

TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F 及び TOYOPEARL NH₂-750F を用いたヒトモノクローナル抗体(IgG₁)の精製

Purification of human monoclonal antibody(IgG₁) using TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F and TOYOPEARL NH₂-750F

抗体の精製では、プロセスの初期工程に Protein A 充填剤を用いたアフィニティークロマトグラフィーが、続く工程では、試料の性状、目的に応じてイオン交換、疎水、ミックスモードクロマトグラフィーが多用されます。本報では TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F 及びイオン交換体の TOYOPEARL NH₂-750F を用い、CHO 細胞培養上清からヒト抗体(IgG₁)を精製した例を紹介します。

図 1 に精製の手順を示します。TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F を充填した ToyoScreen® 1 mL カラムを吸着液で平衡化し、CHO 細胞培養上清(力価:1.5 g/L)を 10 mL 添加しました。再度吸着液 10 mL を送液し未吸着成分の洗浄を行った後、純水 3 mL を送液しカラム内の吸着液成分を除去しました。抗体の溶出には 20 mmol/L 酢酸水溶液(pH 3.0)を用いました。20 mmol/L トリス塩酸塩緩衝液(pH 8.0)で平衡化した TOYOPEARL NH₂-750F を充填した ToyoScreen 1 mL に得られた抗体画分 5 mL を添加しました。塩濃度グラジエント法で溶出させ、溶出画分を 2 mL 毎に分取しました。精製した抗

体の純度及び回収率は、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)を用いて確認しました。

試料に用いた CHO 細胞培養上清と Protein A カラムを用いて精製した後の SEC クロマトグラムを図 2 に示します。Protein A カラムで精製した抗体画分ではわずかに低分子の不純物が認められるものの、純度としては 95 %まで精製できました。この抗体画分をさらに TOYOPEARL NH₂-750F を用いて精製しました(図 3)。分取した画分の SEC 測定結果より、抗体は純度 99 %、回収率 79 %まで精製できることが確認できました(図 4)。また、未吸着(フロースルー)画分は Protein A カラム精製時の低分子不純物であることも確認できました。SEC では抗体の凝集体は確認できませんでしたが、会合体である二量体と思われる成分が 1.2 %含まれていることが判りました。なお、今回の検討では HCP の混在については確認しておりません。TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F を用いた HCP の除去については TOYOPEARL INFORMATION No.002 で紹介していますので参照ください。

