

TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F による抗体薬のバイオシミラーの精製

Purification of Therapeutic Antibody Biosimilars on TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F

抗体医薬品は、これまで 50 品目以上が認可され、その市場規模は年々拡大を続けています。新薬が次々に開発される一方、1990 年代に上市されたハーセプチン®、リツキシサン®といったブロッグバスター医薬品が特許切れを迎えつつあることから、抗体薬のバイオシミラーの開発も数多く進められています。

抗体薬の精製プロセスにおいては、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、高い効率の点で広く使用されています。本報では、TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F と他社品（アガロースベースの高吸着タイプ Protein A 充填剤）を抗体薬のバイオシミラーの精製に適用し、両者を比較しました。

検討に用いた抗体（トラスツズマブ、アダリムマブ、ベバシズマブのバイオシミラー）は、いずれも CHO 細胞培養により調製しました。各抗体の動的吸着量（滞留時間 4 分）及び回収率の比較結果を図 1、2 に示します。いずれの抗体も TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F

でより高い吸着量、回収率が得られ、特に吸着量はトラスツズマブで 1.1 倍、アダリムマブで 1.3 倍、ベバシズマブで 1.4 倍の結果となりました。このように抗体種によって Protein A 充填剤への吸着量、回収率に差が出るため、抗体種毎に性能検討を行うことが重要であることがわかりました。

図 3、4 は、HCP 及び DNA の除去効果を比較した結果です。TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F、他社品のいずれも同等の除去効果を示しました。

抗体精製プロセスにおいて、Protein A 充填剤のコストは大きな比率を占めます。吸着量、回収率の高い TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F を用いることで抗体精製コストを低減することが可能です。

* 本資料における抗体試料の調製、測定は全て Bioprocessing Technology Institute（シンガポール）にて実施されたものです。

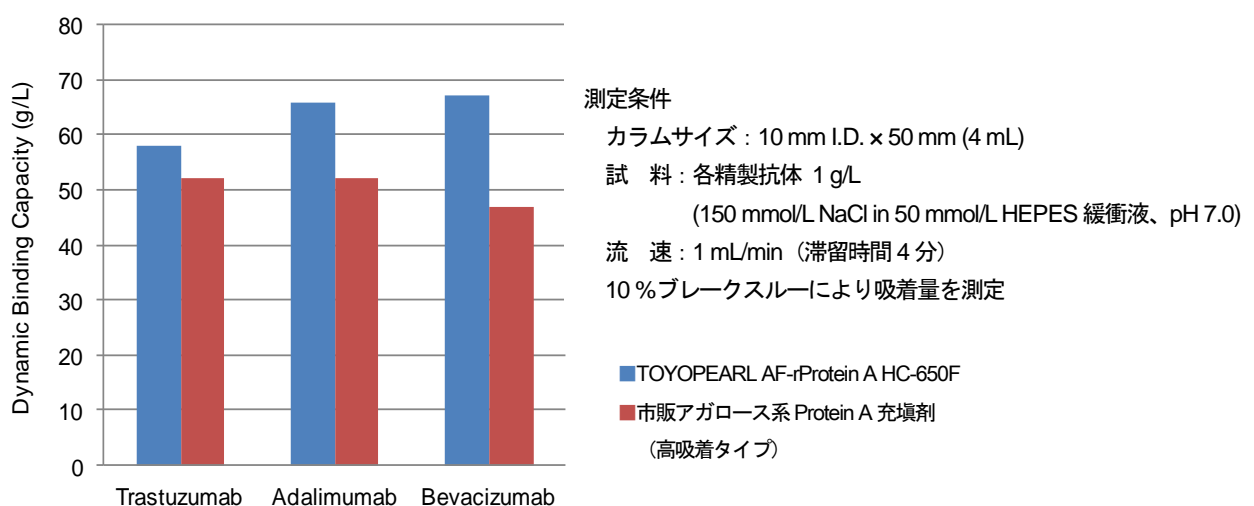


図 1 抗体動的吸着量の比較

回収率、残存 HCP、残存 DNA の測定条件

カラムサイズ : 10 mm I.D. × 50 mm (4 mL)

