

## 抗体医薬品の糖鎖の AFC 分析はこれで決まり！(2)

(文献紹介;2報)

TSKgel FcR-III A-NPR®, FcR-III A-5PW を用いた培養培地の評価、ADC の糖鎖解析



抗体医薬品や抗体薬物複合体(ADC)は、結合した糖鎖によりその薬効が大きく異なることが知られています。これらの糖鎖は、組換えヒト Fcγ レセプター IIIa (FcγRIIIa) を非多孔性充填剤に固定化したアフィニティークロマトグラフィー(AFC)カラム TSKgel FcR-III A-NPR により分析することができます。このカラムは以下の図に示すように、抗体産生において抗体依存性細胞傷害(ADCC)活性の高い細胞株のスクリーニングや培養培地の検討、細胞培養時のオンラインモニタリングなど様々な工程に使用可能です。そのほか、精製抗体の製造ロット・バッチの品質評価、オリジナル抗体とバイオシミュラー抗体の比較評価、抗体薬物複合体(ADC)精製後の性能評価などへの応用も考えられます。さらに多孔性充填剤を基材とした TSKgel FcR-III A-5PW を用いることで、ラボレベルでの抗体のセミ分取クロマトグラフィーも可能になりました。以下に培養培地の検討、および抗体の糖鎖の構造・長さの影響や ADC の AFC 分析について検討された文献を 2 報紹介致します。

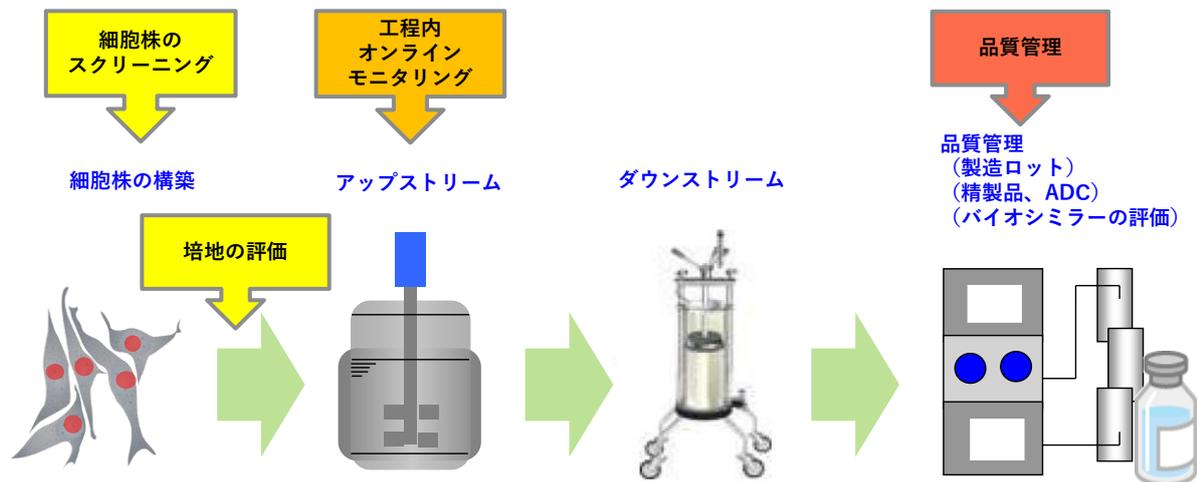


図 TSKgel FcR-III A-NPR による抗体医薬品の糖鎖分析における応用範囲

### 文献 1；細胞培養培地の抗体産生への影響の検討

R. Miyajima et al., Intracellular polyamine depletion induces N-linked galactosylation of the monoclonal antibody produced by CHO DP-12 cells, Journal of Biotechnology, 317 (2023) 1-10

<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2023.10.008>, [https://www.tus.ac.jp/today/archive/20240112\\_1902.html](https://www.tus.ac.jp/today/archive/20240112_1902.html)

#### (要旨)

動物細胞培養により得られた抗体医薬品の N-結合型糖鎖の不均一性は薬効に影響を及ぼすため、その生産プロセスにおいて適切な制御が求められる。抗体医薬品の産生細胞である CHO 細胞は、無血清培地では細胞増殖因子ポリアミンを生合成できない。そこで我々は抗体産生においてポリアミンが N-結合型糖鎖に与える影響を調べた。その結果、ポリアミンの生合成阻害剤である α-ジフルオロメチルオルニチン(DFMO)の添加により細胞増殖が弱まり、抗体産生量は 30%減少することがわかった。一方ポリアミン欠損による小胞体ストレスが β1,4-ガラクトース転移酵素 1 (B4GAT1) の mRNA 量を増加させ、ガラクトシル化 IgG 量を亢進させた。また細胞内にポリアミンが枯渇した細胞に外部からポリアミンを添加した結果、抗体産生量の回復とガラクトシル化が抑制された。ポリアミンの添加は抗体の安定生産に有用であり、抗体の品質制御の可能性が示唆された。

