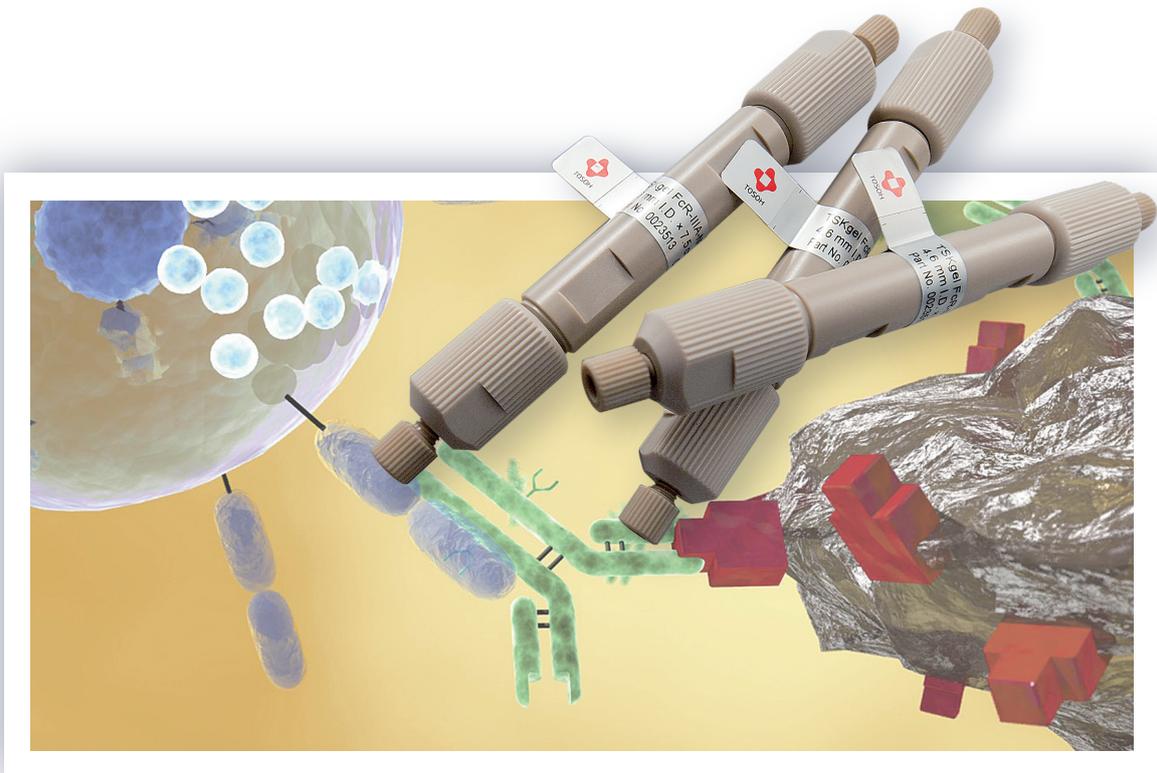




TOSOH

高性能アフィニティークロマトグラフィーカラム

TSKgel[®] FcR-IIIAシリーズ



抗体のN-結合型糖鎖に起因するFc領域の構造変化を識別

ADCC活性の異なる抗体を分離することが可能

ADCC活性が高い抗体を強く保持

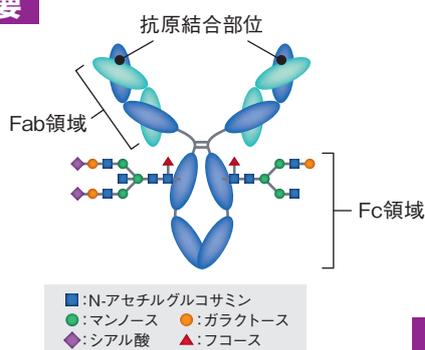
高速分析用カラム「TSKgel FcR-IIIa-NPR®」

- 抗体Fc領域のN-結合型糖鎖構造の違いを認識し、抗体のADCC活性と相関がある抗体を分離することが可能です。
- 遺伝子組換えヒトFcγレセプターIIIaをリガンドとして用いています。天然型に比べ安定性が向上しています。
- 抗体試料を直接分離することが可能です。精製や前処理の必要がありません。
- 非特異的吸着が少ないPEEKカラムを用いています。
- 短時間での分離が可能です(20分)。(平衡化時間を含めると30分/サイクルでの測定が可能)

