

TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F によるマウスモノクローナル抗体(IgG1)の溶出条件の検討

Elution condition study of mouse monoclonal antibody (IgG1) on TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F

免疫診断薬の原材料には動物由来の抗体が多く使用されており、中でもマウス抗体は最も汎用されています。これらの抗体を分離精製する方法として Protein A アフィニティークロマトグラフィーは有効な手法ですが、溶出溶離液に酸性水溶液が用いられることから、マウス抗体では変性体や凝集体が生じやすいことが知られています。本報では、細胞培養によって得られたマウスモノクローナル抗体を試料として Protein A アフィニティークロマトグラフィーにおける溶出条件を検討したので報告します。

検討スキームを図 1 に示します。試料には、マウスモノクローナル抗体の CHO 培養上清を用いました（あらかじめ疎水性担体である TOYOPEARL Butyl-650M を充填した ToyoScreen® 1 mL に通液して pH 指示薬を吸着除去）。分離には TOYOPEARL AF-Protein A HC-650F を充填したカラム (RoboColumn®, 容量 200 μ L) を用いました。種々の濃度のクエン酸塩緩衝液を用いて溶出させた抗体画分を分取し、サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) を用いて凝集体の確認を行いました。抗体の凝集化には溶液

の pH が関係していると考えられることから、中和処理による抗体の凝集化の抑制についても検討しました。

図 2 に 20~120 mmol/L のクエン酸塩緩衝液 (pH 3.0) で溶出させた抗体の SEC クロマトグラムを示します。クエン酸塩緩衝液の濃度の増加とともに抗体の変性体と思われるピークが抗体ピークの高分子側に溶出し、歪な形状となりました。さらに凝集体と思われるピークもクエン酸塩緩衝液の濃度の増加とともに大きくなることが判りました。

図 3 に中和処理の有無による凝集化率及びその経時変化を示します (凝集化率は全てのピーク面積と凝集体のピーク面積の比で算出しました)。高濃度のクエン酸塩緩衝液で溶出させ、中和処理を行わなかった場合では時間とともに凝集体が顕著に増加しますが、200 mmol/L Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.0) を用いて中和処理を行った場合では、抗体の凝集化が抑制されることが判りました。

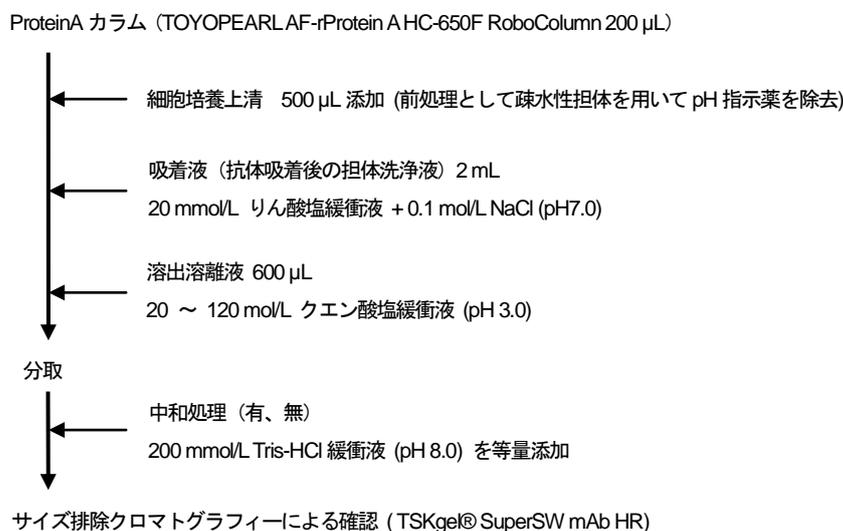
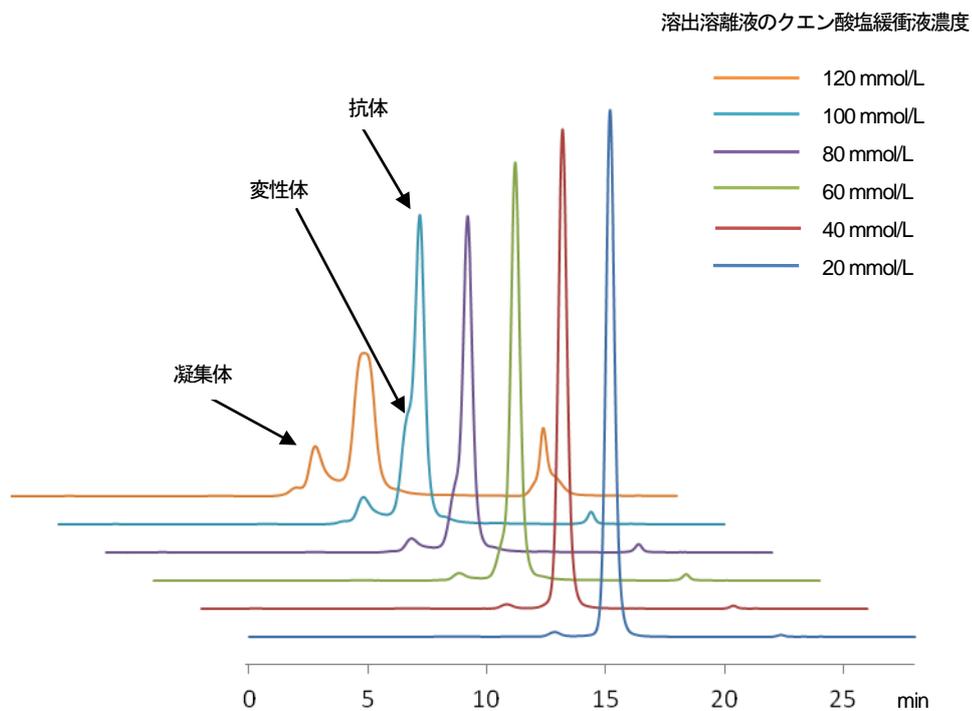