手順 :

- 1) 150 mmol/L NaCl in 50 mmol/L HEPES 緩衝液 (pH 7.0) にて平衡化 (2.0 mL/min, 5 CV)
- 2) CHO 細胞培養上清試料 (遠心、0.22 μm フィルターろ過、抗体量として 160 mg) を負荷 (1.0 mL/min)
- 3) 150 mmol/L NaCl in 50 mmol/L HEPES 緩衝液 (pH 7.0) にて洗浄 (1.0 mL/min, 2 CV)
- 4) 2.0 mol/L NaCl in 50 mmol/L HEPES 緩衝液 (pH 7.0) にて洗浄 (1.0 mL/min, 5 CV)
- 5) 150 mmol/L NaCl in 50 mmol/L HEPES 緩衝液 (pH 7.0) にて洗浄 (1.0 mL/min, 3 CV)
- 6) 100 mmol/L 酢酸塩緩衝液 (pH 3.0) にて抗体を溶出

フラクション : UV (280 nm) にてモニターし、吸光度が 50 mAU 以上か、上昇時の変化率が 100 mAU/min に達した時点から下降時の変化率が 100 mAU/min 以下になるまでを回収し各種測定を行った。

抗体回収率測定 : TSKgel® G3000SW_{XL} を用いたサイズ排除クロマトグラフィーで定量

HCP 測定 : Generation III CHO HCP kit (Cygnus Technologies) を用いて定量

DNA 測定 : QX100 Droplet Digital PCR System (Bio-Rad Laboratories) を用いて定量

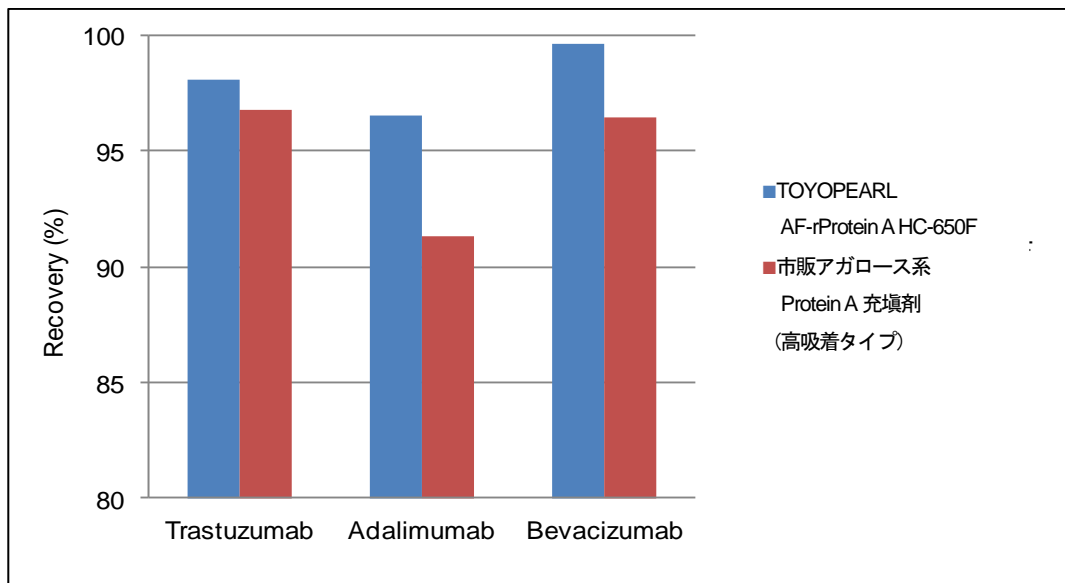


