

抗体薬物複合体（ADC）の精製は、これで決まり！（2）



TOYOPEARL® Phenyl-650S による位置特異的 ADC の分離

（オープンアクセス学術論文から）

Y. Matsuda, M. Leung, T. Okuzumi and B. Mendelsohn,

A Purification Strategy Utilizing Hydrophobic Interaction Chromatography to Obtain Homogeneous Species from a Site-Specific Antibody Drug Conjugate Produced by AJICAP™ First Generation

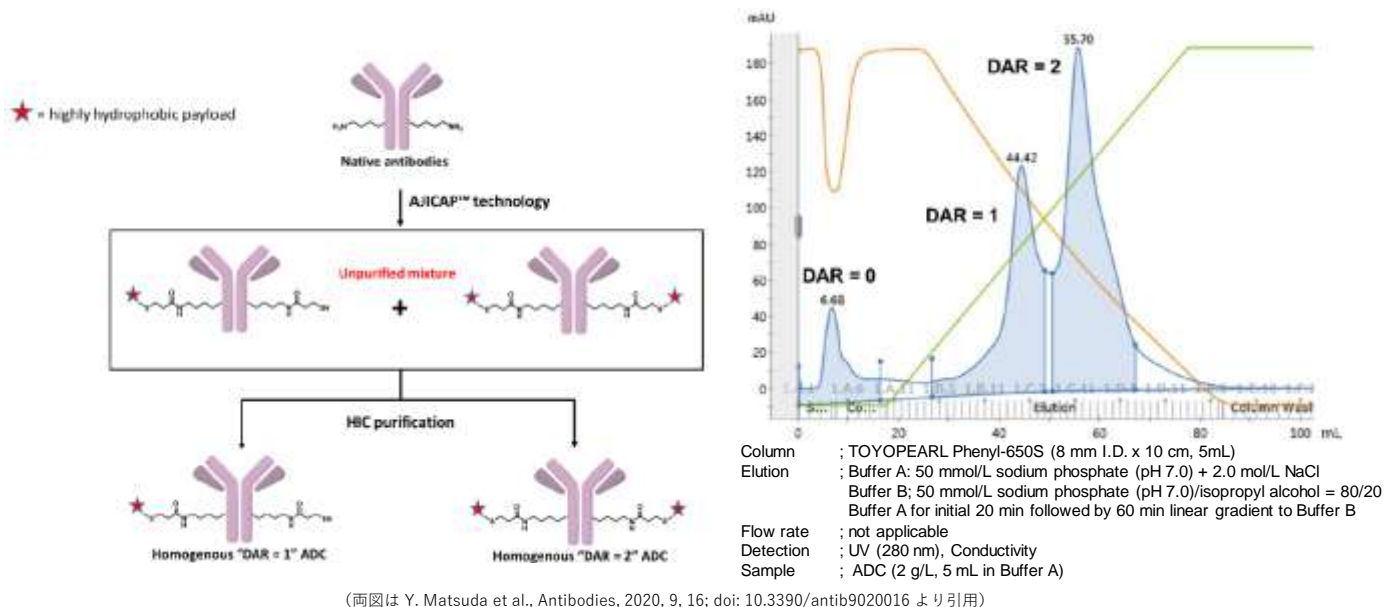
Antibodies 2020, 9, 16; doi:10.3390/antib9020016, <https://www.mdpi.com/2073-4468/9/2/16>

抗体薬物複合体（ADC）は、抗体に薬物をリンカーを介して結合させ、がん細胞など特定の細胞を殺傷する機能を付加した抗体医薬品です。これまで 8 品目が米国食品医薬品局（FDA）に承認されています。しかしながら従来の ADC の合成法では薬物が抗体の複数部位に確率論的に結合するため、薬効や毒性もそれぞれ異なる ADC の異性体が生じます。そのため薬効が高く毒性も低い ADC 成分のみを精製する必要がありました¹⁾。一方最近では、均一な ADC の合成法として、抗体の Fc の特定な位置にのみ薬物を結合させる技術（AJICAP®）も報告されており^{2,3)}、抗体 1 分子あたりの薬剤・抗体比（Drug Antibody Ratio; DAR）が 1 または 2 の位置特異的な ADC を得ることも可能です。著者らは、同法を用いて得られた ADC を疎水クロマトグラフィー（HIC）により精製することで、DAR=1 および 2 の均一な ADC の分離も可能となったと報告しています。

引用文献

- 1) テクニカルノート、トヨパール No.6 抗体薬物複合体（ADC）の精製は、これで決まり！
- 2) K. Yamada et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 2019, 58, 5592-5597, DOI: 10.1002/anie.201814215
- 3) Y. Matsuda et al., *Anal. Chem.* 2019, 91, 12724-12732, DOI:10.1021/acs.analchem.9b02192

●位置特異的抗体薬物複合体（ADC）の TOYOPEARL Phenyl-650S による HIC 分離



位置特異的 ADC (DAR=1, 2) の分離検討には 3 種類の HIC 用充填剤 (TOYOPEARL Phenyl-650S、Butyl-650M、PPG-600M) が用いられました。吸着液には比較的吸着力の弱い塩である NaCl を含む溶液が、溶出液には 20 % イソプロピルアルコールを含む溶液がそれぞれ用いられました。検討の結果、TOYOPEARL Phenyl-650S が最も良好な分離を示しました。未反応抗体 (DAR=0) は吸着されずフロースルー画分に溶出され、続くグラジエント分離により、DAR=1 と 2 の ADC の分離も可能でした。また ADC の回収率も向上しました。

