

# 蛋白質科學 暨 技術服務 電子報

## 技術佈告欄 Technical Bulletin

### 治療型蛋白質藥物免疫原性 分析方法介紹

Introduction to immunogenicity assessment for  
protein therapeutics

介紹免疫原性分析流程及各方法之特色

值日生  
PSS

## 焦點新聞 News

### 參展資訊 -

- ◆ BioPharma Asia 2017展會圓滿落幕
- ◆ BIOtech Japan 2017 (攤位編號: W19-46) 與  
BioTaiwan 2017參展預告

# 治療型蛋白質藥物之免疫原性分析方法介紹

(Introduction to immunogenicity assessment for protein therapeutics)

## 前言

蛋白質藥物 (Protein therapeutics) 與化學合成藥物相比具有專一性高、副作用小等優勢，在市場上有著強大的潛力與產值，然而蛋白質藥物必須進行免疫原性 (Immunogenicity) 的評估，並檢測體內抗蛋白質藥物抗體 (Anti-drug antibody, ADA) 的含量，以降低藥物在使用上的風險，因此在蛋白質藥物的研發過程中，應擬定相關的檢測策略。世界衛生組織 (WHO)、美國食品藥物管理局 (FDA) 與歐洲藥物管理局 (EMA) 皆有相關規定<sup>[1-3]</sup>，包括前臨床試驗中對 ADA 進行檢測並針對藥物免疫原性進行實驗評估，而這些結果攸關到藥物的療效與安全性，以及是否可以批准上市。免疫原性的評估分成幾個階段：Screening Assay、Confirmatory Assay、Characterization Assay 與 Neutralizing Antibody Assay，於早期擬定策略並選擇適當的方式將有助於免疫原性研究的進行，以下將進一步的介紹各階段的分析原理與不同分析方式。

若特定的物質能在體內引起免疫反應 (Immune responses)，則該物質具有免疫原性 (Immunogenicity)，根據狀況可以分為 Wanted immunogenicity 以及 Unwanted immunogenicity，前者例如藉由施打疫苗促使免疫反應發生，並於體內產生抗體 (Antibody)，以達到預防或保護的效果；後者則通常發生在蛋白質藥物於施打後所產生的免疫反應，由於抗藥物抗體 (Anti-drug antibody, ADA) 的影響將會使藥物逐漸失去療效，並有可能發生過敏性反應 (Anaphylaxis)、細胞激素釋放 (Cytokine release syndrome) 及內源性蛋白交叉中和反應 (Cross-reactive neutralization of endogenous proteins) 等嚴重的不良免疫反應<sup>[4]</sup>。除了藥物本身以外還有許多可能導致免疫原性的因素如表 1 所示<sup>[5]</sup>，因此在藥物開發的過程中應及早進行相關的研究；此外，美國食品藥物管理局 (FDA) 提出在藥物開發階段時，應一併開發 ADA 的分析方式，並配合結果調整給藥策略以降低免疫原性產生的風險，且 ADA 的分析過程應以階段

式逐步篩選以確保整個實驗過程的嚴謹 (圖 1<sup>[6]</sup>)，過程分為：(1) 藉由 Screening Assay 快速篩選出具有 ADA 呈陽性反應之樣品，期間進行 cut-point、靈敏度 (sensitivity)、藥物耐受性 (drug tolerance) 及選擇性 (selectivity) 等驗證性實驗 (2) 進行 Confirmatory Assay 以藥物競爭的方式消除掉偽陽性結果的可能性 (3) 進行 Characterization Assay 得到 ADA 的抗體蛋白種類、親和力與濃度 (Titer) 等基本資訊 (4) 利用 Neutralizing Antibody Assay 檢測抗體對於藥物影響的程度。

Some factors which influence the unwanted immunogenicity of therapeutic proteins.	
Factors determining the immunogenicity of therapeutic proteins	
Product-related (Intrinsic)	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• molecular structure – primary amino acid sequence or variants, novel epitopes;</li> <li>• aggregates, degradation products, oxidized or deamidated forms;</li> <li>• host cell DNA/proteins;</li> <li>• formulation;</li> <li>• primary packaging.</li> </ul>	
Product-related (Extrinsic)	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• dose, route, frequency of administration, episodic/continuous treatment, duration of treatment, previous exposure;</li> <li>• cellular or soluble target;</li> <li>• biological properties of the therapeutic;</li> <li>• endogenous counterpart, redundant or non-redundant.</li> </ul>	
Host-related	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• genetic profile;</li> <li>• immune status, disease state, medication.</li> </ul>	

表 1. 影響免疫原性的可能原因<sup>[5]</sup> (Biologicals. 2015, 43: 298-306.)

