

TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F からのリガンド漏出に関する検討

Ligand Leakage from TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F

TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F は、高吸着タイプの耐アルカリ性リコンビナント Protein A 固定化担体で、抗体医薬品の精製に適しています。一般に Protein A 充填剤を用いた精製では、抗体を中性溶液で吸着させ、酸性溶液で溶出させますが、その際に、担体から Protein A リガンドが漏れ出し、精製液中に混入する可能性が指摘されています。

本報では、精製における種々のパラメータが TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F のリガンド漏出量に与える影響について調べました。合わせて、TOYOPEARL AF-rProtein A-650F (高流速対応タイプ)、他社品 (アガロースベース) との漏出量もそれぞれ比較しました。

各担体を充填したミニカラム RoboColumn (200 μ L) を用い、全自動溶液分注システム Tecan 社 Freedom EVO にて測定しました。

それぞれのパラメータは、溶出 pH、抗体負荷量、抗体負荷濃度としました。それぞれの変動範囲を表 1 に示します。実験計画法 (DOE) ソフトウェア

Design-Expert により最適化された組み合わせにて測定し、そのデータを解析することにより、変動の影響を調べました。Protein A リガンド濃度の測定は ELISA キットを用いました。

図 1 に、溶出 pH、抗体負荷量の変化がリガンド漏出量に与える影響を 3 水準の抗体負荷濃度で調べた結果を示します。

pH が低くなるほどリガンドの漏出量が多くなる傾向が見られましたが、ほとんどの条件において漏出量は 10 μ g/L 以下でした。

図 2、3 に他社品を含めた 3 種類の担体について、2 種類の溶出用緩衝液 (クエン酸塩、酢酸塩) での漏出量を比較した結果を示します。TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F では、リガンド漏出量が非常に少ないことがわかります。

表 1 パラメータとその変動範囲

パラメータ	最小値		中心値		最大値
溶出 pH (クエン酸塩緩衝液および酢酸塩緩衝液)	2.25	2.75	3.25	3.75	4.25
抗体負荷量 (g/L-gel)	10.0	20.0	30.0	40.0	50.0
抗体負荷濃度 (g/L)	0.25	2.50	4.75	7.00	9.25

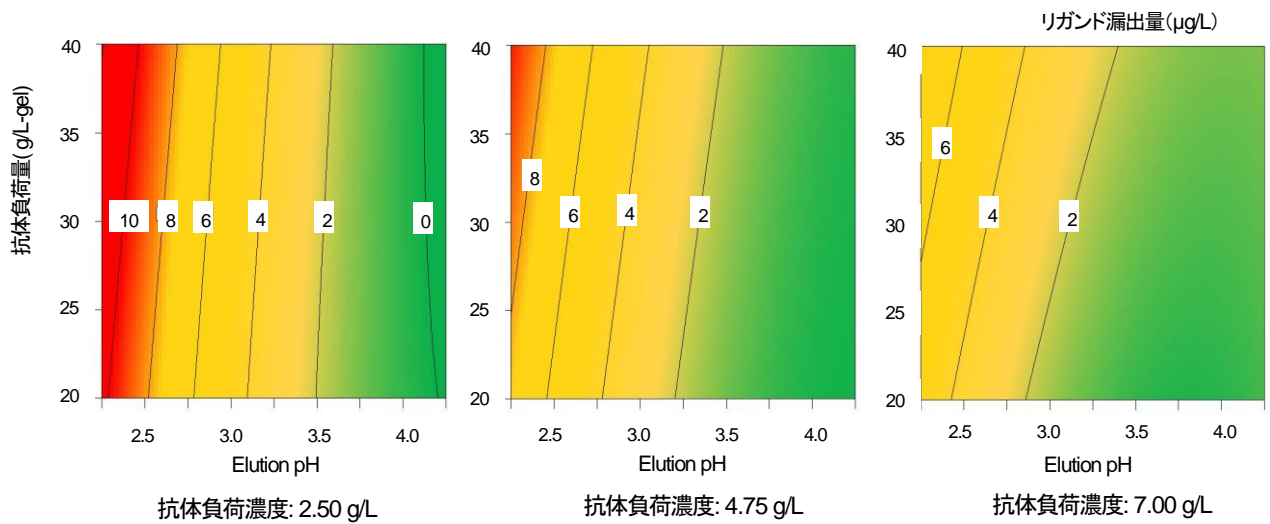


図1 各抗体負荷濃度におけるリガンド漏出量(クエン酸塩緩衝液)
(TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F)

