

非対称フローFFF と UV による組換え抗体の 温度安定化、断片化および凝集体の評価

一般情報

ID0013

アプリケーション：薬剤、医学

テクノロジー：AF4-UV

機器構成：AF2000MT、PN3240 4 チャンネル UV 検出器(280nm)

キーワード：非対称フローFFF、組み換え抗体、安定性評価、凝集体

はじめに

組換え抗体は現代の医薬品製剤で広く使用されています。非対称フローFFF(AF4)はこの種の抗体の特性評価には最適な分析技術です。AF4 は抗体種だけでなく、そのフラグメントと凝集体も評価できることです[1]。さらに、サンプルの構造と不均一性のわずかな違いでさえも判断できます。

実験項

図 1 は AF4 を使用することで、抗体種自体だけでなく、2つのフラグメントおよび、凝集体も分離し、特性評価できることを明らかにしています。メインピークに関しては形状が対称ではないため、不均一性を示しています。凝集体領域ではピークがブロードな為抗体種が異なる構造であることを示しています。

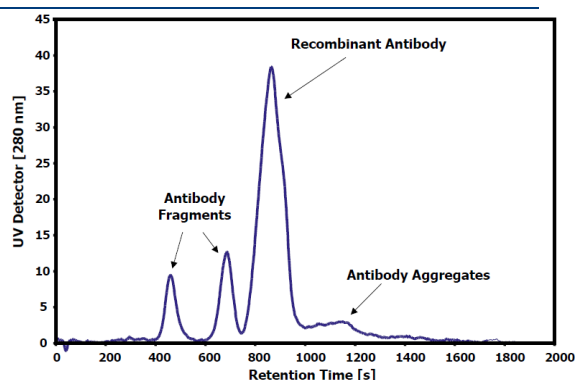


図1: 凝集体とフラグメントを含む抗体の変化

図 2 は異なる温度で処理した抗体の変化を示しています。抗体が 30°Cの温度で処理された場合、フラグメントおよび凝集体が検出されない結果となります。

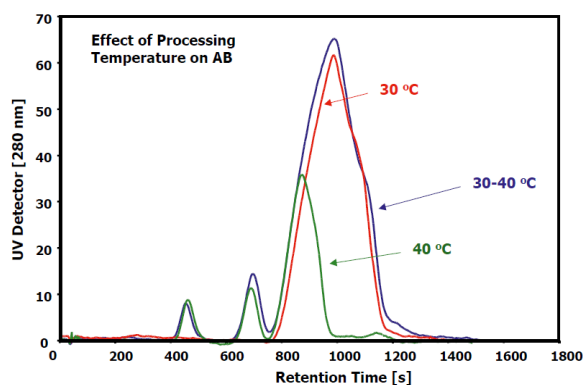


図2: 異なる処理温度での抗体の変化

30～40°Cの処理温度では、抗体フラクションはその分布に大きな変化を見せています。サンプル内に 2 つのフラグメントピークを検出できます。このフラグメント化は温度の上昇が原因です。メイン抗体のピークは実質的に変化しませんが、わずかにピークの広がりが観察されます。

処理温度を 40°C に上げると、抗体サンプルの分布がさらに変化します。注入量は他の処理温度での測定よりも少ないことに注意してください。メイン抗体のピークは溶出時間が劇的に変化します。さらに、立体構造の異なる抗体フラクションはほぼ完全に分解されています。フラクトグラムは抗体のメインピークは以前に観察されたピークよりもはるかに対称的です。さらに、より早い溶出時間にシフトしていることから、より高い拡散係数を伴う小さなサイズであることを示しています。また、このサンプルではメイン抗体のピーク後に凝集体のピークも検出しています。これは、元の抗体は著しく劣化し、サンプル内に増加したフラグメントを形成しています。これにより、処理温度を上げると、主に凝集体の量よりもフラグメントの量が多くなることが確認できます。

まとめ

この研究では、組換え抗体の安定性、フラグメント化、凝集に対する温度の影響を評価しました。これにより、温度により引き起こされる抗体分解のモニタリングツールとして UV 検出器と組み合わせた AF4 の優れた適用性を示し、抗体自体が凝集体よりもむしろフラグメントに分解されることが明らかになりました。

参考文献

[1] Gabrielson J.P., Brader M.L., Pekar A.H., Mathis K.B., Winter G., Carpenter J.F., Randolph T.W., Journal of Pharmaceutical Sciences, 2007, 96(2), 268-279.