorité des protéines des cellules hôtes fréquemment détectées. Les autres protéines des cellules hôtes couramment détectées qui n'ont pas été clarifiées par les effets synergiques du Purificateur hybride AEX Emphaze et de la chromatographie d'affinité sur protéine A étaient présentes dans l'éluat à des concentrations inférieures à celles de l'éluat généré à partir du matériau clarifié par filtre en profondeur 3M.

Certaines protéines des cellules hôtes, notamment la lipoprotéine lipase et le nidogène, sont considérées comme particulièrement difficiles à éliminer, car elles s'associent à de nombreux AcM et coélutent sur plusieurs différents types de chromatographie de polissage. Le nidogène 1 a été clarifié par la combinaison d'une clarification chromatographique et d'une chromatographie d'affinité sur protéine A. La concentration de lipoprotéine lipase a été réduite d'environ 1 ordre de grandeur.

Concentrations de protéines des cellules hôtes (ppm)

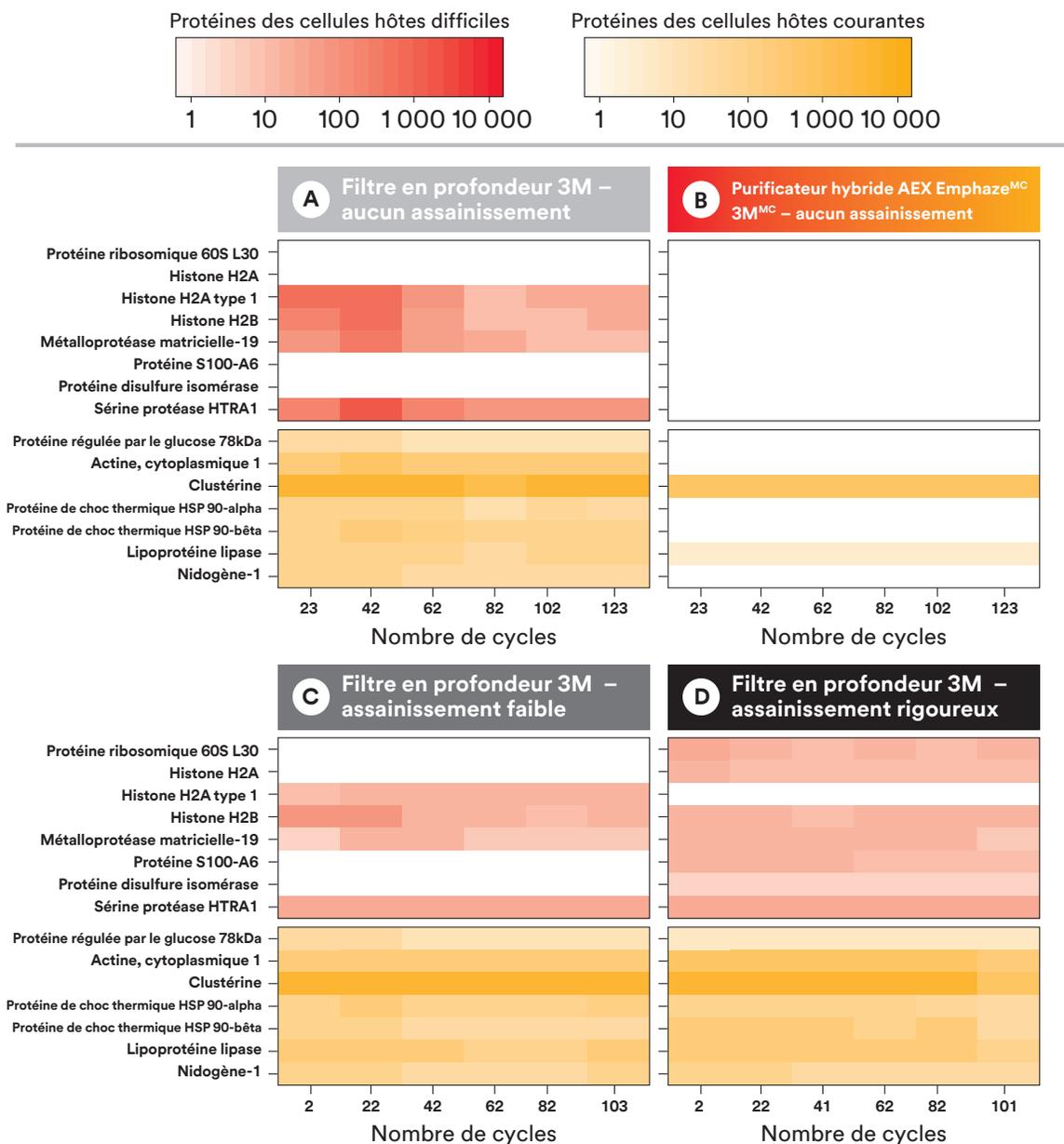


Figure 4. Cartes thermiques représentant la concentration problématique (rouge) et fréquente (orange) de protéines des cellules hôtes dans les éluats de protéine A générés pendant les expériences de cyclage. Le graphique (A) montre les expériences de cyclage avec un matériau clarifié par filtre en profondeur 3M et sans assainissement sur 100 cycles, le graphique (B) montre 100 cycles avec un matériau clarifié avec le Purificateur hybride AEX Emphaze^{MC} 3M^{MC} et sans assainissement, le graphique (C) montre 100 cycles avec des conditions d'assainissement faible et le graphique (D) montre 100 cycles avec un régime d'assainissement rigoureux. L'intensité de la couleur correspond à la concentration : plus la couleur est foncée, plus la concentration de protéines des cellules hôtes est élevée.

Altération de la résine

