

# 組換え断片抗体(Fab)の精製は、これで決まり！

TOYOPEARL® AF-rProtein L-650F による抗体断片不純物の分離  
(オープンアクセス学術論文から)



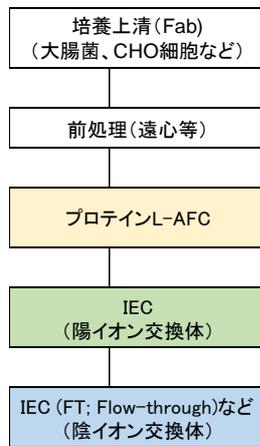
遺伝子組み換えによる断片抗体 (Fab) などの低分子抗体は、完全抗体に比較して分子サイズが小さいため拡散、浸透性に優れ、Fc レセプターに起因する相互作用・副作用がないという利点もあります。また、大腸菌や CHO 細胞などにより高濃度、大量発現が可能なため、抗体医薬品や診断薬への応用が期待されています。

一般に低分子抗体の精製法としては、プロテイン L アフィニティークロマトグラフィー (AFC) がキャプチャー工程に、これに続くイオン交換クロマトグラフィー (IEC) 等がポリッシング工程に多用されます。以下にプロテイン L をリガンドとした低分子抗体の分離精製に関する文献を紹介します。

## ●抗体の基本構造と、抗体の分離に使用されるアフィニティークロマトグラフィー用リガンド

抗体構造	結合部位	AFC用リガンド	対象試料
	VH (VH3)	プロテインA	IgG, Fab, F(ab)2, scFv, VH domain
	CH1	プロテインG 断片抗体	IgG, Fab, minibody
	CH2 (-CH3; Fc)	プロテインA	IgG, Fc fusion protein
	CH3	プロテインG 断片抗体	
	Fc; N-glycan	Fcレセプター	
L鎖	VL	プロテインL	Fab, F(ab)2, scFv, diabody, minibody, VL domain, dAb
	CL (Kappa) (Lambda)	断片抗体	Fab, F(ab)2, scFv, diabody, minibody, dAb

### (精製プロセス例)



### (充填剤例)

TOYOPEARL AF-rProtein L-650F  
(TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F)  
(その他、Protein G または抗体特異的AFC)

TOYOPEARL Sulfate-650F  
TOYOPEARL GigaCap® S-650M  
TOYOPEARL MX-Trp-650M (MXC)

TOYOPEARL NH<sub>2</sub>-750F  
TOYOPEARL GigaCap Q-650M  
(その他、疎水クロマトグラフィー用充填剤など)

## ●プロテイン L-アフィニティークロマトグラフィー等を用いた大腸菌や CHO 細胞からの低分子抗体の分離に関する文献

No.	Literature	Sample	Source	Chromatography
1	C. Schimek et al., Three -dimensional chromatography for purification and characterization of antibody fragment and related impurities from <i>Escherichia coli</i> crude extract, J. Chromatogr. A, 1638 (2021) 461072, DOI: 10.1016/j.chroma.2020.461702	Fab	E. coli	ProL, ProG, IEC
2	S.W. Chen et al., Investigation of the effect of salt additives in Protein L affinity chromatography for the purification of tandem single chain variable fragment bispecific antibodies, MABS, 12 (2020) e1718440, <a href="https://doi.org/10.1080/19420862.2020.1718440">https://doi.org/10.1080/19420862.2020.1718440</a>	scFv	CHO cell	ProL, MXC*
3	M. Luo et al., A general platform for extracellular expression and purification of Fab from <i>Escherichia coli</i> , Applied Microbiology and Biotechnology, 103 (2019) 3341-3353, <a href="https://doi.org/10.1007/s00253-019-09745-8">https://doi.org/10.1007/s00253-019-09745-8</a>	Fab	E. coli	ProL, Immuno-AFC
4	A. Bates et al., (Review) David vs. Goliath: The Structure, Functions, and Clinical Prospects of Antibody Fragments, Antibodies, 8 (2019) 28; doi:10.3390/antib8020028	Various fragments	E. coli	ProL, IEC, MXC
5	S. Lukaszewicz et al., Different Strategies used in the Production of human monoclonal scfv Antibodies Specific to Dimers of Membrane Receptors, J. Biology and Medicine, 3 (2019) 014-020, <a href="http://dx.doi.org/10.17352/bm.000007">http://dx.doi.org/10.17352/bm.000007</a>	scFv	E. coli, insect cell	ProL
6	J. Vadjia et al., Effective wash solution to improve removal of <i>E. coli</i> HCP in Pro L chromatography of scFv, 2017 PREP poster	scFv	E. coli	ProL
7	Z. Lakhfir et al., A method to confer Protein L binding ability to any antibody fragment, MABS, 8 (2016) 379-388, <a href="http://dx.doi.org/10.1080/19420862.2015.1116657">http://dx.doi.org/10.1080/19420862.2015.1116657</a>	scFv	E. coli	ProL
8	G. Rodorigo et al., (Review) Antibody Fragments and Their Purification by Protein L Affinity Chromatography, Antibodies, 4 (2015) 259-277, doi:10.3390/antibi4030259	Fab, scFv, dAb	E. coli	ProL, MXC
9	R. Rouet et al., Expression of high-affinity human antibody fragments in bacteria, Nature Protocol, 7 (2012) 364, doi:10.1038/nprot.2011.448	scFv	E. coli	ProL, ProA

