

陽イオン交換カラムBioPro IEX SFを用いたモノクローナル抗体の高分離分析

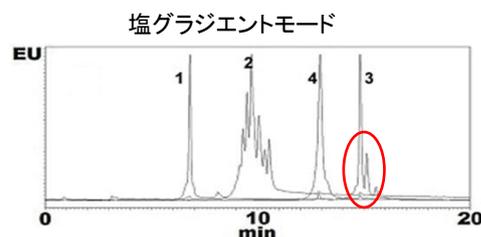
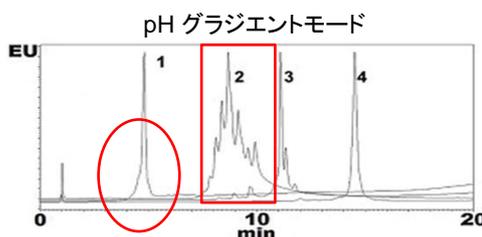
R161031A

ジュネーブ大学、ローザンヌ大学のS. Feketeらは、4種のノンポーラスタイプの陽イオン交換カラムを用いてpHグラジエントモードおよび塩グラジエントモードで各種モノクローナル抗体の分析を行い、選択性や分離の比較を行いました。検討の結果、多くのケースにおいて、BioPro IEX SF(旧名称YMC-BioPro SP-F)で高分離が得られる結果となりました。また、アイソフォームやチャージバリエーションなどの分離に、カラムを連結し、長時間かけた緩いグラジエント勾配で分析を行うことで、高分離が得られています。

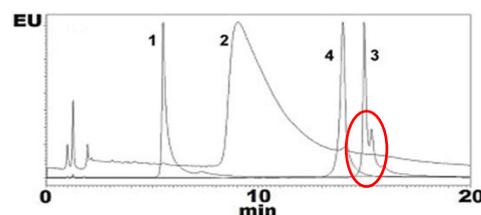
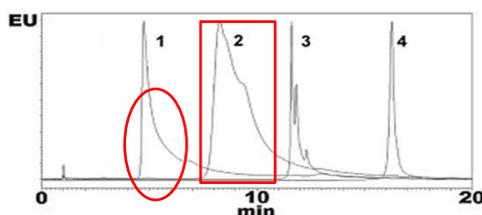
モノクローナル抗体の分離比較

4種のモノクローナル抗体について、pHグラジエントモード、塩グラジエントモードにおいて、BioPro IEX SFを含む強カチオン交換カラム3種、弱カチオン交換カラム1種の4製品で分離比較を行いました。

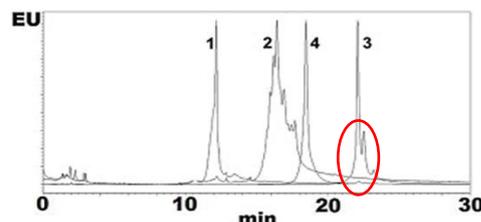
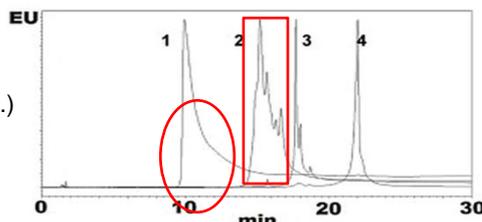
BioPro IEX SF
(スタイプ 5 μ m 100 X 4.6 mmI.D.)



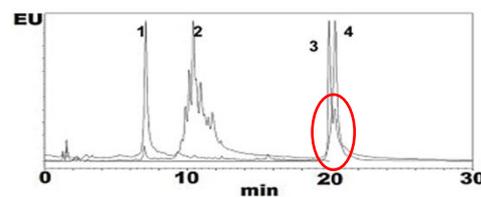
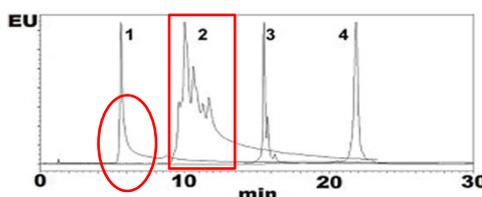
Waters: Protein-Pak Hi Res SP
(スタイプ 7 μ m 100 X 4.6 mmI.D.)



Sepax: Antibodix WCX-NP3
(WCXタイプ 3 μ m 150 X 4.6 mmI.D.)



Thermo Scientific: MAbPac SCX-10
(スタイプ 5 μ m 150 X 4.6 mmI.D.)



1. Natalizumab (ヒト化IgG4, pI=7.3)
2. Cetuximab (キメラIgG1, pI=7.9)
3. Adalimumab (完全ヒトIgG1, pI=8.4)
4. Denosumab (完全ヒトIgG2, pI=8.8)