Dans cette étude, une altération réduite de la protéine A a également été constatée. Un assainissement de colonne pendant le cycle final a été effectué pour toutes les stratégies de nettoyage en utilisant 0,1 M de NaOH dans les régimes sans assainissement et d'assainissement faible et en utilisant 0,5 M de NaOH dans les conditions d'assainissement rigoureux. Comme le montre la figure 5, l'analyse par chromatographie en phase liquide et spectrométrie de masse (CPL-SM) ou par spectrométrie de masse (SM) de chaque fraction d'assainissement a démontré une variation dans le nombre de protéines des cellules hôtes détectées dans le matériau clarifié par filtre en profondeur 3M n'ayant subi aucun assainissement (74 protéines des cellules hôtes), ayant subi un assainissement faible (61 protéines des cellules hôtes) et ayant subi un assainissement rigoureux (96 protéines des cellules hôtes). Plus particulièrement, le nombre de protéines des cellules hôtes présentes dans la fraction finale d'assainissement pour le matériau clarifié avec le Purificateur hybride AEX Emphase^{MC} 3M^{MC} était 3,5 fois inférieur à celui du matériau filtré par filtration en profondeur 3M ayant subi un assainissement faible, indiquant qu'il y avait moins d'altération globale de la colonne de protéine A sur 100 cycles.

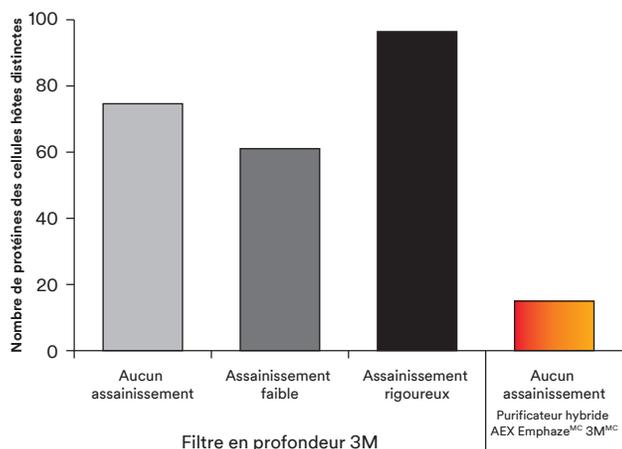


Figure 5. Nombre de protéines des cellules hôtes présentes dans les échantillons prélevés lors de l'assainissement après 100 cycles de chromatographie d'affinité sur protéine A dans les différentes conditions évaluées.

Conclusions

La mise en œuvre du Purificateur hybride AEX Emphase en conjonction avec la chromatographie d'affinité sur protéine A a permis la clairance à un niveau inférieur à la limite de détection de toutes les protéines des cellules hôtes problématiques surveillées dans cette étude et de la majorité des protéines des cellules hôtes courantes avec une clairance uniforme sur 100 cycles de la protéine A. En revanche, la filtration en profondeur 3M en conjonction avec la chromatographie d'affinité sur protéine A n'a pas permis d'éliminer un grand nombre de ces protéines des cellules hôtes.

