

## バイオシミラー抗体の糖鎖評価はこれで決まり！

FcR アフィニティーカラムは、抗体のレセプターFcγRIIIa に対する親和性を良く認識



中国のバイオシミラー抗体開発企業が自社開発したバイオシミラー抗体とオリジナルのハーセプチン®を用いて、糖鎖の違いや生物活性などの重要品質特性を詳細に比較し、以下の論文を發表しました。著者らはアフィニティーカラム TSKgel FcR-III A-NPR® (FcR カラム) を用いることで、抗体依存性細胞傷害 (ADCC) 活性と相関のある抗体レセプターFcγRIIIa との親和性情報を定量的に得られ、抗体医薬品の糖鎖に関するバイオシミラリティ評価に有用であったと報告しています。

BioDrugs. 2020 Feb 18. doi: 10.1007/s40259-020-00407-0.

**Demonstrating Analytical Similarity of Trastuzumab Biosimilar HLX02 to Herceptin® with a Panel of Sensitive and Orthogonal Methods Including a Novel FcγRIIIa Affinity Chromatography Technology.**

Xie L, Zhang E, Xu Y, Gao W, Wang L, Xie MH, Qin P, Lu L, Li S, Shen P, Jiang W, and Liu S

<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs40259-020-00407-0>

(要旨)

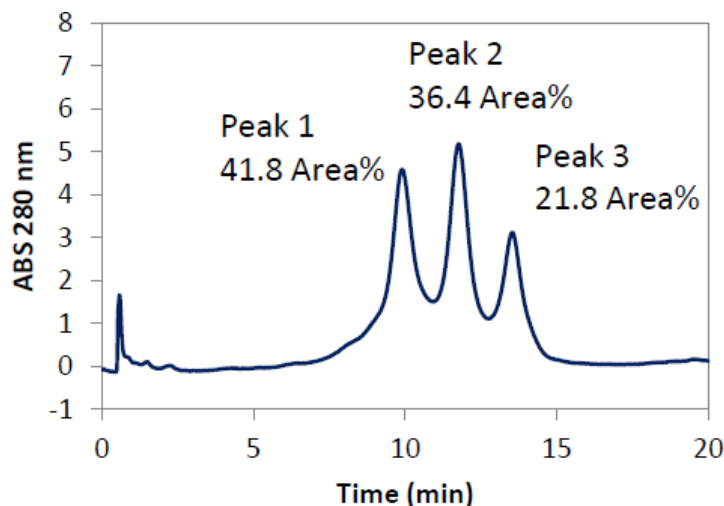
- ・バイオシミラー抗体 HLX02 と、オリジナルのリファレンス抗体 (RP) であるハーセプチン (欧州製造品および中国製造品) について、その重要品質特性を評価した。
- ・FcR カラムで RP を分析した。得られた3つの抗体溶出ピークについて、それぞれ糖組成 (G0F 比率、ガラクトース比率、脱フコース比率など) を分析した結果、溶出ピークと糖組成の間に相関があることがわかった。
- ・バイオシミラー抗体 HLX02 と RP に関して、FcR カラムを用いて、抗体 (3 番目の溶出ピークの比率) の製造ロットのトレンド解析を行った。その結果、RP の初期製造ロットは、最後に溶出するピークの比率が高かったものの、その後一旦ピーク比率は低下し、再び、初期のピーク比率まで回復する傾向が見られた。
- ・FcR カラムのクロマトグラム (3 番目のピークの比率) を指標として、製造ロットを高親和性、低親和性抗体の2つのグループに明確に分けることができた。
- ・バイオシミラー抗体 HLX02 は、RP の欧州および中国製造品の両方に高い類似性を示すが、FcγRIIIa に対する親和性に関しては、RP のうち高い親和性を持つ製造ロットに類似していることがわかった。
- ・FcR カラムは、バイオシミラー抗体の類似性評価に有用であることがわかった。