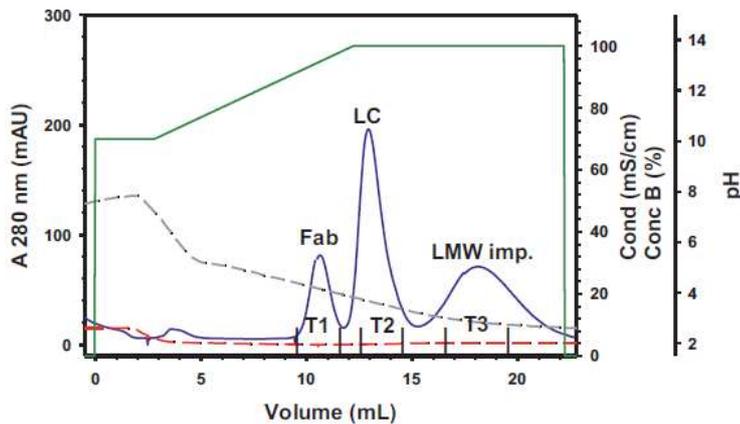
\* MXC; mixed (multi)-mode chromatography

## ●大腸菌からの組み換え Fab と関連する不純物の分離精製例（文献 No. 1）

### （要旨）

- ・大腸菌由来の組み換え低分子抗体(Fab)の精製法の確立ならびに、関連する不純物の分離と同定を実施した。
- ・4種類の組み換え Fab をプロテイン L-AFC、プロテイン G-AFC および陽イオン交換クロマトグラフィーを用いた三ステップのクロマトグラフィーにより精製し、質量分析による解析を行った。
- ・精製品中の Fab 異性体や、Fab に関連する不純物である L 鎖 (LC) および L 鎖の低分子断片 (LMW) を同定した。
- ・自動化された Fab の精製および解析法の確立は、産生株や培養条件の至適化を容易にした。

## ●プロテイン L-AFC による大腸菌からの組み換え Fab と関連不純物の分離精製例（文献 No. 1 より）



TOYOPEARL AF-rProtein L-650F により  
目的物の Fab と、関連する不純物である、  
L 鎖 (LC) および LC 低分子断片 (LMW) が  
良好に分離されました

Ref.: C. Schimek et al., Three-dimensional chromatography for purification and characterization of antibody fragments and related impurities from *Escherichia coli* crude extracts, J. Chromatography A, available on line November 13, 2020, 461702, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461702>

## ●プロテイン L-AFC 用充填剤および抗体関連スクリーニング用カラム製品一覧表

品番	品名	粒子径 (μm)	容量** (mL)	備考
0023486	TOYOPEARL AF-rProtein L-650F	30 - 60	10	充填剤 (ポトル)
0045200	SkillPak TOYOPEARL AF-rProtein L-650F	30 - 60	1 mL x 1本	カラム
0045221	SkillPak TOYOPEARL AF-rProtein L-650F	30 - 60	1 mL x 5本	カラム
0045257	SkillPak TOYOPEARL AF-rProtein L-650F	30 - 60	5 mL x 1本	カラム
0045228	SkillPak Antibody (TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F, AF-rProtein L-650F, NH <sub>2</sub> -750F, Sulfate-650F, GigaCap Q-650M, GigaCap S-650S)	-	1 mL x 6種類 x 1本	カラム
0045229	SkillPak mAb Platform (TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F, NH <sub>2</sub> -750F, Sulfate-650F)	-	1 mL x 3種類 x 2本	カラム
0045232	SkillPak Best-in-Class (Ca <sup>++</sup> Pure-HA*, TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F, AF-rProtein L-650F, NH <sub>2</sub> -750F, Sulfate-650F)	-	1 mL x 5種類 x 1本	カラム

\*Ca<sup>++</sup>Pure-HAは米国産製品であるため、米国輸出規制法令の対象となります

\*\*充填剤は、グレードにより異なる粒子径および異なる容量の製品があります

SkillPakには 1 mLカラム (7 mm I.D. x 2.5 cm) と 5 mLカラム (8 mm I.D. x 10 cm) があります

1 mLタイプは、入口：「品番0017955 オシネ (フェラル付)」を使用、「品番0016566 ハンディコネクタ・1/16" (PEEK)」は使用不可

出口：メスコネクタに直接接続可能、オスコネクタに接続する場合はユニオン (「品番0017898オシネユニオン」) 等を使用

5 mLタイプは、入口、出口：「品番0016566 ハンディコネクタ・1/16"」あるいは「品番0017955 オシネ (フェラル付)」を使用



※ "TOYOPEARL"、"TOYOPEARL GigaCap"、"トヨパール"、"TSKgel"は日本等における東ソー株式会社の登録商標です

※ "Ca<sup>++</sup>Pure-HA"は日本等における Tosoh Bioscience LLC の登録商標です

※ "SkillPak"は Tosoh Bioscience LLC の製品名です

※ 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12743-1

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

HPLC Applications Database <https://www.separations.asia.tosohbioscience.com/applications-database-jp>

お問い合わせE-mail [hlc@tosoh.co.jp](mailto:hlc@tosoh.co.jp)