En moyenne, les concentrations totales de protéines et d'ADN des cellules hôtes après la protéine A étaient 38 fois plus faibles et présentaient une réduction logarithmique de 2,3, respectivement, pour les FCCC clarifiés chromatographiquement par rapport aux FCCC filtrés en profondeur. Les concentrations de protéines et d'ADN des cellules hôtes de l'éluat de la protéine A étaient également uniformes sur 100 cycles chromatographiques sans assainissement de la colonne de chromatographie pour le matériau clarifié par le Purificateur hybride AEX Emphase. Ce n'était pas le cas pour le matériau clarifié par filtre en profondeur 3M.

La mise en œuvre du Purificateur hybride AEX Emphase au cours du processus de clarification d'AcM peut considérablement améliorer le rendement de purification de la colonne de protéine A en réduisant considérablement la charge d'ADN et de protéines des cellules hôtes. En outre, la clarification avec le Purificateur hybride AEX Emphase en conjonction avec la chromatographie d'affinité sur protéine A peut réduire les protéines des cellules hôtes qui sont connues pour persister à travers le processus de polissage. L'intégration du Purificateur hybride AEX Emphase à l'étape de clarification peut simplifier la purification d'AcM en réduisant plusieurs types d'impuretés en une seule étape du processus, ce qui permet d'améliorer l'économie du processus.

Bibliographie

- 1 YANG, H. « Establishing Acceptable Limits of Residual DNA », *PDA, Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, n° 67 (2013), p. 155-163.
- 2 DE ZAFRA, C., V. QUARMBY, K. FRANCISSEN, N. VANDERLAAN et J. ZHU-SHIMONI. « Host cell proteins in biotechnology-derived products: A risk assessment framework », *Biotechnology and Bioengineering*, n° 112 (2015), p. 2284-2291.
- 3 VALENTE, K. N., N. E. LEVY, K. H. LEE et A. M. LENHOFF. « Applications of proteomic methods for CHO host cell protein characterization in biopharmaceutical manufacturing », *Current Opinion in Biotechnology*, n° 53 (2018), p. 144-150.
- 4 TSCHELIESSNIG, A., J. KONRATH, R. BATES et A. JUNBAUER. « Host cell protein analysis in therapeutic bioprocessing — methods and applications », *Biotechnology Journal*, n° 8 (2013), p. 655-670.
- 5 KAO, Y. H., D. HEWITT, M. TREXLER-SCHMIDT et M. LAIRD. « Mechanism of antibody reduction in cell culture production processes », *Biotechnology and Bioengineering*, n° 107 (2010), p. 622-632.
- 6 TREXLER-SCHMIDT, M., S. SARGIS, J. CHIU, S. SZE-KHO, M. MUN, Y. KAO et M. LAIRD. « Identification and prevention of antibody disulfide bond reduction during cell culture manufacturing », *Biotechnology and Bioengineering*, n° 106 (2010), p. 452-461.
- 7 FARRELL, A., S. MITTERMAYR, B. MORRISSEY, N. MCLOUGHLIN, N. NAVAS IGLESIAS, I. MARISON et J. BONES. « Quantitative Host Cell Protein Analysis using Two Dimensional Data Independent LC-MSE », *Analytical Chemistry*, n° 87 (2015), p. 9186-9193.
- 8 ABOULAICH, N., W. K. CHUNG, J. THOMPSON, C. LARKIN, D. ROBBINS et M. ZHU. « A Novel Approach to Monitor Clearance of Host Cell Proteins Associated With Monoclonal Antibodies », *Biotechnology Progress*, n° 30 (2014), p. 1114-1124.
- 9 LEVY, N., K. VALENTE, L. CHOE, K. LEE et A. LENHOFF. « Identification and characterization of host cell protein product-associated impurities in monoclonal antibody bioprocessing: HCP-mAb Product-Associated Impurities », *Biotechnology and Bioengineering*, n° 111 (2014), p. 904-912.
- 10 BEE, J., L. TIE, D. JOHNSON, M. DIMITROVA, K. JUSINO et C. AFDAHL. « Trace levels of the CHO host cell protease cathepsin D caused particle formation in a monoclonal antibody product », *Biotechnology Progress*, n° 31 (2015), p. 1360-1369.
- 11 GOEY, C., S. ALHUTHALI et C. KONTORAVDI. « Host cell protein removal from biopharmaceutical preparations: Towards the implementation of quality by design », *Biotechnology Advances*, vol. 24, n° 36 (2019), p. 1223-1237.