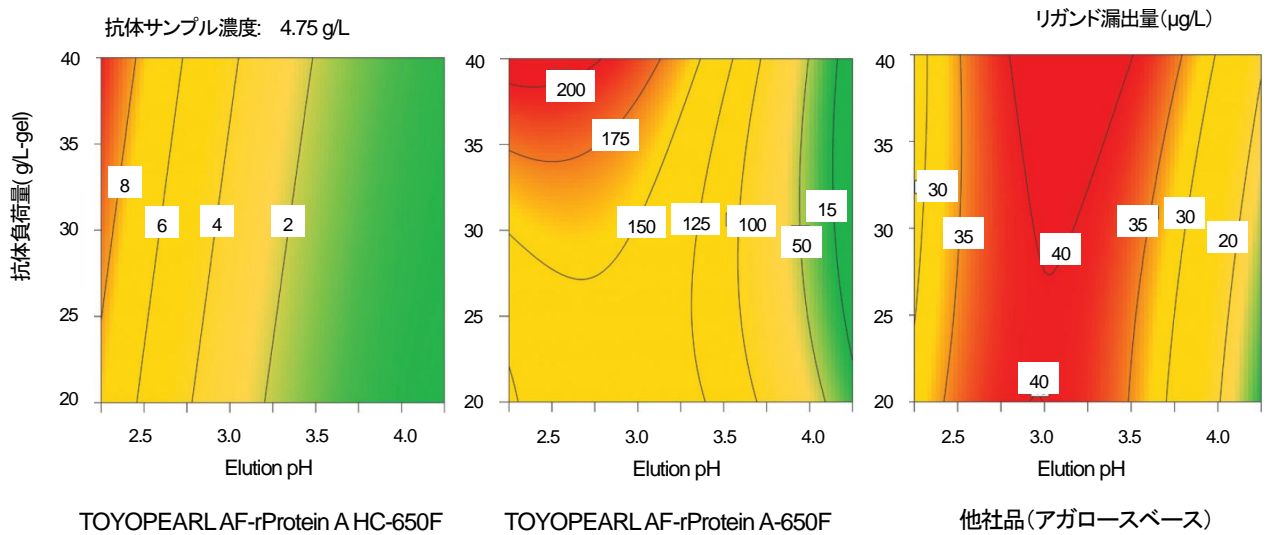


図2 各担体からのリガンド漏出量(クエン酸塩緩衝液)

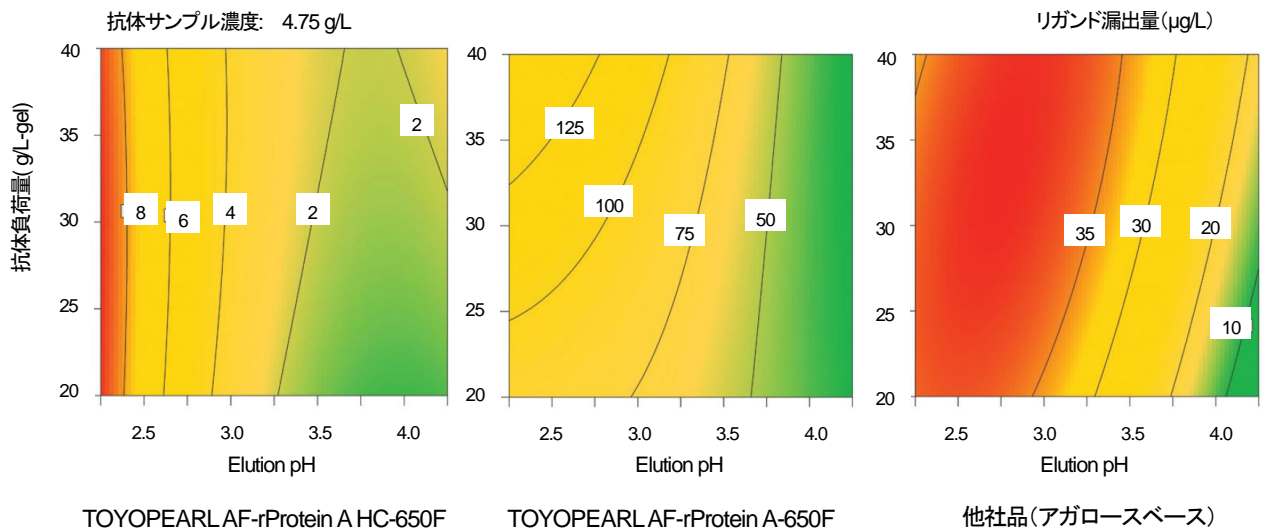


図3 各担体からのリガンド漏出量(酢酸塩緩衝液)