New 分取用カラム「TSKgel FcR-IIIa-5PW」

- TSKgel FcR-IIIa-NPRと同一のリガンドを用いているため同等の分離選択性を示します。
- 約5 mgの抗体試料を負荷することが可能です。
- 1回の分取クロマトグラフィーで構造解析、活性測定に必要な量を分取することが可能です。

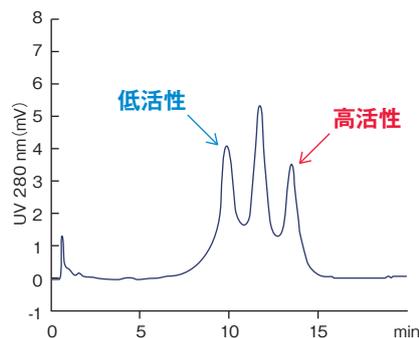
概要



抗体医薬品

- ・Fc領域の糖鎖構造により活性が異なる
⇒ 品質変動の要因となり得る

TSKgel FcR-IIIa-NPR



分析例(クロマトグラム)

糖鎖構造の違いを認識し、活性に相関のある分離

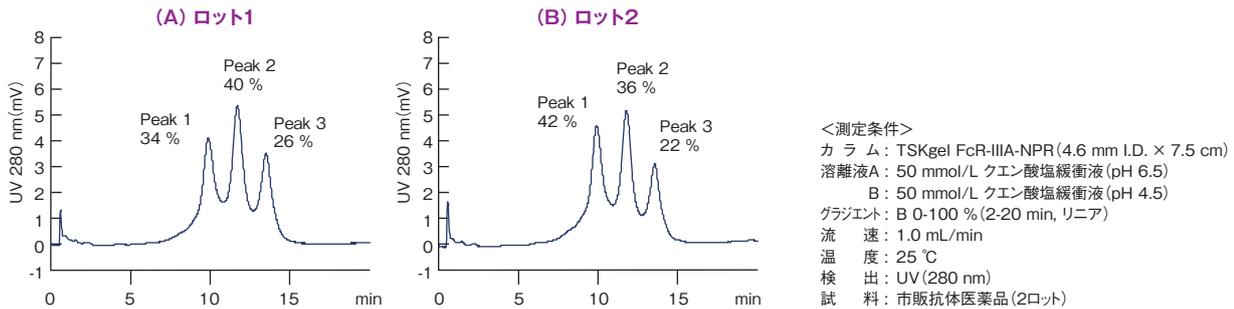
主な用途

- 特性解析 → 文献1)、2)、3)
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類似性評価 → 文献4)
- 細胞株のスクリーニング
細胞株(セルライン)(CHO細胞、HEK細胞など)による抗体の糖鎖の違い、細胞株スクリーニング → 応用例2)
- 培養条件の最適化
細胞培養日数と抗体の糖鎖性状の経時変化の確認 → 応用例3)
- 上流製造工程管理
細胞培養容量のスケールアップや培養法の変更時における抗体の糖鎖性状変化の確認
- 製品ロット品質管理
精製抗体の糖鎖性状のバッチ毎の確認およびトレンド分析 → 応用例1)
- 抗体成分の分取(TSKgel FcR-IIIa-5PW)