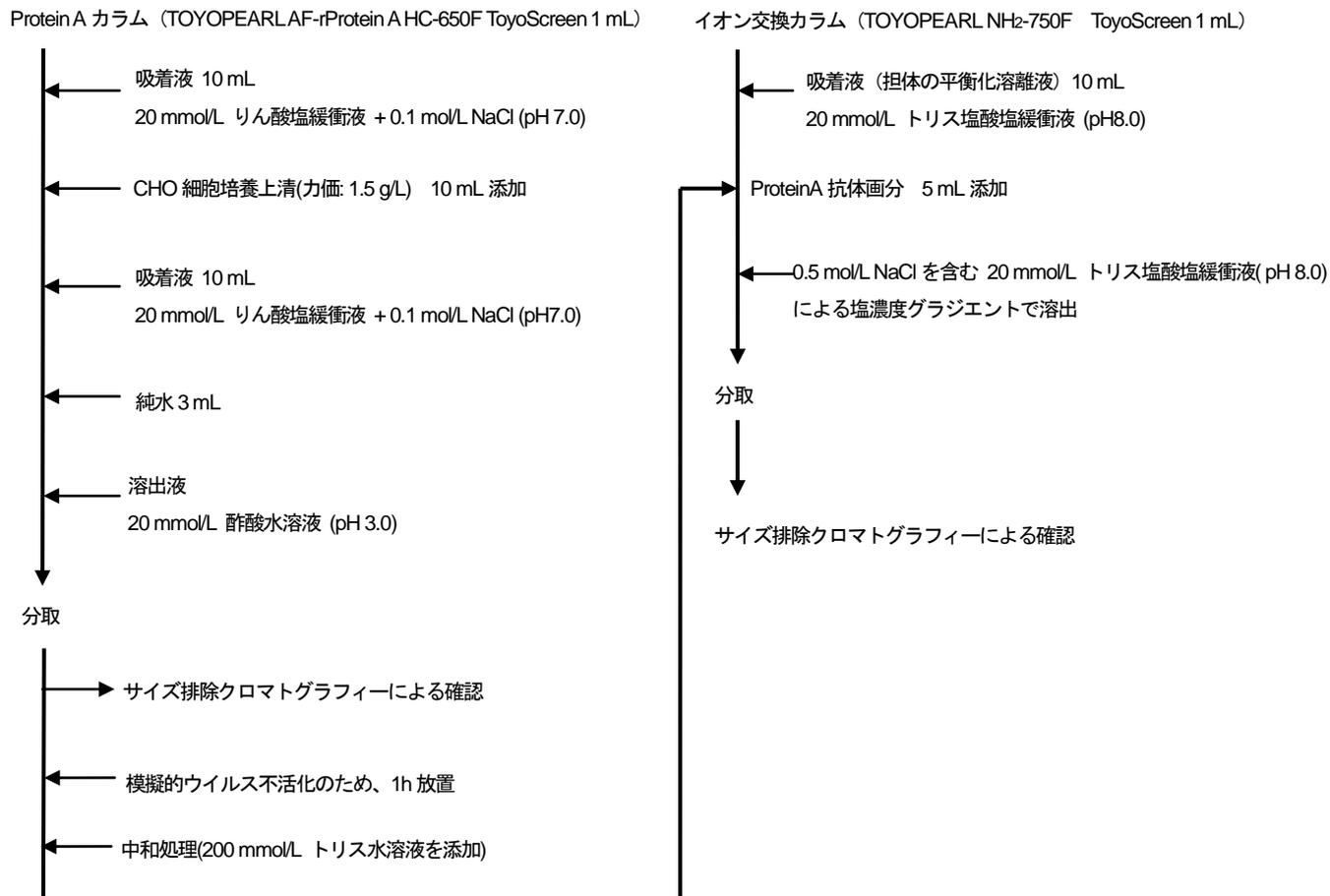


図 1 精製の手順

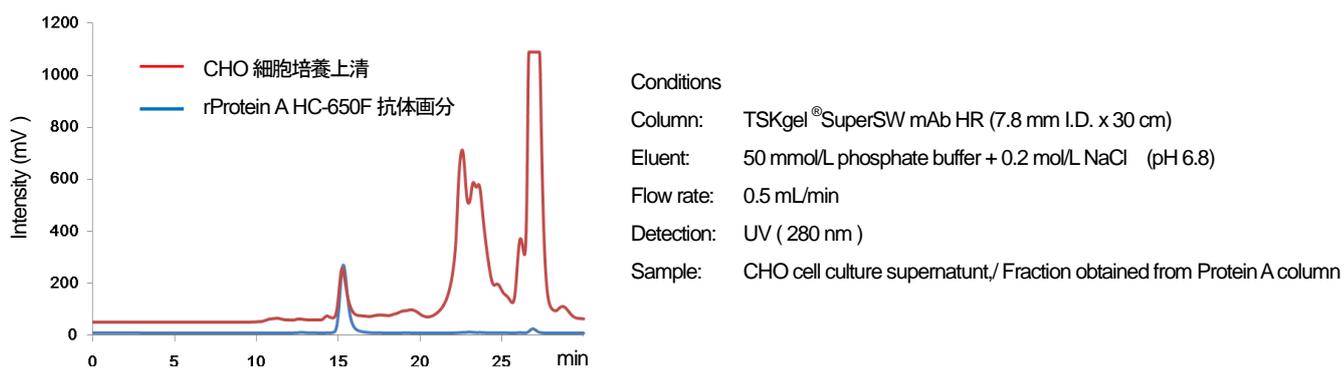


図 2 TOYOPEARLAF-rProtein A HC-650F を用いた抗体精製前後の SEC クロマトグラム

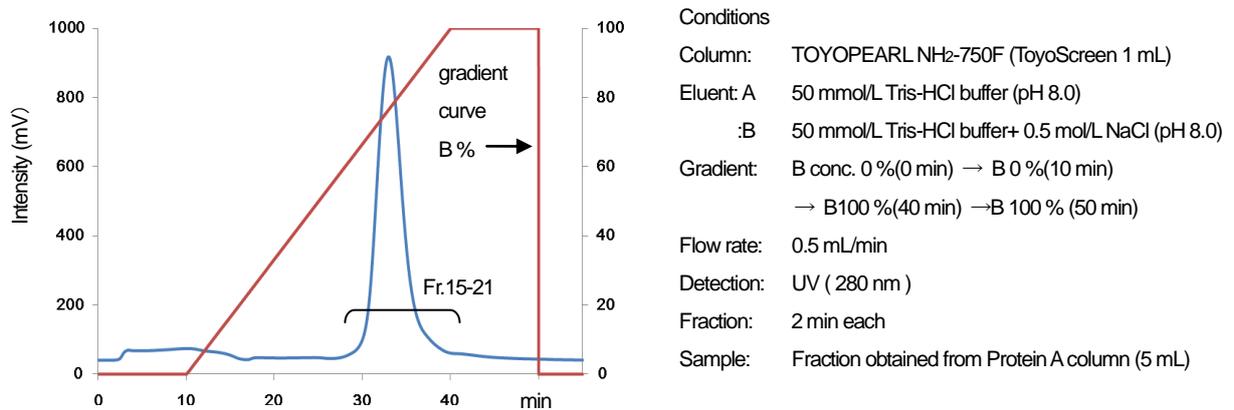


図3 TOYOPEARL NH₂-750F を用いた Protein A 抗体画分の分離

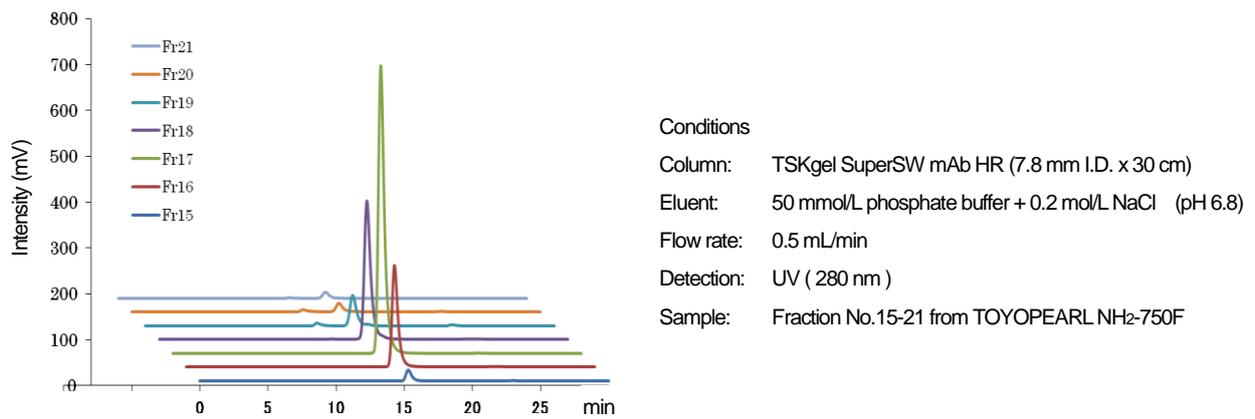


図4 抗体精製確認の SEC クロマトグラム

TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F 充填剤

品番	品名	容量
0023425	TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F	10 mL
0023426	TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F	25 mL
0023427	TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F	100 mL
0023428	TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F	1 L
0023429	TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F	5 L

TOYOPEARL NH₂-750F 充填剤

品番	品名	容量
0023439	TOYOPEARL NH ₂ -750F	250 mL
0023440	TOYOPEARL NH ₂ -750F	1 L
0023441	TOYOPEARL NH ₂ -750F	5 L

ToyoScreen スクリーニング用カラム

品番	品名	内容
0023430	ToyoScreen AF-rProtein A HC-650F	1 mL タイプ 5 本
0023431	ToyoScreen AF-rProtein A HC-650F	5 mL タイプ 1 本
0023432	ToyoScreen AF-rProtein A HC-650F	5 mL タイプ 5 本
0023443	ToyoScreen NH ₂ -750F	1 mL タイプ 6 本
0023444	ToyoScreen NH ₂ -750F	5 mL タイプ 6 本
0021400	ToyoScreen Holder	—