図2 抗体回収率の比較

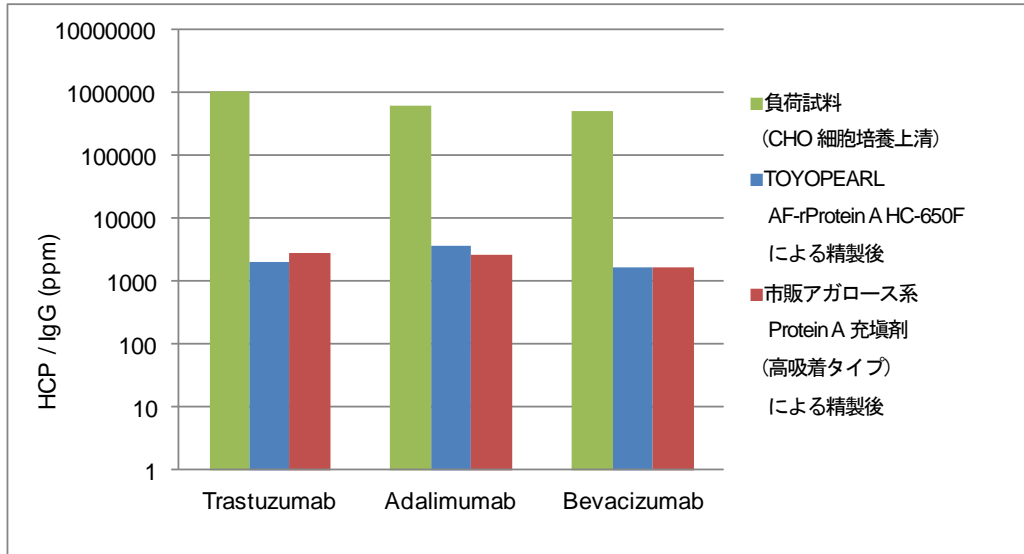


図3 HCP 除去効果の比較

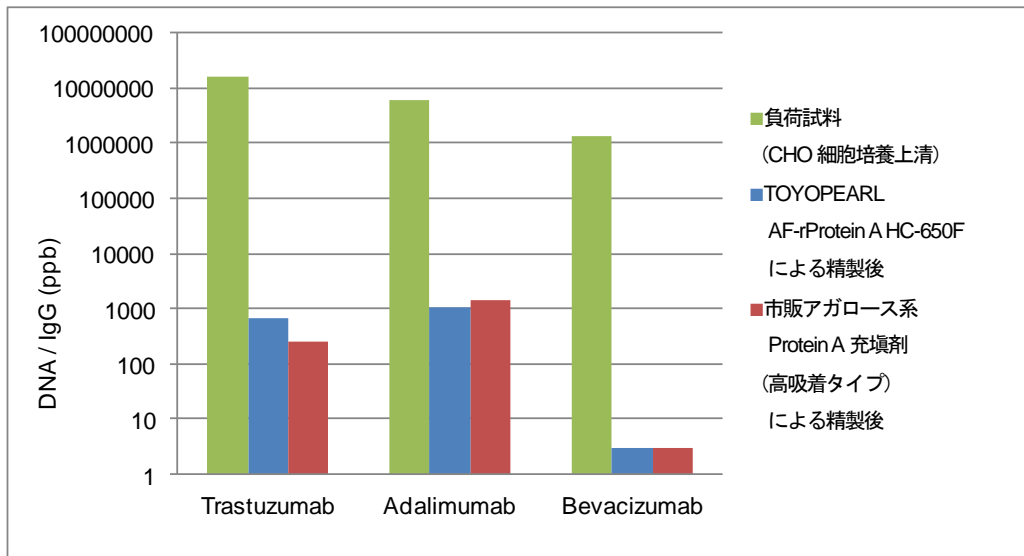


図4 DNA 除去効果の比較

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

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
0021400	ToyoScreen Holder	—

MiniChrom

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

RoboColumn®

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



※“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 Atoll GmbH 社の登録商標です。

※“ハーセプチン”、“リツキサン”はジェネンテック社の登録商標です。

※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 ☎(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 ☎(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
 山口営業所 ☎(0834) 63-9888 〒746-0015 山口県周南市清水1-6-1
 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/>