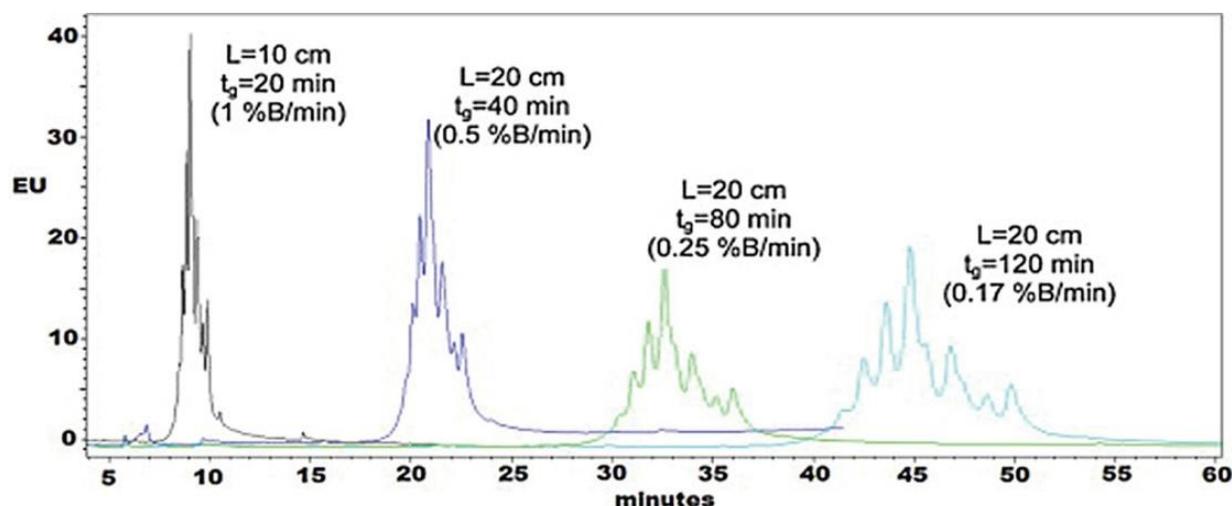
Eluent : A) CX-1 pH Gradient Buffer A* (pH 5.6)
B) CX-1 pH Gradient Buffer B* (pH 10.2)
0-100%B (0-20 min) for 100 X 4.6 mmI.D.
0-100%B (0-30 min) for 150 X 4.6 mmI.D.
Flow rate : 0.6 mL/min

Eluent : A) 10 mM MES-NaOH (pH 5.7)
B) 10 mM MES-NaOH (pH 5.7) containing 1 M NaCl
0-20%B (0-20 min) for 100 X 4.6 mmI.D.
0-20%B (0-30 min) for 150 X 4.6 mmI.D.
Flow rate: 0.6 mL/min

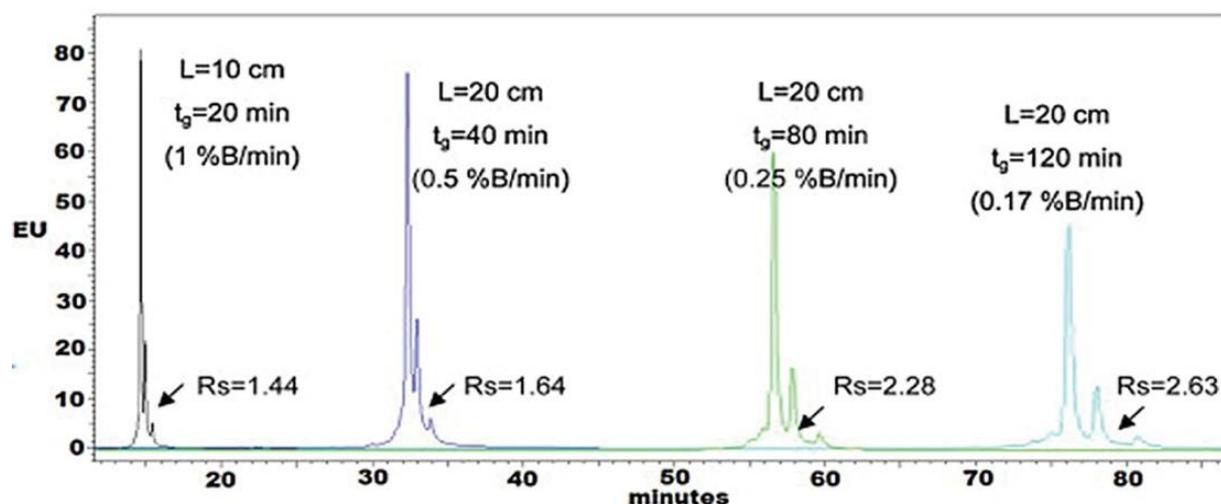
*Purchased Thermo Fisher Scientific Inc.

- ナタリズマブ(ピーク1)では、そのアイソフォームが吸着し、ピークがブロードになりがちですが、BioPro IEX SFでは非常にシャープなピークが得られています。
- セツキシマブ(ピーク2)ではBioPro IEX SFにおいてチャージバリエーションのピークが多数確認できています。
- アダリムマブ(ピーク3)とそのアイソフォームとの分離において、BioPro IEX SFの塩グラジエントモードで最も良好な分離が得られています。
- どちらのモードにおいても、非特異的吸着が極めて小さいBioPro IEX SFでは、シャープなピークが得られ、チャージバリエーションやアイソフォームなどの分離に有効なことがわかります。

Cetuximab



Adalimumab



塩グラジエントモード

Column : BioPro IEX SF 5 μ m,
100 X 4.6 mmI.D. X 2
Eluent : A) 10 mM MES-NaOH (pH 5.7)
B) 10 mM MES-NaOH (pH 5.7)
containing 1 M NaCl
Flow rate : 0.6 mL/min

分離が難しいバリエーションやアイソフォームなども、BioPro IEX SF 5 μ m, 100 X 4.6 mmI.D.のカラムを2本連結し、長時間の緩いグラジエント勾配にすることで高分離が得られています。

抗体などのバイオ医薬品分析に最適なBioPro IEXカラム

BioPro IEXカラムは非特異的吸着が極めて小さい親水性ポリマーを基材としたイオン交換カラムです。リガンド導入量などの担体表面構造やカラムへの充填密度の最適化などにより、優れたピーク対称性と高分離能を実現しています。

特にノンポーラタイプは極めて高い分離能を有し、超高速分析が可能です。また、高分離能が要求されるバイオ医薬品の特性解析や品質管理などにも有効です。



References

S. Fekete, A. Beck, D. Guilleme, Characterisation of cation exchanger stationary phases applied for the separations of therapeutic monoclonal antibodies, J. Pharm. Biomed. Anal., 2015, 111, 169–176.