

低分子抗体精製の充填剤は、これで決まり！

TOYOPEARL® AF-rProtein L-650F は高吸着量、耐アルカリ性で有利！



バイオ医薬品は、世界の医薬品売上の上位 100 品目のうち売上高の 50 %を占めるまでになり、抗体医薬品においては、2024 年には売上高上位 20 品目のうちの 9 品目を占めると予想されています。最近では、抗体の高い特異性を保持し、分子量が完全抗体よりも小さい、低分子抗体の開発も進んでいます。低分子抗体には抗体断片 (Fab) のほか、遺伝子組み換え技術を用いた人工抗体として、一本鎖抗体断片 (scFv) や、その縦列型 (tandem scFv)、より単純なディアボディ (diabody) などがあります。

低分子抗体は、Fc 部分を有しないため、Protein A 充填剤によるアフィニティー精製が困難です。そのため、Fab 部分のカッパ軽鎖 (kappa Light chain) に結合する Protein L をリガンドとするアフィニティークロマトグラフィーによる精製が有効です。TOYOPEARL AF-rProtein L-650F は、高い抗体吸着量を示すとともに、アルカリ耐久性に優れ、0.1 mol/L NaOH 溶液でも洗浄が可能のため、従来の Protein L 充填剤に比べ生産性の向上および製造コストダウンに有利です。

●高吸着型 TOYOPEARL AF-rProtein L-650F の仕様

項目	規格
粒子径 (μm)	30 - 60
リガンド	組み換えProtein L (大腸菌由来)
リガンドの固定化	多点結合
IgG吸着量 (静的)	64 g/L 以上
バイオバーデン	
菌体数 (CFU/mL)	100以下
エンドトキシン (EU/mL)	10 以下
異物	6個 以下
溶出物	0.2 % 以下

●TOYOPEARL AF-rProtein L-650F の特長

- ・高い吸着量 ; 市販 Protein L 充填剤の吸着容量の約 1.5 倍
- ・アルカリ耐久性向上 ; 0.1 mol/L NaOH での洗浄可能、繰り返し使用が可能
- ・低いリガンド漏出量 ; プロテイン L が多点結合で結合されており、リガンド漏出率が低い
- ・高速分離、処理 ; 硬いので、大口径カラムでも高流速分離が可能 (滞留時間約 2-3 分)
- ・生産性向上 ; 高吸着量、耐アルカリ性で、製造における充填剤のコストダウンが可能
- ・安定供給 ; 10 L 以上の大量使用でも安定供給が可能
- ・スクリーニング用カラム ; プロセス開発用に、1 mL および 5 mL の充填カラムも用意

●プロテイン L 精製抗体による一本鎖抗体断片 (scFv) および縦列型 (tandem scFv) の分離条件例

吸着; 0.02 - 0.1 mol/L クエン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.5)

中間洗浄; scFv (CHO 細胞培養液); 0.25 - 1 mol/L アルギニンと 5 - 10 % イソプロピルアルコールを含む吸着液

scFv (大腸菌 inclusion body); 2 mol/L グアニジン・塩酸を含む吸着液*

溶出; 0.1 mol/L クエン酸またはグリシン/HCl 緩衝液 (pH 2.0 - pH 3.0)

洗浄; 酸性溶液 pH 2.0 - pH 2.2

CIP; 0.05 - 0.1 mol/L NaOH、接触時間は 10-15 分 (0.1 mol/L NaOH 溶液は限定使用)

(0.1 mol/L NaOH 溶液で 9 時間浸潤後でも吸着量は 90 %維持)

疎水的な不純物の洗浄には、10 - 20 % エタノールやイソプロピルアルコールも有効

* 参考資料; Tosoh Bioscience GmbH, Application Note; Capture of a scFv from E.coli using TOYOPEARL AF-rProtein L-650F

● Tandem scFv の CHO 細胞培養液からの精製における異なる試料負荷量での中間洗浄の効果

scFv 試料負荷量 (mg)	吸着 中間洗浄液 pH	中間洗浄液	溶出液 pH	回収率 (%)	単量体 (相対 %)	凝集体 (相対 %)	抗体断片 (相対 %)	HCP (ppm)	DNA (ppm)	漏出 Protein L (ppm)
Feed	-	-	-	-	24.6	63.2	12.3	14,782,068	2,676	-
5	6.5	-	2.85	86.9	94.5	5.1	0.4	7,341	7	<LOD*
5	6.5	+ 0.25 M Arg	2.85	85.5	93.4	6.1	0.5	6,872	2	<LOD
5	6.5	+ 0.25 M Arg + 5 % iPrOH	2.85	85.4	93.9	5.7	0.4	6,016	1	<LOD
20	6.5	-	2.85	83.4	83.4	16.1	0.4	10,522	3	<LOD
20	6.5	+ 0.25 M Arg	2.85	90.1	80.8	18.7	0.4	8,368	2	<LOD
20	6.5	+ 0.25 M Arg + 5 % iPrOH	2.85	90.1	82.9	16.8	0.4	6,966	1	<LOD

Column size; 1 mL

Buffer; 0.1 mol/L sodium citrate buffer (pH 6.5)

*LOD; Limit of detection

※アルギニン (Arg) およびイソプロピルアルコール (iPrOH) を添加した溶離液による中間洗浄で、HCP や DNA などの不純物が効果的に除去できました。また、試料吸着後、溶出液に 0.1 mol/L Arg・HCl を含む酢酸塩緩衝液(pH 3.0)を用いて溶出することでも、良好な結果が得られています*。

* 参考文献; S. W. Chen et al., Mabs 12 (2020), e1718440, <https://doi.org/10.1080/19420862.2020.1718440>

● プロテイン L 充填剤によるアフィニティー精製後のクロマグラフィー工程例

プロテイン L 充填剤による精製の次のステップで、さらに効果的に不純物を除去できます

- ・イオン交換体 ; TOYOPEARL NH₂-750F, Sulfate-650F (塩耐性イオン交換体)
- ・疎水充填剤 ; TOYOPEARL PPG-600M, Phenyl-600/650M, Butyl-600/650M, Hexyl-650C
- ・マルチモード充填剤 ; TOYOPEARL MX-Trp-650M, Ca⁺⁺Pure-HA™ (ハイドロキシアパタイト)

● プロテイン L 充填剤および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 (ボトル)
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 ₂ -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 ₂ -750F, Sulfate-650F)	-	1 mL x 3種類 x 2本	カラム
0045232	SkillPak Best-in-Class (Ca ⁺⁺ Pure-HA*, TOYOPEARL AF-rProtein A HC-650F, AF-rProtein L-650F, NH ₂ -750F, Sulfate-650F)	-	1 mL x 5種類 x 1本	カラム

* Ca⁺⁺Pure-HAは乾燥品です。Ca⁺⁺Pure-HAは米国産品であるため、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: マ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"は日本等における東ソー株式会社の登録商標です

※ "SkillPak"、"Ca⁺⁺Pure-HA"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 ☎(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
 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