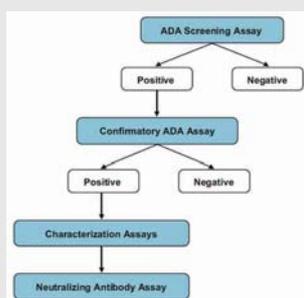


圖1. ADA分析流程圖<sup>[6]</sup> (BioDrugs. 2016, 30: 195-206.)。

## A. Screening Assay :

Screening assay主要利用抗體鍵結的方式進行免疫呈色，以確定樣品中是否有ADA的存在，透過這樣的方式能夠快速地評估給藥後不同時期、不同患者及單一患者不同給藥劑量等各種條件下蛋白質藥免疫原性的差異，其方法可分為enzyme linked immunosorbent assays (ELISA)、Electrochemiluminescence (ECL)、Radioimmunoprecipitation assay (RIPA)、Surface plasmon resonance (SPR)四類，這四種方式各有優缺點，因此根據蛋白質藥的特質與預期結果選擇適當的分析方式，能降低分析結果的誤差與節省許多時間。

### 1. ELISA

ELISA根據實驗設計的不同又能分為Direct/Indirect、Sandwich (Capture)、Bridging ELISA。Direct/Indirect ELISA將蛋白質藥作為抗原固定在檢測盤底層並加入樣品，並利用帶有呈色酵素的抗免疫球蛋白試劑對ADA標定後檢測樣品內是否含有ADA的存在，然而這兩種方式皆有可能會出現固定抗原時導致抗體鍵結位被遮蔽的問題，因此為了改善這種問題，Sandwich ELISA先將針對蛋白質藥的抗體(Capture antibody)固定在檢測盤上(圖2<sup>[6]</sup>)，接著加入蛋白質藥確保對ADA的抗體鍵結位能夠暴露在外部，此方法具有高度的專一性<sup>[7]</sup>，然而由於需要添加來自不同物種的二抗，因此若以動物血清作為對照組做測試便有可能會出現交叉反應(Cross-reactive)，Bridging ELISA便避免了這種狀況，先透過蛋白質藥來連接ADA，另一方面又藉由標記酵素的蛋白質藥(圖3<sup>[8]</sup>)去進行檢測，

透過這種方式不但降低交叉反應的可能性，也更適合用於單株抗體蛋白質藥的測試，然而Bridging ELISA對ADA有較高的要求，若ADA為IgG4的單價抗體便無法被偵測到，也有可能因為洗滌次數較多而導致無法偵測到較低含量ADA。

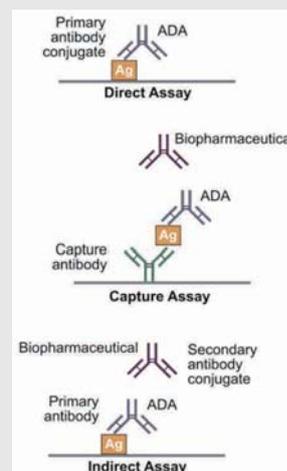


圖2. Direct ELISA、Indirect ELISA、Sandwich (Capture) ELISA模式圖，利用蛋白質藥不同的連接方式來達到辨認ADA的目的<sup>[6]</sup> (BioDrugs. 2016, 30: 195-206.)。