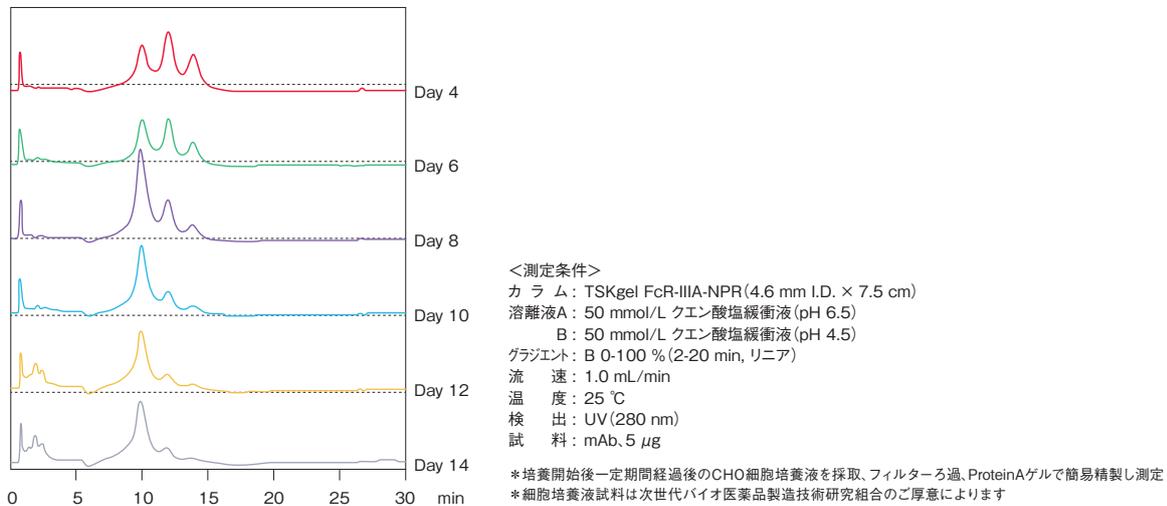
TSKgel® FcR-III Aシリーズ

応用例

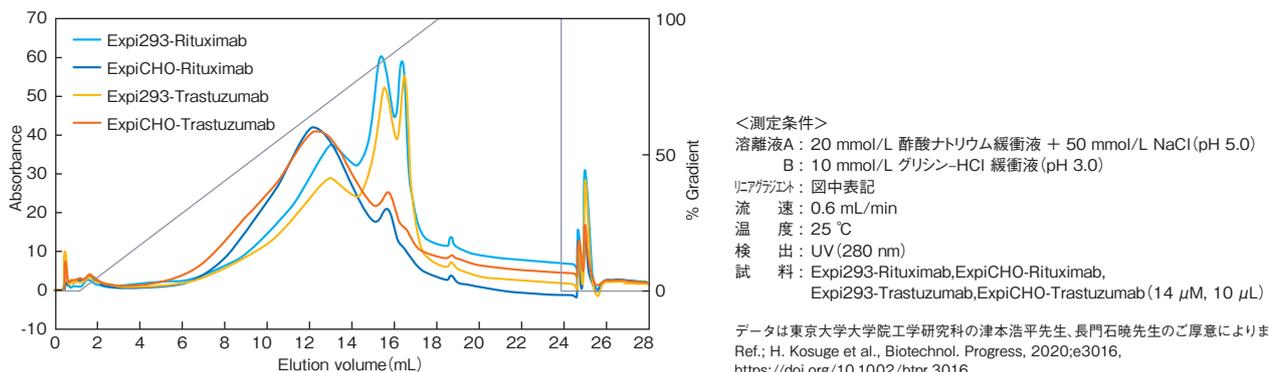
1) 品質管理への応用 (抗体医薬品のロット間差の確認)