MiniChrom TOYOPEARL の充填カラム

品番	品名	カラムサイズ
0045161	TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F	8 mm I.D. x 10 cm
0045108	TOYOPEARL NH ₂ -750F	8 mm I.D. x 10 cm

RoboColumn[®] 96 ウェルマイクロプレート用トヨパール充填ミニカラム

品番	品名	容量
0045063	TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F	200 µL x 8
0045064	TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F	600 µL x 8
0045021	TOYOPEARL NH ₂ -750F	200 µL x 8
0045022	TOYOPEARL NH ₂ -750F	600 µL x 8

TSKgel サイズ排除クロマトグラフィー用充填カラム

品番	品名	カラムサイズ
0022854	TSKgel SuperSW mAb HR	7.8 mm I.D. x 30 cm
0022855	TSKgel SuperSW mAb HTP	4.6 mm I.D. x 15 cm



※“TOYOPEARL”、“TSKgel”、“ToyoScreen”は日本における東ソー株式会社の登録商標です。

※“RoboColumn”はRepligen社の登録商標です。

※掲載のデータ等はその数値を保証するものではありません。お客様の使用環境・条件・判断基準に合わせてご確認ください。

東ソー株式会社 バイオサイエンス事業部

東京本社 営業部 ☎(03) 5427-5180 〒105-8623 東京都港区芝3-8-2
 大阪支店 バイオサイエンスG ☎(06) 6209-1948 〒541-0043 大阪市中央区高麗橋4-4-9
 名古屋支店 バイオサイエンスG ☎(052) 211-5730 〒460-0008 名古屋市中区栄1-2-7
 福岡支店 ☎(092) 781-0481 〒810-0001 福岡市中央区天神1-13-2
 仙台支店 ☎(022) 266-2341 〒980-0014 仙台市青葉区本町1-11-1
 カスタマーサポートセンター ☎(0467) 76-5384 〒252-1123 神奈川県綾瀬市早川2743-1

お問い合わせe-mail hlc@tosoh.co.jp

バイオサイエンス事業部ホームページ <http://www.separations.asia.tosohbioscience.com/>