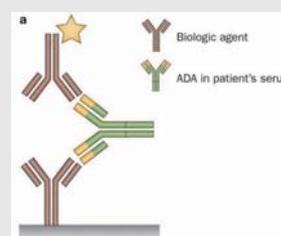


圖3. Bridging ELISA模式圖，藉由標記蛋白質藥避免不同物種的二抗對於含動物血清的對照組所產生的交叉作用<sup>[8]</sup>(Actas Dermosifiliogr. 2013, 104 (6): 471-479.)。

### 2. ECL

ECL與Bridging ELISA相似，將蛋白質藥固定在碳電極板去連接ADA，再以帶有標定物的蛋白質藥進行檢測，然而ECL是利用釷元素進行標定而非酵素(圖4<sup>[9]</sup>)，釷元素在合適的電壓下受刺激會產生氧化還原反應並放大訊號，此外因為該方式減少了洗滌的次數，因此與Bridging ELISA相比有更高的靈敏度，然而ECL與Bridging ELISA一樣無法偵測IgG4的單價抗體，同時設備與試劑也較ELISA昂貴。



圖4. ECL 運作示意圖，藉由電流刺激標定在蛋白質藥上的鈦元素不斷產生氧化還原反應，以達到檢測ADA並放大訊號的目的<sup>[9]</sup> (Analyst. 2015, 140 (18):6175-6194.)。

### 3. RIA assay :

RIA透過放射性標定蛋白質藥作為抗原，並在固定劑量的情況下與樣品進行反應，接著透過免疫球蛋白抗體或蛋白A/G進行與受標記抗原的ADA鍵結形成複合物沉澱(圖5<sup>[6]</sup>)，最後根據放射性標記訊號的強度來檢測ADA含量，該種方式最大的優勢在於能夠連續測量ADA的變化與極高的靈敏度，然而該方式也因為放射性的安全因素而備受限制，此外也無法一次性的進行大量的樣品測試<sup>[5]</sup>。

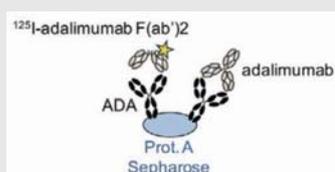


圖5. RIA Assay中利用標定放射性元素之蛋白質藥(asalimumab)辨認ADA，並藉由檢測其放射性的標記訊號來偵測目標物<sup>[6]</sup> (BioDrugs. 2016, 30: 195-206.)。

### 4. SPR :

SPR將蛋白質藥固定在感應晶片上，當樣品開始流入時，由於ADA會鍵結在蛋白質藥上而導致感應晶片重量改變，進而促使下方光源的折射角度出現變化如圖6<sup>[10]</sup>，藉由這種方式能夠即時檢測ADA與抗體之間的作用，此外也能檢測到一些較低親和力的ADA<sup>[11]</sup>，同樣的，這種方式無法一次檢測大量的樣品，此外在靈敏度上也較ELISA差。

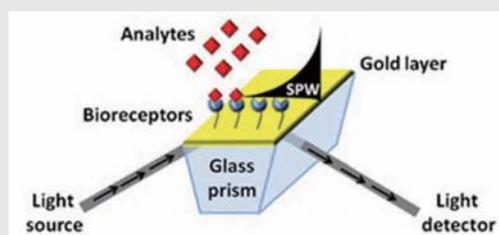


圖6. SPR利用流通管送入樣品至檢測板，檢測板上則固定著蛋白質藥並在下方以光源照入呈現固定的折射角度，若有ADA接上蛋白質藥則會使折射角度改變<sup>[10]</sup> (Anal Bioanal Chem. 2014, 406 (9-10): 2303-2323.)。

在Screening Assay這一階段，可以將分析後得到數據計算出cut-point，將cut-point的數值作為判斷樣品是否為陽性的標準，同時為了驗證該方法的可信度，必須進行選擇性(selectivity)與靈敏度(sensitivity)的測試，前者能夠確保基質的差異對於ADA不具有干擾性；靈敏度分析則透過序列稀釋獲得該分析方式所能測得的最低值<sup>[8]</sup>，並確保該值必須低於cut-point或者是FDA建議的最低濃度 ( $\leq 100$  ng/mL)<sup>[3]</sup>。另一方面，為了解決蛋白質藥半衰期過長，ADA與蛋白質藥成為蛋白質藥 - 抗體複合物 (Drug - Anti - drug antibody complex)，導致無法偵測到ADA的情形(圖7<sup>[12]</sup>)，對於樣品的前處理也相當重要，例如藉由酸化使其分開行成游離狀，接著再以標定好的蛋白質藥去競爭ADA，以確保ADA能夠確實能被偵測到，同時也能進行藥物耐受性 (drug tolerance)的測試。