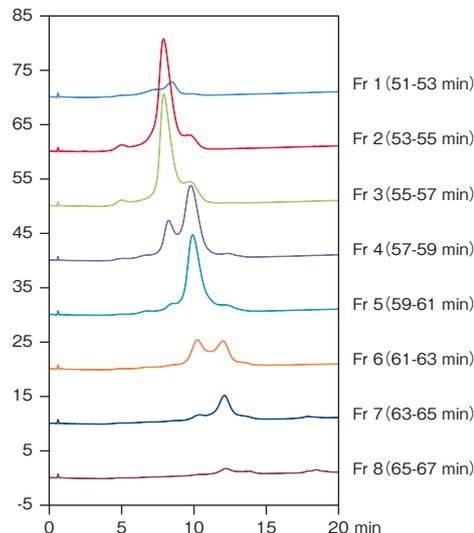
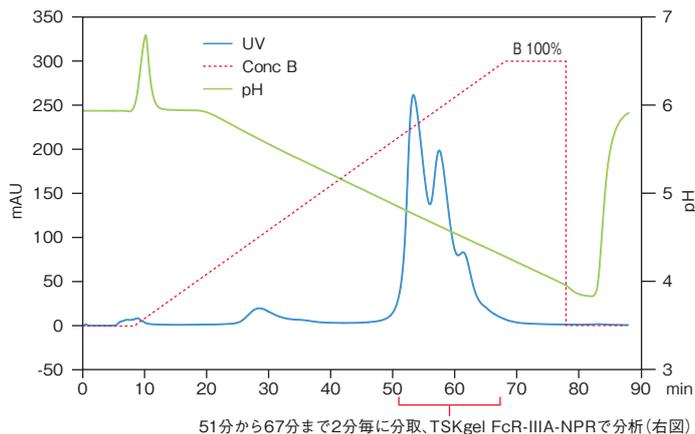
2) 工程解析への応用 (CHO細胞で培養した抗体の分析例)



3) TSKgel FcR-III A-NPRによるモノクローナル抗体の分離 (細胞株による糖鎖の違い)



4) TSKgel FcR-IIIa-5PWを用いた抗体成分の分取



<測定条件> (上図. 分取カラム)
 カラム: TSKgel FcR-IIIa-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: ヒト化抗体 (5 mg)

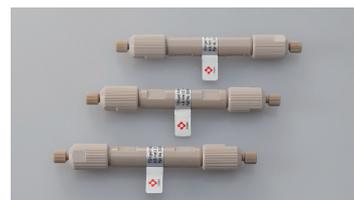
<測定条件> (右図. 分析カラム)
 カラム: TSKgel FcR-IIIa-NPR (4.6 mm I.D. × 7.5 cm)
 溶離液A: 50 mmol/L クエン酸緩衝液+150 mmol/L NaCl (pH 6.5)
 B: 50 mmol/L クエン酸緩衝液+150 mmol/L NaCl (pH 4.5)
 グラジエント: B 0-100% (2-20 min, リニア)
 流速: 1.0 mL/min
 温度: 20 °C
 検出: UV (280 nm)
 試料: ヒト化抗体 (分取した画分をそのまま注入)

■ FcRカラムを用いた文献

- FcRカラムで分離した3つの抗体ピークのN-結合型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
- 均一N-結合型糖鎖を付加した人工抗体の活性や安定性を検証、またFcRカラムを用いて人工抗体のクロマト保持時間を比較**
 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
- 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-IIIa-NPR HPLC Column by Top Down Mass Spectrometry, LCGC North America, 37(2) (2019) p142-144
- FcRカラムでバイオシミ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
- 異なる細胞株(セルライン)を用いて発現した抗体のN-結合型糖鎖の構造および物性の違いについて報告**
 H. Kosuge et al., Highly sensitive HPLC analysis and biophysical characterization of N-glycans of IgG-Fc domain in comparison between CHO and 293 cells using FcγRIIIa ligand, Biotechnol. Progress. 2020: e3016, <https://doi.org/10.1002/btpr.3016>

■ 製品一覧

品番	品名	粒子径	カラムサイズ	価格	用途
0023513	TSKgel FcR-IIIa-NPR	5 μm	4.6 mm I.D. × 7.5 cm	480,000円	分析
0023532	TSKgel FcR-IIIa-5PW	10 μm	7.8 mm I.D. × 7.5 cm	480,000円	分取



※“TSKgel”, “NPR”は日本等における東ソー株式会社の登録商標です
 ※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12743-1

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 ●製品全般、カタログに関するお問い合わせ hlc@tosoh.co.jp
 ●カラム、分離に関するお問い合わせ tskgel@tosoh.co.jp
 ●装置の技術相談に関するお問い合わせ csc@tosoh.co.jp