

# 抗体のSEC分析は、これで決まり！

米国 FDA が論文報告；TSKgel SuperSW3000 + 新溶離液



サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) 分析では、静注用ガンマグロブリン (IVIG) やモノクローナル抗体医薬品に関し公定法による規定があり、カラムには TSKgel G3000SW<sub>XL</sub> (5 μm, 内径 7.8 mm、長さ 30 cm) が多く利用されています。しかし、SEC では問題点 (凝集体の非特異的吸着、分離能、分析時間) もあり、改善の余地が残されていました。当社でも、Fc 融合たんぱく質の SEC 分析において、新しい溶離液系を用いた分離能の改善の可能性について報告しています\*。

\* Application Note; Tosoh Bioscience LLC, Mobile Phase Optimization for the Analysis of an Antibody-Based Fusion Protein and Aggregates using a TSKgel SuperSW3000 Size-Exclusion Column

2017年、米国 FDA の研究者が 13 種類の市販の抗体医薬品の SEC 分析に TSKgel SuperSW3000 (4 μm, 4.6 mm I.D. x 30 cm) を使い、ヨーロッパ薬局方 (European Pharmacopeia; EP) に収載された SEC の溶離液系と、新しい溶離液系で詳細な分離比較検討を実施し、論文発表しました。

An improved size exclusion-HPLC method for molecular size distribution analysis of immunoglobulin G using sodium perchlorate in the eluent, H. Wang, M. S. Levi, A. V. D. Grosso and W. M. McCormick, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 138 (2017) 330-343

この論文の要旨は、以下のとおりです

## ●ヨーロッパ薬局方 (EP) の溶離液に対し、新しい SEC 溶離液で分析評価

→ 0.4 mol/L NaClO<sub>4</sub> (過塩素酸ナトリウム) を含む 40 mmol/L リン酸バッファー (pH 6.8)

→ 新しい溶離液で凝集体の非特異的吸着、キャリーオーバーの抑制

→ 新しい溶離液でクロマトグラフィーのベースラインが安定

## ●内径 4.6 mm のカラムサイズ (および微小粒子ゲル) での分離評価

→ TSKgel のカラムサイズを 7.8 mm I.D. x 30 cm (5 μm) から、4.6 mm I.D. x 30 cm (4 μm) に変更

→ TSKgel SuperSW3000 で二量体と単量体の分離能の向上 (ピーク形状の改善)、分析時間の短縮

## ●新しい分析カラムサイズおよび溶離液で分析法のバリデーションの実施

→ 信頼性のある堅牢な SEC 分析法の確立

→ ICH Q2 (R1) のガイドラインに基づき、特異性、正確性、精密性の確認と、凝集体のピーク面積と濃度の関係に良好な相関性が得られた

### 1. 溶離液中の過塩素酸ナトリウムの効果

・カオトロピックイオンの効果として、シリカ充填剤の疎水性領域 (吸着点) とたんぱく質との非特異的吸着を抑制

→ 巨大で疎水性の高い抗体凝集体を正常に溶出、ピーク形状も良好

→ 従来の EP 法の溶離液では、抗体種によっては凝集体の吸着が認められ、その比率が低めに算出される

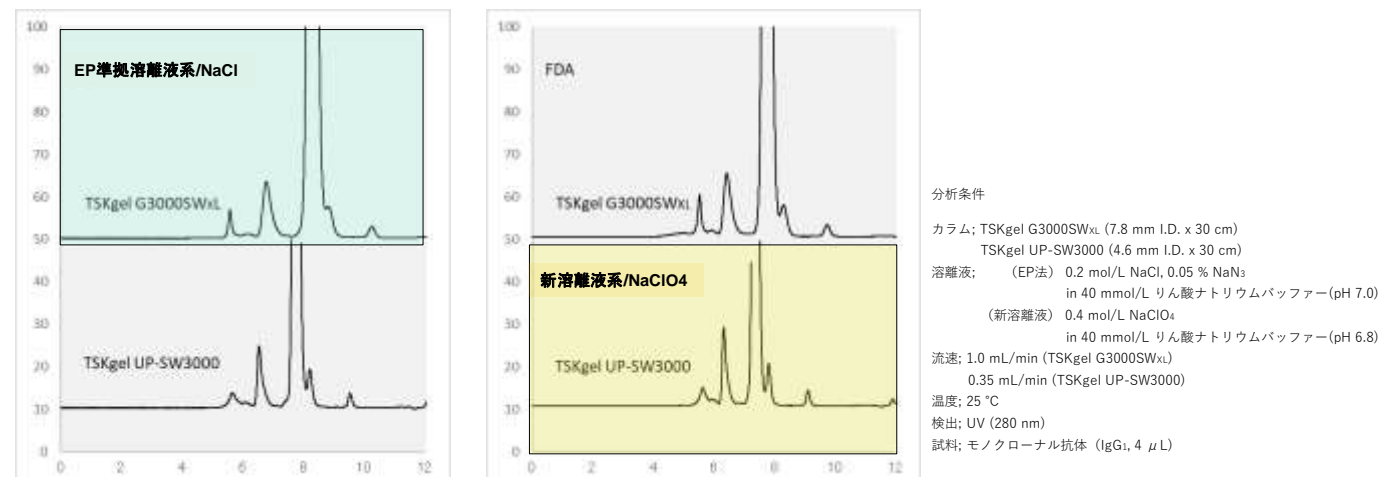
→ 同様な効果があるアルギニンやチオシアン酸ナトリウムよりも操作圧力やベースラインの安定性で有利