図 1 検討スキーム



Conditions
 Column: TSKgel SuperSW mAb HR (7.8 mm I.D. x 30 cm)
 Eluent: 50 mmol/L phosphate buffer + 0.2 mol/L NaCl (pH 6.8)
 Flow rate: 0.5 mL/min
 Detection: UV (280 nm)

図2 20~120 mmol/L クエン酸塩緩衝液 (pH 3.0) で溶出させた抗体画分の SEC クロマトグラム

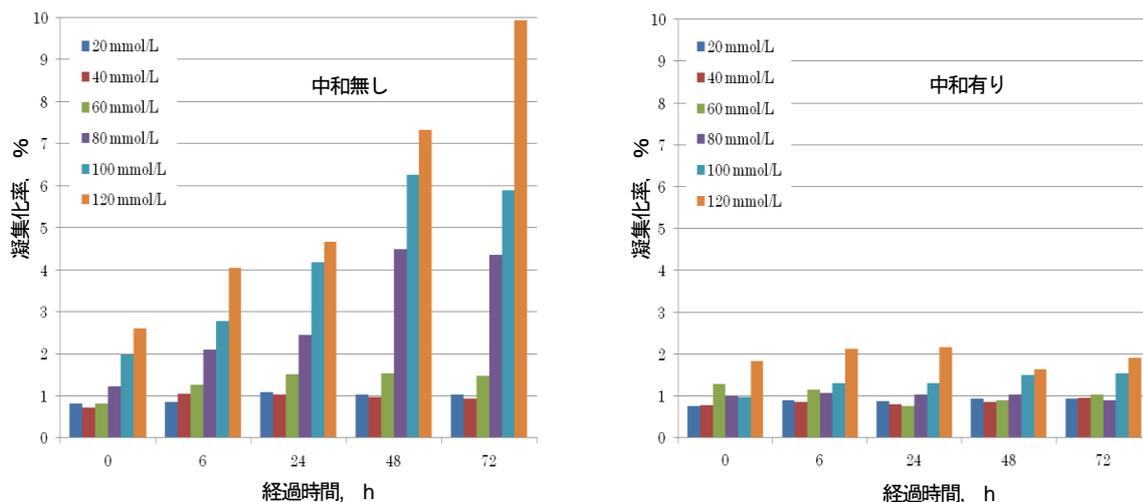


図3 20~120 mmol/L クエン酸塩緩衝液 (pH 3.0) で溶出させた抗体画分の凝集化率及びその経時変化

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 Butyl-650M 充填剤

品番	品名	容量
0007477	TOYOPEARL Butyl-650M	100 mL
0014702	TOYOPEARL Butyl-650M	1 L
0007976	TOYOPEARL Butyl-650M	5 L
0018355	TOYOPEARL Butyl-650M	50 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
0021376	ToyoScreen Butyl-650M	1 mL タイプ 6 本
0021377	ToyoScreen Butyl-650M	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
0045125	TOYOPEARL Butyl-650M	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

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 Atoll GmbH 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/>