**FcγRIIIa への親和性評価では、FcR カラムによる3つの抗体ピーク (特に3番目のピークの比率) の分析手法が、表面プラズモン共鳴法 (SPR) よりも数値変化 (差異) に対する感度が高く、より明確に抗体製造ロットのグループ分けができたことから、FcR カラムが非常に有用であることが示された (論文、図8)。**

### ●TSKgel FcR-III A-NPR カラムの主な分析用途 (抗体の糖鎖の違いをクロマトピークで確認)

- ・細胞株 (セルライン) による抗体の糖鎖性状の違いの評価 (CHO、HEK 細胞など)、細胞株スクリーニング
- ・細胞培養培地への添加試薬の最適化検討
- ・細胞培養時の培養日数と抗体の糖鎖性状の経時変化の確認
- ・細胞培養容量のスケールアップや培養法の変更時における抗体の糖鎖性状の変化の有無の確認
- ・精製抗体のバッチ・リリーステストとしての抗体の糖鎖性状の確認
- ・バイオシミラー抗体とオリジナル・リファレンス抗体との類似性の評価

## ●TSKgel FcR-III A-NPR によるモノクローナル抗体医薬品の分離



### 分析条件

溶離液; バッファーA: 50 mmol/L クエン酸ナトリウムバッファー (pH 6.5)  
 バッファーB: 50 mmol/L クエン酸ナトリウムバッファー (pH 4.5)  
 リニアグラジエント; バッファーB: 0 - 100 % (2 - 20 分)  
 流速; 1.0 mL/min  
 検出; UV (280 nm)  
 温度; 25 °C  
 試料; モノクローナル抗体 (IgG<sub>1</sub>)

### その他の参考文献

- FcR カラムで分離した3つの抗体ピークのオリゴ糖鎖構造と生理活性の関係を分析、また抗体とFcR の結合様式も解析**  
 M. Kiyoshi et al., Assessing the Heterogeneity of the Fc-Glycan of a Therapeutic Antibody Using an Engineered Fcγ Receptor IIIa-immobilized Column, Scientific Reports, 2018, 8:3995
- 均一オリゴ糖鎖を付加した人工抗体の糖鎖構造と活性性能を比較、FcR カラムでの人工抗体の分離挙動を比較分析**  
 R. Wada et al., Influence of N-glycosylation on effector functions and thermal stability of glycoengineered IgG1 monoclonal antibody with homogeneous glycoforms, MAbs. 2019 Feb/Mar; 11(2):350-372.
- FcR カラムで分離した抗体の3つのピーク分画をLC/MS で分離、糖鎖構造を解析**  
 Tosoh Bioscience, Characterization of TSKgel FcR-III A-NPR HPLC Column by Top Down Mass Spectrometry, LCGC North America, 37(2) (2019) p142-144
- 細胞株(セルライン)の異なる抗体を FcR カラムで分析し、各抗体ピークの糖鎖構造を解析**  
 H. Kosuge et al., Highly sensitive HPLC analysis and biophysical characterization of N-glycans of IgG-Fc domain in comparison between CHO and 293 cells using FcγRIIIa ligand, <https://doi.org/10.1002/btpr.3016>

## ● TSKgel FcR-III A-NPR 製品一覧表

品番	品名	粒子径 (μm)	カラムサイズ	備考
0023513	TSKgel FcR-III A-NPR	5	4.6 mm I.D. x 7.5 cm	抗体のFc糖鎖構造の分析
0018014	ラインフィルタキット(PEEK)	-	-	TSKgel FcR-III A-NPR用
0018021	ラインフィルタエレメント(PEEK)	-	-	ラインフィルタキット(PEEK)補充用メンブラン

※分取カラムにつきましては、当社営業員まで問合せください



※本研究の一部は国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) の「次世代医療・診断実現のための創薬基盤技術開発事業」の支援によって行われました。課題番号: 2017 年度: JP17ae0101003  
 ※ "TSKgel", "NPR" は日本等における東ソー株式会社の登録商標です  
 ※ "ハーセプチン"、"Herceptin" は Genentech 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

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)