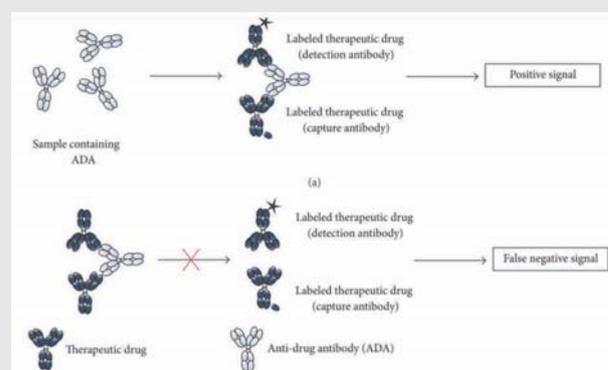


圖7. 當樣品內的蛋白質藥遠大於ADA時，便有可能導致ADA鍵結位皆被蛋白質藥佔據，而無法鍵結帶有檢測標定物的蛋白質藥<sup>[12]</sup> (J Immunol Res. 2016, 1-15.)。

## B. Confirmatory Assay :

經過Screening Assay後，為了進一步的證明這些呈現陽性反應的樣本具有可信度，因此進行驗證性分析，將樣品加入過量的蛋白質藥處理，ADA會與過量的蛋白質藥產生鍵結導致無法與檢測物結合，並與未處理組一起進行抑制率(Inhibition ratio)的比較，若樣品中確實有ADA存在，加入蛋白質藥的處理組抑制率理應會比未處理組來的高，反之若沒有ADA則抑制率與未處理組相比並不會出現顯著的差異，這類樣品稱之為偽陽性<sup>[5]</sup>；而經過Confirmatory Assay判定為陽性的樣品則可以進行Characterization Assay，分析抗體球蛋白種類、親和力與滴定濃度等測試，以獲得ADA的基礎資訊並利於擬定後續的策略<sup>[6]</sup>。

## C. Neutralizing Antibody Assay:

抗體的鍵結若是針對蛋白活化位(epitope site)進行鍵結，導致該蛋白失去原有之功能，抗體則稱為中和性抗體 (Neutralizing Antibody, Nab)，如圖8<sup>[13]</sup>所示。若 ADA 屬於中和性抗體，除了會使蛋白質藥的療效大幅降低以外，還有可能影響到體內重要的生理機制<sup>[4]</sup>，若 ADA 是標記在目標蛋白活化位以外的其他位置則屬於非中和性抗體 (non - Neutralizing Antibody, non-Nab)，則該ADA對於臨床試驗產生的風險就相對較低；為了確保ADA對於蛋白質藥的影響，有兩種方式進行測試，分別為細胞性的分析 (Bioassay) 與非細胞性的分析 (Competitive ligand binding, CLB)<sup>[5]</sup>。

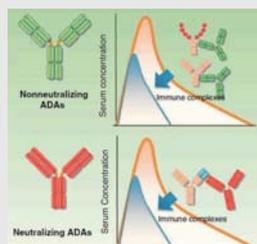


圖8. Nab與non-Nab的連接示意圖，作為Nab的ADA會連接在蛋白質藥的活化位(epitope site)上導致蛋白質藥無法發揮作用，而non-Nab連接在蛋白質藥非epitope site上，對於蛋白質藥的影響較Nab來的小<sup>[13]</sup> (Nat Rev Rheumatol. 2016, 16 (2): 201-211.)。

