

糖鎖に基づいた抗体のアフィニティー分離はこれで決まり！

TSKgel FcR-IIIa-5PW カラムで、糖鎖解析に必要なモノクローナル抗体を分取、精製



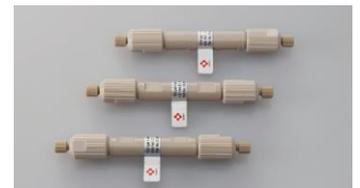
抗体 Fc レセプターである Fc γ RIIIa を固定化したアフィニティーカラム (FcR カラム) を用いることにより、N 結合型糖鎖 (N-グリカン) 構造に依存した抗体の分析が可能になりました。また糖鎖構造の解析に必要な抗体量を一度に分取、精製できる分取カラムも揃いました。

●TSKgel FcR-IIIa-NPR®の主な用途

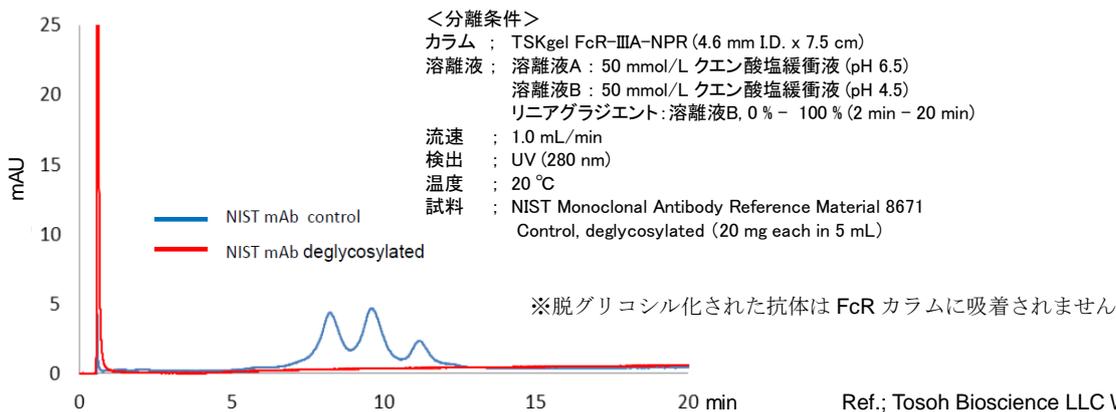
- ・細胞株 (CHO 細胞、HEK 細胞など) による抗体の糖鎖の違いの確認、細胞株スクリーニング
- ・糖鎖にフコースを持たない抗体 (高 ADCC 活性を保有) と、フコースを持つ抗体の分析
- ・細胞培養培地、添加試薬の最適化検討、培養日数と抗体の糖鎖性状の変化の確認
- ・細胞培養のスケールアップや培養法変更時における抗体の糖鎖性状の変化の有無の確認
- ・精製抗体のバッチ・リリーステストとしての抗体の糖鎖性状の確認とトレンド解析
- ・バイオシミラー抗体とオリジナル・リファレンス抗体との比較、類似性の評価

TSKgel FcR-IIIa-NPR カラムに関する技術資料 (<https://www.separations.asia.tosohbioscience.com/litjp>)

- ・テクニカルノート (TSKgel) No. 7 抗体医薬品の品質特性分析はこれで決まり！
- ・テクニカルノート (TSKgel) No. 10 細胞株スクリーニング用カラムはこれで決まり！
- ・テクニカルノート (TSKgel) No. 11 抗体糖鎖の迅速分析用カラムはこれで決まり！
- ・テクニカルノート (TSKgel) No. 12 バイオシミラー抗体の糖鎖評価はこれで決まり！
- ・テクニカルノート (TSKgel) No. 17 細胞株の違いによる抗体糖鎖分析はこれで決まり！
- ・セパレーションレポート No. 118 高性能カラム TSKgel FcR-IIIa-NPR について