ADC は抗体や薬物の性状、導入数などにより疎水性が大きく異なります。したがって ADC の HIC 分離では、それぞれの ADC に適した疎水性を持つ HIC 用充填剤の選択と溶液の組み合わせがポイントとなります。

●HIC 用充填剤の選択の目安

- ・TOYOPEARL PPG-600M、Ether-650M ; DAR=0~8 の ADC、疎水性の高いたんぱく質、ペプチド
- ・TOYOPEARL Phenyl-650S/650M、Phenyl-600M ; DAR=0~4 の ADC、一般のたんぱく質、ペプチド
- ・TOYOPEARL Butyl-650S/650M、Butyl-600M ; 一般または疎水性の低い（親水性の高い）たんぱく質
- ・TOYOPEARL Hexyl-650C ; 疎水性の低い（親水性の高い）たんぱく質

※TOYOPEARL を充填したスクリーニング、簡易精製用カラム SkillPak™ (1 mL、5 mL) も各種取り揃えてあります

※高速・高分離能 HIC 用充填剤として粒子径 20 μm および 30 μm の TSKgel Phenyl-5PW(20)/(30)、Ether-5PW(20)/(30)や、低分子たんぱく質用の TOYOPEARL SuperButyl-550C もあります

●HPLC 用 HIC カラム

- ・ TSKgel Butyl-NPR® (品番 0014947; 4.6 mm I.D. x 3.5 cm、品番 0042168; 4.6 mm I.D. x 10 cm)

●HIC 用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
0016173	TOYOPEARL Ether-650M	40 - 90	100	充填剤 (ボトル)
0021302	TOYOPEARL PPG-600M	40 - 90	100	充填剤 (ボトル)
0014478	TOYOPEARL Phenyl-650M	40 - 90	100	充填剤 (ボトル)
0021888	TOYOPEARL Phenyl-600M	40 - 90	100	充填剤 (ボトル)
0007477	TOYOPEARL Butyl-650M	40 - 90	100	充填剤 (ボトル)
0021449	TOYOPEARL Butyl-600M	40 - 90	100	充填剤 (ボトル)
0019956	TOYOPEARL SuperButyl-550C	50 - 150	100	充填剤 (ボトル)
0019026	TOYOPEARL Hexyl-650C	50 - 150	100	充填剤 (ボトル)
0043276	TSKgel Ether-5PW (20)	15 - 25	25	充填剤 (ボトル)
0043176	TSKgel Ether-5PW (30)	20 - 40	25	充填剤 (ボトル)
0043277	TSKgel Phenyl-5PW (20)	15 - 25	25	充填剤 (ボトル)
0043177	TSKgel Phenyl-5PW (30)	20 - 40	25	充填剤 (ボトル)
0045220	SkillPak TOYOPEARL Ether-650M	40 - 90	1 mL x 5本	カラム
0045218	SkillPak TOYOPEARL PPG-600M	40 - 90	1 mL x 5本	カラム
0045217	SkillPak TOYOPEARL Phenyl-650M	40 - 90	1 mL x 5本	カラム
0045216	SkillPak TOYOPEARL Phenyl-600M	40 - 90	1 mL x 5本	カラム
0045215	SkillPak TOYOPEARL Butyl-650M	40 - 90	1 mL x 5本	カラム
0045214	SkillPak TOYOPEARL Butyl-600M	40 - 90	1 mL x 5本	カラム
0045219	SkillPak TOYOPEARL Hexyl-650C	50 - 150	1 mL x 5本	カラム
0045233	SkillPak HIC (TOYOPEARL Butyl-650M, Phenyl-650M, PPG-600M, Hexyl-650C, Ether-650M)	-	1 mL x 5種類 x 1本	カラム
0045234	SkillPak HIC (TOYOPEARL Butyl-600M, Phenyl-600M, PPG-600M, Hexyl-650C, Ether-650M)	-	1 mL x 5種類 x 1本	カラム
0045235	SkillPak HIC (TOYOPEARL Butyl-650M, Phenyl-650M, PPG-600M)	-	1 mL x 3種類 x 2本	カラム
0045236	SkillPak HIC (TOYOPEARL Butyl-600M, Phenyl-600M, PPG-600M)	-	1 mL x 3種類 x 2本	カラム
0045237	SkillPak HIC (TOYOPEARL Phenyl-650M, PPG-600M, Hexyl-650C)	-	1 mL x 3種類 x 2本	カラム
0045238	SkillPak HIC (TOYOPEARL Phenyl-600M, PPG-600M, Hexyl-650C)	-	1 mL x 3種類 x 2本	カラム
0045256	SkillPak TOYOPEARL Ether-650M	40 - 90	5 mL x 1本	カラム
0045254	SkillPak TOYOPEARL PPG-600M	40 - 90	5 mL x 1本	カラム
0045253	SkillPak TOYOPEARL Phenyl-650M	40 - 90	5 mL x 1本	カラム
0045252	SkillPak TOYOPEARL Phenyl-600M	40 - 90	5 mL x 1本	カラム
0045251	SkillPak TOYOPEARL Butyl-650M	40 - 90	5 mL x 1本	カラム
0045250	SkillPak TOYOPEARL Butyl-600M	40 - 90	5 mL x 1本	カラム
0045255	SkillPak TOYOPEARL Hexyl-650C	50 - 150	5 mL x 1本	カラム

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

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

※ "AJICAP"は味の素株式会社の登録商標です

※ 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