### 2. カラムサイズの縮小の効果

・内径の小さな 4.6 mm I.D. のカラム TSKgel SuperSW3000 (4 μm) で分離

→ 凝集体と単量体の分離能の向上と分析時間の短縮が可能

### 3. 新しい溶離液によるモノクローナル抗体の SEC 分析



- 4.6 mm I.D. x 30 cm のカラムでは、TSKgel UP-SW3000 (2 μm)が最も高性能なカラムです(当社比)
- 4.6 mm I.D. x 15 cm のカラムでは、TSKgel UP-SW3000, UP-SW Aggregate, SuperSW3000 mAb HTP があります
- 7.8 mm I.D. x 30 cm のカラムでは、TSKgel SuperSW mAb HR, UltraSW Aggregate が高性能カラムです
- HPLC システム(セミマイクロ仕様)またはUHPLC システムが推奨です

ウェブサイト: [https://www.separations.asia.tosohbioscience.com/File%20Library/TBJS/Lit\\_JP/SepaReport/SR116\\_UP-SW3000.pdf](https://www.separations.asia.tosohbioscience.com/File%20Library/TBJS/Lit_JP/SepaReport/SR116_UP-SW3000.pdf)  
[https://www.separations.asia.tosohbioscience.com/File%20Library/TBJS/Lit\\_JP/SepaReport/sr095.pdf](https://www.separations.asia.tosohbioscience.com/File%20Library/TBJS/Lit_JP/SepaReport/sr095.pdf)

(注1) 汎用 HPLC システムをそのままお使いの場合、TSKgel G3000SWxLカラムよりも TSKgel UP-SW3000 カラムの性能が優れていますが、TSKgel UP-SW3000 の性能は、本来のカラム性能の約 70 %です

(注2) HPLC システムをセミマイクロ仕様にされても、当社カラム検定書と同等の性能が出ない場合があります

### ●製品カラム一覧表

品番	品名	粒子径 (μm)	カラムサイズ	カラム性能 TP/カラム	備考
0023525	TSKgel UP-SW Aggregate	3	4.6 mm I.D. x 15 cm	17,500	高速分析用
0023524	TSKgel UP-SW Aggregate	3	4.6 mm I.D. x 30 cm	35,000	高性能分析用
0023449	TSKgel UP-SW3000	2	4.6 mm I.D. x 15 cm	25,000	高速分析用
0023448	TSKgel UP-SW3000	2	4.6 mm I.D. x 30 cm	45,000	高性能分析用
0023515	TSKgel UP-SW2000	2	4.6 mm I.D. x 15 cm	25,000	高速分析用
0023514	TSKgel UP-SW2000	2	4.6 mm I.D. x 30 cm	45,000	高性能分析用
0023526	TSKgel guardcolumn UP-SW Agg	-	4.6 mm I.D. x 2 cm	-	ガードカラム
0023527	TSKgel guardcolumn UP-SW Agg DC	-	4.6 mm I.D. x 2 cm	-	ガードカラム(直結型)
0023450	TSKgel guardcolumn UP-SW	-	4.6 mm I.D. x 2 cm	-	ガードカラム
0023451	TSKgel guardcolumn UP-SW DC	-	4.6 mm I.D. x 2 cm	-	ガードカラム(直結型)
0023516	TSKgel guardcolumn UP-SW2	-	4.6 mm I.D. x 2 cm	-	ガードカラム
0023517	TSKgel guardcolumn UP-SW2 DC	-	4.6 mm I.D. x 2 cm	-	ガードカラム(直結型)
0022854	TSKgel SuperSW mAb HR	4	7.8 mm I.D. x 30 cm	30,000	高性能分析用
0022855	TSKgel SuperSW mAb HTP	4	4.6 mm I.D. x 15 cm	15,000	高速分析用
0022856	TSKgel UltraSW Aggregate	3	7.8 mm I.D. x 30 cm	35,000	凝集体分析
0022857	TSKgel guardcolumn SuperSW mAb	-	6.0 mm I.D. x 4 cm	-	ガードカラム(7.8 mm用)
0022858	TSKgel guardcolumn SuperSW mAb	-	3.0 mm I.D. x 2 cm	-	ガードカラム(4.6 mm用)
0022859	TSKgel guardcolumn UltraSW	-	6.0 mm I.D. x 4 cm	-	ガードカラム
0021845	TSKgel SuperSW3000	4	4.6 mm I.D. x 30 cm	30,000	高性能分析用
0021485	TSKgel SuperSW3000	4	2.0 mm I.D. x 30 cm	25,000	高性能分析用、キャピラリー用
0021845	TSKgel SuperSW3000	4	1.0 mm I.D. x 30 cm	18,000	高性能分析用、キャピラリー用
0018674	TSKgel SuperSW2000	4	4.6 mm I.D. x 30 cm	30,000	高性能分析用
0018762	TSKgel guardcolumn SuperSW	-	4.6 mm I.D. x 3.5 cm	-	ガードカラム
0008541	TSKgel G3000SWxL	5	7.8 mm I.D. x 30 cm	20,000	汎用カラム
0008540	TSKgel G2000SWxL	5	7.8 mm I.D. x 30 cm	20,000	汎用カラム
0008543	TSKgel guardcolumn SWxL	-	6.0 mm I.D. x 4 cm	-	ガードカラム



※ "TSKgel" は日本等における東ソー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 ☎(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](mailto:hlc@tosoh.co.jp)