

高性能 AFC カラム TSKgel[®] FcR-III A-NPR について

—— 目 次 ——

	ページ
1. はじめに	1
2. 基本的性質	1
2 - 1. 充填剤の性質	1
2 - 2. 標準的分離条件	1
2 - 3. 溶離液組成の影響	3
2 - 4. 試料負荷量の影響	4
2 - 5. 耐久性	4
2 - 6. 洗浄法	5
2 - 7. 充填剤のロット間差	5
2 - 8. 保存安定性	6
3. 応用例	6
3 - 1. 抗体の測定例	6
3 - 2. 抗体糖鎖構造と保持力の関係	7
3 - 3. 細胞培養液中の抗体測定	7
4. 使用上の注意点	8
5. おわりに	8

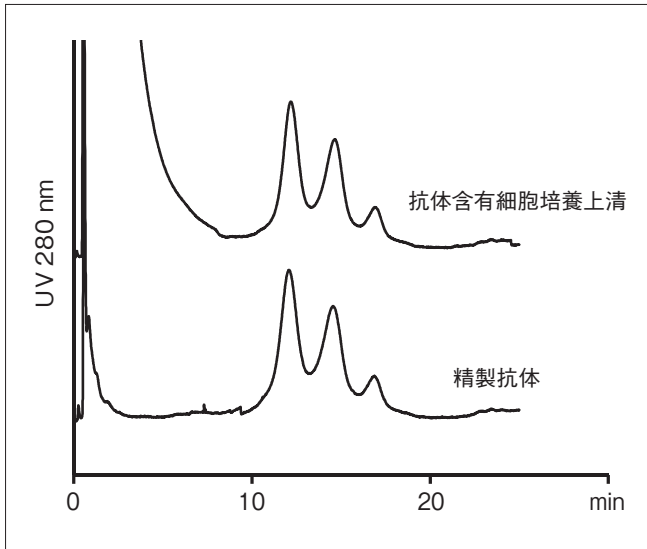


図 10 抗体含有細胞培養上清及び精製抗体の分離比較

〈測定条件〉

カラム：TSKgel FcR-III A-NPR (4.6 mm I.D. × 7.5 cm)
 溶離液 A：50 mmol/L クエン酸ナトリウム緩衝液 + 150 mmol/L NaCl (pH 6.5)

B：50 mmol/L クエン酸ナトリウム緩衝液 + 150 mmol/L NaCl (pH 4.5)

グラジエント：0 - 7分 B 0 %

7 - 25分 B 0 % → 100 %, リニアグラジエント

25 - 30分 B 100 %

30 - 35分 B 0 %

流速：1.0 mL/min

検出：UV 280 nm

温度：20 °C

試料：抗体含有細胞培養上清、精製抗体

4. 使用上の注意点

表 4 に使用上の注意点を記します。

表 4 使用上の注意点

HPLC システム	<ol style="list-style-type: none"> 使用前の系内洗浄（カラムを接続する前に実施） <ol style="list-style-type: none"> 十分に系内洗浄がなされているシステム 0.1 mol/L クエン酸水溶液を 1.0 mL/min で約 30 分送液し系内洗浄を実施。 古いシステム、系内洗浄が不十分なシステム <ol style="list-style-type: none"> 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液を 1.0 mL/min で約 30 分送液。 純水を 1.0 mL/min で約 30 分送液。 0.1 mol/L クエン酸水溶液を 1.0 mL/min で約 30 分送液。 1)、2)とも上記の洗浄を実施した後、溶離液 A に置換し 1.0 mL/min で約 15 分送液後、ブランクグラジエントを実施して下さい。 その後、カラムを接続し平衡化、ブランクグラジエントを実施してから測定を開始して下さい。 ラインフィルター ポンプとインジェクターの間に、ラインフィルターを装着することをお勧めします。 ・ラインフィルターキット PEEK（品番：0018014） 冷却機能付きカラムオープン カラムの使用温度は 15 ~ 25 °C です。試料の溶出時間は温度の影響を受けますので、冷却機能付きカラムオープンで一定の温度に保ち測定することをお勧めします。
溶離液	<p>本検討では溶離液としてクエン酸塩緩衝液を用いております。本溶離液は微生物が発生しやすいので、使用時に調製することをお勧めします。また、クエン酸塩緩衝液に限らず、溶離液は調製後細孔径 2 μm のフィルターでろ過してから使用することをお勧めします。</p> <p>尚、本検討で使用したクエン酸塩緩衝液は、クエン酸を純水に溶解後、水酸化ナトリウム水溶液で pH を調整し作製しました。</p>
試料溶液	<p>試料溶液は細孔径 0.2 μm のフィルターでろ過し注入することをお勧めします。</p>
カラムの洗浄	<p>インジェクターから 0.5 mol/L NaCl を含む溶離液、または 20 % エタノールを含む溶離液を数回注入して下さい。</p>
カラムの保管	<p>出荷溶媒 (0.025 % ProCline® 300 + 0.65 mmol/L クエン酸 + 9.35 mmol/L クエン酸三ナトリウム (pH 6.5)) に置換後、冷蔵保存して下さい (2 ~ 8 °C)。</p>
カラムの使用期限	<p>カラムには使用期限が有ります。使用期限はカラム化粧箱及びカラムに添付されている Analysis report に記載されています。</p>

5. おわりに

以上、抗体医薬品向け新規 AFC カラムである TSKgel FcR-III A-NPR について概説しました。従来、抗体医薬品の糖鎖構造解析や活性評価を行うためには高価な装置や煩雑な作業が必要でしたが、本カラムを用いた新規測定法は、

非常に簡便かつ短時間で再現性の良い結果を得ることが可能です。また、本カラムは抗体医薬品の品質管理だけでなく、生産用細胞株のスクリーニングや細胞培養液組成の最適化、培養工程の工程解析などにも利用可能です。

※“TSKgel”は東ソー株式会社の登録商標です。



TOSOH

本製品の研究開発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

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 バイオエス	☎ (06) 6209-1948	〒541-0043	大阪市中央区高麗橋4-4-9
名古屋支店 バイオエス	☎ (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

お問い合わせe-mail tskgel@tosoh.co.jp

バイオサイエンス事業部ホームページ <http://www.separations.asia.tosohbioscience.com/>