

2P-209 スピнкаラムによる抗体の迅速精製

○水口 博義^{1,2}, 皿良 剛^{1,2}, 太田 茂徳^{1,3}, 広田 潔憲^{1,4}
 (1次世代バイオ医薬品製造技術研究組合, 2京都モノテック,
 3ジーエルサイエンス, 4産総研・バイオメディカル)
 minakuchi@k-monotech.co.jp

シリカモノリスを分離媒体とし、簡便に短時間で抗体を精製できるスピнкаラム型の抗体精製カラムの開発を行った。シリカモノリスは μm サイズのマクロ細孔とシリカ骨格が互いに連続して絡み合った構造を持っており、シリカ骨格内には nm サイズのメソ細孔が存在する。この多孔体を棒状あるいは円盤状(一体型)で分離媒体として用いるものであり、高速で分離可能であるという特徴を有している。このシリカモノリスの表面にプロテインAを化学的に結合した抗体精製スピнкаラムを作製し性能評価を行った。スピнкаラムは遠心あるいは減圧操作のみで、短時間・簡便に抗体精製を可能とする。シリカモノリスのサイズは直径9mm、厚さ5、10、15mmの3種類を作製した。シリカモノリスのマクロ細孔径は減圧操作でも送液が可能となるよう $2\mu\text{m}$ とし、メソ細孔径は抗体が細孔内を移動可能となるよう60nmとした。作製したスピнкаラム型の抗体精製カラムの抗体結合特性を調べた。試料として抗体を含む培養液を使用し、遠心操作による抗体結合量を測定した。抗体濃度が約1mg/mlの試料を20mlアブライし、約1分間の遠心操作で通液を行った。引き続き洗浄溶媒、溶出溶媒を通液し精製抗体を得た。得られた抗体量は約10mgであった。この時、抗体試料の滞留時間は3秒程度と見積もられ、非常に高速で通液しても抗体を結合できるカラムが作製できていることを確認した。また、全体の精製時間は5分間程度であり、短時間・簡便に抗体を精製できるツールであることを実証した。

Rapid purification of antibodies by using a spin column

○Hiroyoshi Minakuchi^{1,2}, Gou Sarara^{1,2}, Shigenori Ohta^{1,3}, Kiyonori Hirota^{1,4}
 (1Manufacturing Technology Association for Biologics, 2Kyoto Monotech co.,LTD,
 3GL Sciences Inc., 4Biomed. Res. Inst., AIST)

Key words antibody, purification, monolith

2P-210 シリカモノリス固定化プレートを用いた迅速抗体精製、前処理用自動化装置の開発

○太田 茂徳^{1,4}, 水口 博義^{2,4}, 広田 潔憲^{3,4}
 (1ジーエルサイエンス, 2京都モノテック, 3産総研, 4次世代バイオ医薬品製造技術研究組合)
 sig-ota@glsc.co.jp

【背景と目的】 抗体医薬品開発における産生細胞の構築、スクリーニング段階において、培養液中の抗体濃度を測定するためのより迅速、簡便な抗体の精製手法が求められている。マクロサイズの細孔とシリカ骨格を独立して制御可能なシリカモノリスゲルは、迅速精製に用いるクロマトグラフィー用の担体として注目されており、演者らはこれまでに抗体の迅速精製用ツールとして、ProteinAを修飾したシリカモノリスを固定化した96ウェルプレートの開発を行ってきた。本報告では、プレート処理をより短時間、簡便に行うことが可能な全自動固相抽出装置の開発を行うことを目的とした。
【方法】 処理を行うための溶液の吸引条件、溶液の粘性を考慮したアブライ条件を最適化した。減圧を繰り返す際の吸引条件を最適化し、プレート先端部のノズルに残存する溶液の除去を自動で行うための機構を取り入れた。開発したシステムを用いてCHOの培養細胞からの抗体の回収を行いシステムの検証を行った。
【結果】 開発した精製システムは短時間の吸引処理で、全自動精製処理を行うことができ、96サンプルの処理を10分以内に完了することができた。CHO細胞の培養液からの回収においても、1ウェルあたりの抗体の最大回収量は400 μg であり、回収率は95%(CV値1.5%)を示した。本システムを用いることで、CHO細胞構築におけるスクリーニングにおいて迅速に抗体濃度測定が可能になると考えられる

Development of automation system for rapid purification of Immunoglobulin using monolithic silica fixed plate.

○Shigenori Ota^{1,4}, Hiroyoshi Minakuchi^{2,4}, Kiyonori Hirota^{3,4}
 (1GL Sciences Inc., 2Kyoto Monotech, 3AIST, 4Manufacturing Technology Association for Biologics)

Key words antibody, purification

2P-211 新規抗体精製用アフィニティ充填剤の開発

○大高 誠治^{1,2}, 小柳 圭司^{1,2}
 (1大阪ソーダ, 2次世代バイオ医薬品製造技術研究組合)
 sohtaka@daiso.co.jp

近年、バイオ医薬品市場が急速に伸びる中、我々ダイソー株式会社は、抗体医薬精製用アフィニティ充填剤ADREPMA (Advanced Recombinant Protein for Monoclonal Antibody)を開発した。本品は、担体に当社製シリカゲルを、リガンドに改質プロテインAをそれぞれ用いており、高流速域(低接触時間)での高動的結合性能(DBC)と、温和なpH領域(pH4.0~4.5)での高溶出性能を実現した。高速処理により、精製時間の短縮によるコスト削減効果が、また高pHでの高溶出性能により凝集体生成の抑制や抗体の変性の抑制効果がそれぞれ期待できる。本充填剤は従来品に無い特性を兼ね備えている。

New Affinity Chromatography Media for Antibody Purification

○Seiji Ohtaka^{1,2}, Keiji Koyanagi^{1,2}
 (1Osaka Soda Co., Ltd., 2Manufacturing Technology Association for Biologics)

Key words Affinity Media, Affinity Ligand

2P-212 分離精製剤を目指したセルロースモノリスの開発

○岡庭 夏己^{1,2}, 岩本 恵里^{1,2}, 名嘉真 剛^{1,2}
 (1JNC, 2次世代バイオ医薬品製造技術研究組合)
 n.okaniwa@jnc-corp.co.jp

【背景と目的】 近年、拡大するバイオ医薬品では、高速、高容量に対応できる分離精製技術が求められている。そこで我々は、セルロースモノリスの検討を進めている。セルロースは安定性の高い天然高分子であり、またモノリスは三次元骨格と空隙が一体となった構造体である。今回、このセルロースモノリスの分離精製剤としての可能性を評価したので、結果を報告する。
【方法】 乳酸エチル、1-プロパノール、精製水の混合溶液中で酢酸セルロースを加熱溶解後、緩やかに冷却して、モノリス構造を有する酢酸セルロースを析出させた。次にこのモノリスにケン化、架橋、リガンド導入を行った。リガンドには、陰イオン交換基として、DEAEと4級アンモニウムを用いた。このリガンド導入セルロースモノリスを用いて、BSAおよびDNAの吸着性と通液性の評価を実施した。
【結果と考察】 いずれにおいてもBSAの10%DBCが約20mg/ml、DNAの10%DBCは約15mg/mlとなった。また、10%DBCの滞留時間短縮による低下は小さく、モノリスの特徴が確認できた。

Development of cellulose monolith for chromatography

○Natsuki Okaniwa^{1,2}, Eri Iwamoto^{1,2}, Tsuyoshi Nakama^{1,2}
 (1JNC Corp., 2Manufacturing Technology Association for Biologics)

Key words purification, cellulose, monolith