Utilisation prévue : Procédé à usage unique de traitement de produits pharmaceutiques biologiques à base aqueuse (médicaments) et de vaccins en suivant rigoureusement les directives d'utilisation du produit et les exigences des pratiques exemplaires de fabrication, le cas échéant.

Utilisation interdite : En tant que composant d'un dispositif médical réglementé par une agence ou par des agences exemplaires à l'échelle mondiale, y compris, mais sans s'y limiter : a) la FDA b) l'European Medical Device Directive (MDD) c) la Japan Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA), les utilisations qui exigent l'insertion permanente dans le corps, les utilisations médicales servant au maintien de la vie et les utilisations nécessitant une conformité aux normes régissant le contact avec les aliments.

Renseignements techniques : Les renseignements techniques, conseils et autres énoncés contenus dans le présent document ou fournis par 3M sont fondés sur des dossiers, des essais ou des expériences que 3M juge fiables, mais dont l'exactitude, l'exhaustivité et la nature représentative ne sont pas garanties. Ces renseignements sont destinés à des personnes qui possèdent les connaissances et les compétences techniques requises pour les évaluer et exercer un jugement éclairé à leur égard. Aucune licence d'utilisation de droits de propriété intellectuelle de 3M ou de tiers n'est accordée ou implicite en vertu de ces renseignements.

Sélection et utilisation des produits : De nombreux facteurs indépendants de la volonté de 3M et connus uniquement par l'utilisateur peuvent nuire à l'utilisation et au rendement d'un produit 3M lors d'un usage particulier. Par conséquent, il incombe à l'utilisateur final seul d'évaluer le produit et de déterminer s'il est approprié pour l'application prévue, notamment en effectuant une évaluation des risques qui tient compte des caractéristiques lixiviables du produit et de ses répercussions sur la sécurité des médicaments, et ce, en procédant à une évaluation des dangers en milieu de travail et en examinant toutes les réglementations et normes applicables (p. ex., OSHA, ANSI, etc.). Le fait de ne pas évaluer, sélectionner et utiliser correctement un produit 3M et les produits de sécurité appropriés, ou de ne pas respecter toutes les réglementations de sécurité applicables, peut entraîner des blessures, des problèmes de santé, la mort et/ou des dommages à des biens.

Garantie, limite de recours et exonération de responsabilité : À moins qu'une garantie différente ne soit spécifiquement énoncée sur l'emballage ou la documentation applicables du produit 3M (une telle garantie ayant préséance, le cas échéant), 3M garantit que chaque produit 3M est conforme aux spécifications des produits 3M applicables au moment de son expédition. 3M N'OFFRE AUCUNE AUTRE GARANTIE NI AUCUNE AUTRE CONDITION EXPLICITE OU IMPLICITE, Y COMPRIS, MAIS SANS S'Y LIMITER, TOUTE GARANTIE OU CONDITION IMPLICITE DE QUALITÉ MARCHANDE, D'ADÉQUATION À UN USAGE PARTICULIER OU DÉCOULANT DE LA CONDUITE DES AFFAIRES, DES PRATIQUES COURANTES ET DES USAGES DU COMMERCE. Si un produit 3M n'est pas conforme à cette garantie, le seul et unique recours est, au gré de 3M, d'obtenir le remplacement du produit 3M ou le remboursement de son prix d'achat.

Limite de responsabilité : À l'exception de la limite de recours énoncée plus haut, et à moins d'interdiction par la loi, 3M ne saurait être tenue responsable des pertes ou des dommages directs, indirects, spéciaux, fortuits ou conséquents (y compris, mais sans s'y limiter, la perte de profits et d'occasions d'affaires) découlant de l'utilisation du produit 3M ou en lien avec celui-ci, quelle que soit la théorie juridique ou équitable dont on se prévaut, y compris, mais sans s'y limiter, celles de responsabilité contractuelle, de violation de garantie, de négligence ou de responsabilité stricte.



Division des sciences de la séparation et de la purification 3M

3M Canada

300, rue Tartan
London (Ontario) N5V 4M9
Canada
1 800 443-1661
3M.ca/biotraitement