## 1. Bioassay

細胞性的評估能得知ADA對於蛋白質藥影響及後續產生的生理機制改變，這該項測試會使細胞在欲觀察的代謝路徑中產生訊號，並藉由添加樣品後細胞是否產生訊號來了解ADA是否為Nab(圖9)<sup>[14]</sup>，而在臨床試驗中藉由將含有ADA的樣品與蛋白質藥一起與細胞進行培養，若ADA為non-Nab則蛋白質藥仍可以接上目標物受體並啟動後續的路徑產生可檢測的訊號，反之若樣品中的ADA為Nab則會導致蛋白質藥無法接上目標受體，此時細胞便無法產生訊號，此外除了使細胞釋放訊號外也能設計不同的實驗方式如：細胞增殖、細胞凋零與細胞激素釋放等來達到檢測Nab的目的，然而細胞性的測試方法會有基質干擾的可能性，且整個試驗的開發上不但困難也較費時間<sup>[13]</sup>。

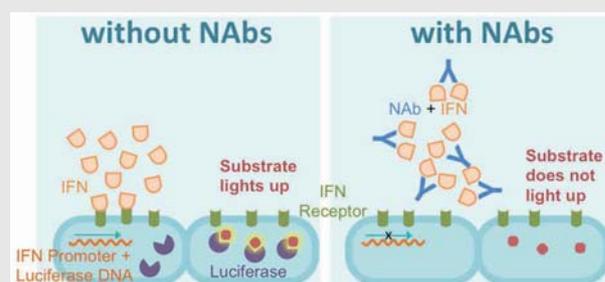


圖9. 以偵測IFN Nab為例，利用細胞釋放訊號檢測Nab的模式圖，在欲觀察的路徑中添加螢光酵素基因(Luciferase DNA)與對應的起動子(IFN Promoter)，並加入IFN與樣品，若樣品中有對應IFN的Nab，則能抑制IFN啟動起動子，導致細胞無法產生螢光訊號<sup>[14]</sup> (J Med Genet. 2014, 51 (6) : 395-400.)。

## 2. CLB

相較於細胞性的測試，非細胞性的測試較容易也能廣泛用於各種檢測系統之中包括ELISA、ELC、RIA、SPR，其實驗設計與ELISA相仿可以分為Direct與Indirect兩種，Direct主要是將蛋白質藥固定於檢測盤上，並加入互相作用的配體(Ligand)或目標蛋白與ADA一同競爭蛋白質藥的結合位，若ADA屬於non-Nab則會使蛋白順利接上蛋白質藥產生可以偵測的訊號；Indirect則是將Ligand固定於檢測盤上面，而蛋白質藥則會抑制被標記的受體(Receptor)與檢測盤上的Ligand結合，若ADA屬於Nab時便會抑制蛋白

質藥的作用，最後便能檢測出Receptor上產生的訊號<sup>[5]</sup>，而CLB的檢測方式雖然能快速的得知ADA對於蛋白質藥結合位的影響，但因為需要對

Ligand或Receptor進行額外標記的修飾，導致其特性有所改變，其數據可能會與臨床上的實驗結果有所差異<sup>[14]</sup>。

## 結論

蛋白質藥的免疫原性是蛋白質藥安全性的重要評估數據之一，而抗蛋白質藥物抗體(ADA)更是應該持續進行監控，目前的檢測方式隨著新技術開發逐漸增多，應配合蛋白質藥的特性選擇適當的分析方法以在更短的時間內獲得具有可信度的實驗數據。表2<sup>[5]</sup>中列出在 Screening Assay 上各項分析方式的優缺點，可以看到在蛋白質藥臨床可以選擇能夠大量篩選樣品的ELISA或ECL作為分析方式，而在後續少數樣品的持續追蹤或針對單一個體不同時間點的ADA變化量，則能藉由RIA或者SPR得到更精準的數據；另一方面，Neutralizing Antibody Assay關係到了ADA是否會降低蛋白質藥的療效，應根據蛋白質藥作用的機制作為參考選擇適當的方法。隨著蛋白質藥的發展，其上市的規範與標準也會越來越嚴謹，由於免疫原性可能導致的風險，因此應在蛋白質藥研發早期便納入重要的評估項目，並在上市後持續監測，以期將蛋白質藥的風險最小化。

