

モノクローナル抗体 (mAbs) の自家蛍光分析

Application Note: AN 2.008

抗体は、がん、アレルギー、炎症、感染症、自己免疫疾患など、さまざまな疾患の制御に重要な役割を果たす治療薬の一種です。モノクローナル抗体はバイオ医薬品の主要な製品となっています。製薬業界では、大規模生産に適用可能なツール、製品の特性評価や製造プロセスの制御に対する需要が高まっています。バイオ医薬品業界における抗体医薬品の特性解析、プロセス開発、品質管理をサポートするために、キャピラリー電気泳動-ドデシル硫酸ナトリウム (CE-SDS) は、その使いやすさと自動化機能により、ドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) の重要な代替ツールとして認識されています。

このアプリケーションノートでは、275nm LED誘起蛍光検出器を使用したIgGとその不純物の品質管理分析の方法についてご紹介します。

分選メソッド

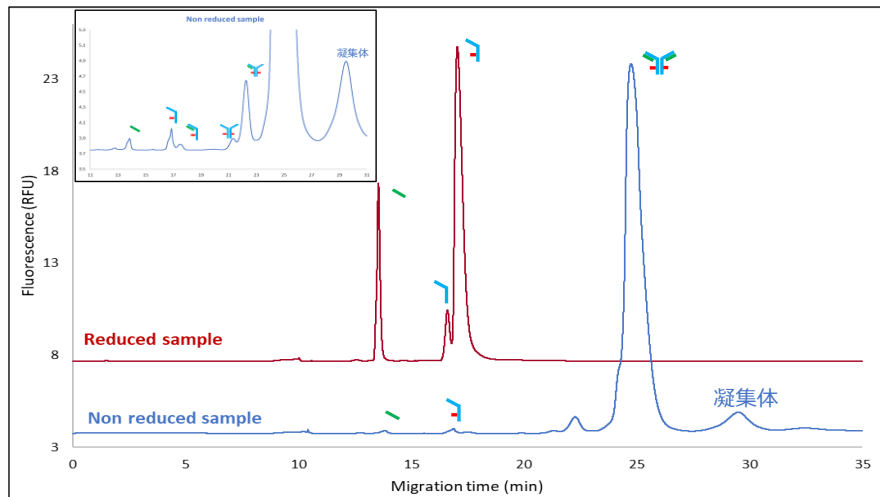


Figure 1 : 1 mg/mLの抗体医薬品の分析
 (赤) 還元サンプル: 50 µLの抗体医薬品に1.5 µLのメルカプトエタノールを加え、70 °Cで10分間加熱
 (青) 非還元サンプル

メソッドの主な特徴 :

275 nm LEDを使用すると、タンパク質に含まれるトリプトファンやチロシンを、蛍光標識なしで励起することができます。

- 電気的注入 : -15 kV during 15 seconds
- 分離 : -15 kV during 35 min
- 温度 : 15 °C
- バッファー : SDS-MW gel buffer (A10663, Sciex)

装置 :

- キャピラリー電気泳動 : Agilent Technologies 7100 CE
- 検出器 : ZETALIF LED 275
- フューズドシリカキャピラリー : 50 µm ID 全長 = 33 cm 有効長 = 14 cm

検量線と検出限界 (LOD)

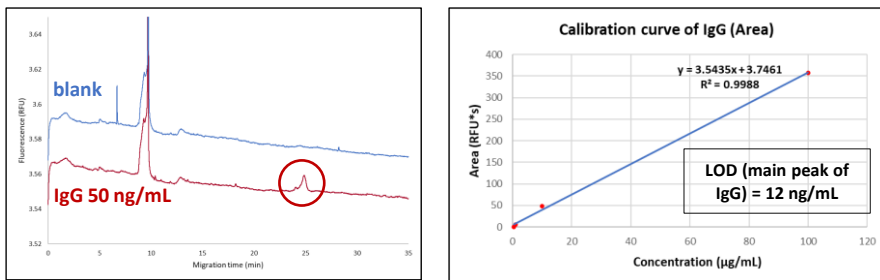


Figure 2 : IgGの検量線と検出限界 (LOD)

IgGの自家蛍光で得られた検出限界は12 ng/mL (LODはS/N=3で計算)

CE-SDSにおける各種検出方法の比較

Table 1 : CE-SDSにおける各種検出方法とLOD

CE-SDS	UV Absorbance	Native Fluorescence		Fluorescence Derivatization	
	Wavelength (nm)	266	275	488	532
LOD	500ng/mL ^[1]	25ng/mL ^[2]	12ng/mL	150pg/mL ^[3]	50pg/mL ^[3]

[1] Hunt G, Nashabeh W, *Anal. Chem.*, 1999, 71, 2390-97

[2] Rodat A, Couderc B, Feurer F, Couderc F, *Electrophoresis*, 2010, 31, 396-402

[3] Application note AN.066 - Adelis

結論 :

275 nm LEDによる自家蛍光検出は、良好な分解能が得られるため、不純物アッセイのようなモノクローナル抗体製造のためのシンプルで高感度なソリューションです。抗体の分解、分子の不安定性、製造上の不整合は、この方法で簡単に追跡することができます。