●モノクローナル抗体標準品 NIST 8671 および脱グリコシル化抗体の分析

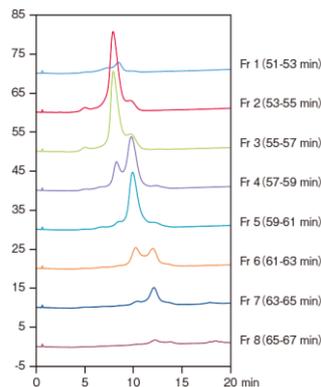
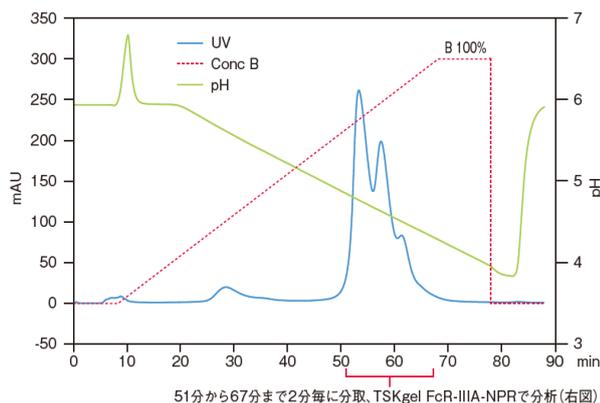


●TSKgel FcR-IIIa-5PW の主な用途

TSKgel FcR-IIIa-5PW カラムは、分析用 TSKgel FcR-IIIa-NPR カラムと同じ選択性を有し、糖鎖解析に十分な抗体量を分取、精製できるカラムです。

- ・質量分析 (MS)、親和性 (SPR 法)、ADCC 活性など糖鎖解析に十分な量の抗体を分取可能 (1~10 mg)
- ・分析カラムでは十分に検出できない微量抗体成分を分取カラムで濃縮して精製
- ・モノクローナル抗体試料から糖鎖が脱離した脱グリコシル化抗体 (不純物) をフロースルーで分離除去

●TSKgel FcR-III A-5PW を用いたモノクローナル抗体の分取クロマトグラフィー



<分離条件>
 カラム: TSKgel FcR-III A-5PW (7.8 mm I.D. × 7.5 cm)
 溶離液A: 50 mmol/L クエン酸緩衝液 (pH 6.0)
 B: 50 mmol/L クエン酸緩衝液 (pH 4.0)
 グラジエント: B 0% (0-8 min), B 0-100% (8-68 min),
 B 100% (68-78 min)
 流速: 0.5 mL/min
 温度: 20 °C
 検出: UV (280 nm)
 試料: ヒト抗体 (5 mg)

<分離条件>
 カラム: TSKgel FcR-III A-NPR (4.6 mm I.D. × 7.5 cm)
 溶離液A: 50 mmol/L クエン酸緩衝液+150 mmol/L NaCl (pH 6.5)
 B: 50 mmol/L クエン酸緩衝液+150 mmol/L NaCl (pH 4.5)
 グラジエント: B 0-100% (2-20 min, リニア)
 流速: 1.0 mL/min
 温度: 20 °C
 検出: UV (280 nm)
 試料: ヒト抗体 (分取した画分をそのまま注入)

●関連文献

- 1) 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 の結合様式を解析
 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, 8:3955
- 2) 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、また FcR カラムを用いて人工抗体の分離挙動を比較
 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
- 3) 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
- 4) FcR カラムでバイオシミュラー抗体およびオリジナル抗体の製造ロットにおける抗体の糖鎖の違いを解析
 L. Xie et al., Demonstrating Analytical Similarity of Trastuzumab Biosimilar HLX02 to Herceptin® with a Panel of Sensitive and Orthogonal Methods Including a Novel FcγRIIIa Affinity Chromatography Technology, BioDrugs. 2020 Feb 18

● TSKgel FcR-III A-NPR、TSKgel FcR-III A-5PW 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. × 7.5 cm	抗体のFc糖鎖構造の違いに基づく分析
0023532	TSKgel FcR-III A-5PW	10	7.8 mm I.D. × 7.5 cm	抗体のFc糖鎖構造の違いに基づく分離、分取
0018014	ラインフィルタキット (PEEK)	-	-	TSKgel FcR-III A-NPR、TSKgel FcR-III A-5PW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



※"TSKgel", "NPR"は日本等における東ソー株式会社の登録商標です
 ※"Herceptin"は Genentech 社の登録商標です
 ※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
 ※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