Commonly used screening assays.		
Type of Assay	Advantages	Disadvantages
Direct/Indirect ELISA	Easy to use and automate High through-put High therapeutic tolerance Inexpensive Generic reagents and instrument	May bind non-specifically High background May fail to detect low-affinity antibodies Requires species specific secondary reagent
Bridging ELISA	Easy to use and automate High through-put Low background, High therapeutic tolerance in solution phase High specificity (dual-arm binding) Generic reagents and instrument	Antigen labelling required May fail to detect low-affinity antibodies Highly susceptible to interference by therapeutic, serum components e.g., anti-human Ig molecules, multivalent targets May not detect IgG4
Electrochemiluminescence	High through-put, large dynamic range Minimally affected by matrix High tolerance to therapeutic in solution phase Detection signal consistent during life of TAG conjugate	May require two antigen conjugates Antigen labelling required Susceptible to interference by therapeutic, serum components e.g., anti-human Ig molecules, multivalent targets May not detect IgG4
Radioimmunoprecipitation assay	Moderate through-put High sensitivity Can be specific Inexpensive	Vendor-specific equipment & reagents Can be isotype specific May not detect low-affinity antibodies. Requires radiolabelled antigen. Decay of radio-label may affect antigen stability
Surface plasmon resonance	Automated Determines specificity, isotype, relative binding affinity Enables detection of both 'low-affinity' and high affinity antibodies. Detection reagent not required	Antigen immobilization may alter therapeutic. Regeneration step may degrade antigen. Sensitivity often less than binding assay. Expensive vendor-specific equipment & reagents

表2. Screening Assay不同分析方法的差異<sup>[5]</sup> (Biologicals. 2015, 43: 298-306.)。

## 參考文獻：

1. World Health Organization. Guidelines on evaluation of similar biotherapeutic products (SBPS).
2. European Medicines Agency. Guideline on immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins.
3. FDA Guidance for Industry. Assay development and validation for immunogenicity testing of therapeutic proteins.
4. FDA Guidance for Industry. Immunogenicity Assessment for Therapeutic Protein Products.
5. M. Wadhwa, I. Knezevic, H. N. Kang, R. Thorpe. Immunogenicity assessment of biotherapeutic products: An overview of assays and their utility. *Biologicals*. 2015, 43: 298-306.
6. C. Pineda, G. C. Hernández, I. A. Jacobs, D. F. Alvarez, C. Carini. *BioDrugs*. Assessing the Immunogenicity of Biopharmaceuticals. *BioDrugs*. 2016, 30: 195-206.
7. A. Mikulskis, D. Yeung, M. Subramanyam, L. Amaravadi. Solution ELISA as a platform of choice for development of robust, drug tolerant immunogenicity assays in support of drug development. *J Immunol Meth*. 2010, 365 (1-2). 38-49.
8. J.M. Carrascosa. Immunogenicity in Biologic Therapy: Implications for Dermatology. *Actas Dermosifiliogr*. 2013, 104 (6): 471-479.
9. M. Spengler, M. Adlera, C. M. Niemeyer. Highly sensitive ligand-binding assays in pre-clinical and clinical applications: immuno-PCR and other emerging techniques. *Analyst*. 2015, 140 (18):6175-6194.
10. S. Mariani, M. Minunni. Surface plasmon resonance applications in clinical analysis. *Anal Bioanal Chem*. 2014, 406 (9-10): 2303-2323.
11. J. A. Lofgren, S. Dhandapani, J. J. Pennucci, C. M. Abbott, D. T. Mytych, A. Kaliyaperumal, S. J. Swanson, M. C. Mullenix. Comparing ELISA and Surface Plasmon Resonance for Assessing Clinical Immunogenicity of Panitumumab. *J Immunol*. 2007, 178 (11): 7467-7472.
12. J. C. Brose, P. J. Couble, M. R. Deehan, R. J. Nelson, W. G. Ferlin, S. Lory. Evaluation of Multiple Immunoassay Technology Platforms to Select the Anti-Drug Antibody Assay Exhibiting the Most Appropriate Drug and Target Tolerance. *J Immunol Res*. 2016, 1-15.
13. P. A. van Schouwenburg, T. Rispens, G. J. Wolbink. Immunogenicity of anti-TNF biologic therapies for rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2016, 16 (2): 201-211.
14. C. Núñez, M. C. Cé nit, R. Alvarez-Lafuente, J. R í o, M. Fern á ndez-Arquero, R. Arroyo, X. Montalb á n, O. Fern á ndez, B. Oliver-Martos, L. Leyva, M. Comabella, E. Urcelay. HLA alleles as biomarkers of high-titre neutralising antibodies to interferon- $\beta$  therapy in multiple sclerosis. *J Med Genet*. 2014, 51 (6): 395-400.

## 參展資訊-

### ◆ BioPharma Asia 2017 展會圓滿落幕

明生公司於3月份參加BioPharma Asia Convention 2017展會，與來自新加坡當地公司與中國、馬來西亞、印度及世界各地的生物藥品公司進行超過二十個以上的一對一會談，提供實驗室的全方位分析服務解決方案，緊密地將實驗室與生技藥品開發及臨床服務公司連結整合，同時間也了解生物藥品開發在亞太區的發展現況。展會有多家生技公司的成果發表，與多項相關服務產業鏈的展出與介紹，顯示各國生技醫藥領域仍加速成長中。大會有多場演講主題，包含新藥開發、藥品製造、分析方法、臨床試驗、法規議題與投資市場等項目；新藥開發講題包含創新的細胞治療，免疫療法與精準醫學等議題，生物藥品製造則有來自各大藥廠針對製程開發與品質管制等議題分享，整場會議圍繞在生物藥品領域上。明生公司在會場展示各藥品分析項目的解決方案，導入蛋白質藥品與小分子藥物的CRO臨床檢體分析服務，吸引與會者的目光，展開多項熱烈的案件討論，期待藉由國際委託與合作案件，持續累積豐富的藥品開發經驗。



### ◆ BIOtech Japan 2017 (攤位編號：W19-46) 與 BioTaiwan 2017 參展預告

明生公司將於6月28-30日參加於日本東京國際展示場(Tokyo Big Site) 舉辦之生技聯展，該展會去年於五月舉辦，有超過26個國家、500家以上生技業者參展，是亞洲指標性的生技展會之一，今年移至六月擴大舉行，同場加映第一屆的生技藥品博覽會 (BioPharma Expo)，預期將有超過1800家以上的廠商參與。明生公司亦將於6月29日至7月2日參加於南港展覽館舉辦之台灣生技展，此次生技月之議程，邀請許多國內外的生技業者進行專題演講，並有專題議程討論 開創生物製劑產業的挑戰，顯見生物藥品在國內製藥產業逐漸開發成熟，生技展是國內生技界的一大盛事，竭誠歡迎各位生技界的先進們，親臨現場與我們共襄盛舉。



# 專業生物藥品分析服務

## Expert Analytical Services for Biologics

### 生物藥品與生物相似藥之質譜分析

#### LC-MS Based Analysis for Biologics Development

- mAb, ADC, Peptides, Glycoproteins, Recombinant Proteins, Vaccine
- ☑ Full Structural Characterization
- ☑ Determination of Impurities
- ☑ Production Optimization
- ☑ Comparability Studies of Biosimilars
- ☑ QC Release Testing
- ☑ Stability Testing

### 依據ICH Q6B準則執行GLP生物藥品分析服務

#### GLP Bioanalytical Services in Accordance with ICH Q6B

- ☑ Physicochemical Characterization
  - Molecular Weight and Size
  - Amino Acid Sequencing
  - Terminal Sequencing
  - Peptide Mapping
  - Disulfide Bridges
  - Carbohydrate Structure
- ☑ Process- and Product-related Impurities
  - Truncated Forms
  - Post-translational Modifications
  - Host Cell Proteins
  - Antibiotics

### 藥品臨床試驗分析與客製化方法開發

#### Bioanalysis & Customized Method Development

- ☑ ELISA Assay
- ☑ BA/BE/PK Studies
- ☑ Biomarker Discovery and Verification
- ☑ Immunogenicity