(この論文では、産生抗体のガラクトシル化の度合いが、AFC カラム TSKgel FcR-III A-NPR により分析された)

## 文献 2；抗体の特糖鎖の長さの影響、抗体薬物複合体(ADC)調製時の抗体糖鎖構造への影響の検討

M. Hiranyakorn et al., Chromatographic analysis of the *N*-glycan profile on therapeutic antibodies using FcγRIIIa affinity column chromatography, ACS Omega 2023, 8, 16513-16518, CC-BY-NC-ND,

<https://doi.org/10.1021/acsomega.3c02374?urlappend=%3Fref%3DPDF&jav=VoR&rel=cite-as>

### (要旨)

FcγRIIIa 固定化 AFC カラムを用い、抗体の特糖鎖の構造（長さ）が保持時間に与える影響について、各種抗体医薬品、Fc、Fab、抗体薬物複合体(ADC)などを用いて検討した。不均一な糖鎖を持つ抗体は、複数の分離ピークを示した。一方、均一糖鎖を持つ抗体では単一の溶出ピークを示した。また、Cys 結合型の ADC では、元の抗体と同じ数、あるいはそれ以上のピークが観測されたが、Lys 結合型の ADC では明確なピーク分離は確認できなかった。FcγRIIIa 固定化 AFC カラムによる分析法は、ADCC 活性を反映しており、完全抗体のみならず、細胞依存性アッセイが難しい Fc 断片の評価にも応用できる。抗体や ADC、Fc 断片における ADCC 活性を制御するためのグリカンのリモデリング戦略についても示した。

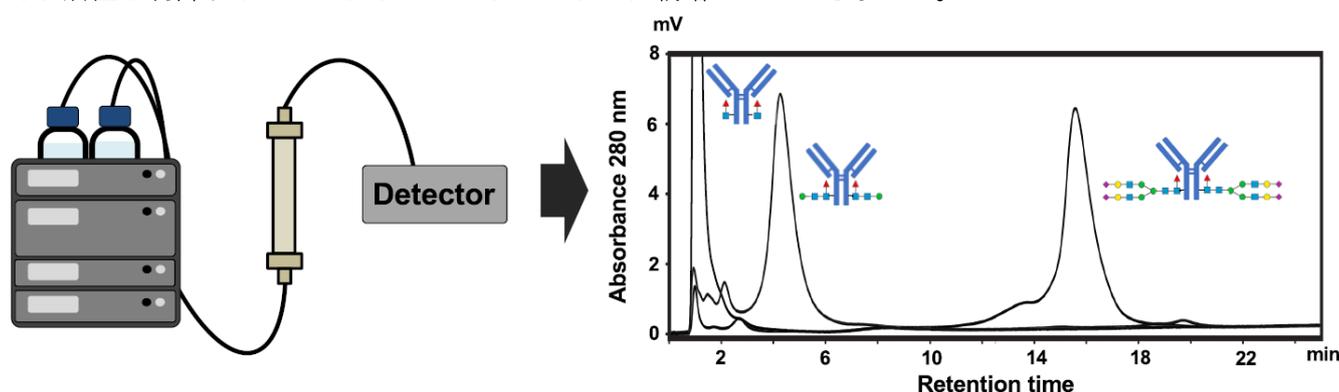


図 FcγRIIIa 固定化カラムによるアフィニティークロマトグラフィー

Ref.; M. Hiranyakorn et al., Chromatographic analysis of the *N*-glycan profile on therapeutic antibodies using FcγRIIIa affinity column chromatography, CC-BY-NC-ND, <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c02374?urlappend=%3Fref%3DPDF&jav=VoR&rel=cite-as>

### ●TSKgel FcR-III A-NPR、TSKgel FcR-III A-5PW の応用に関する技術資料

- テクニカルノート TSKgel No. 10、細胞株スクリーニング用カラムはこれで決まり！
- テクニカルノート TSKgel No. 12、バイオシミラー抗体の特糖鎖評価はこれで決まり！
- テクニカルノート TSKgel No. 17、細胞株の違いによる抗体糖鎖分析はこれで決まり！
- テクニカルノート TSKgel No. 18、糖鎖に基づいた抗体のアフィニティー分離はこれで決まり！
- テクニカルノート TSKgel No. 25、抗体医薬品の糖鎖の AFC 分析はこれで決まり！

※たんぱく質、ペプチド、核酸等の SEC 分離に関する技術資料は、弊社ホームページ <https://www.separations.asia.tosohbioscience.com/litjp> からアクセスできます



TOSOH

※“TSKgel”、“NPR”は日本等における東ソー株式会社の登録商標です

※掲載のデータ等はその数値を保証するものではありません。お客様の使用環境・条件・判断基準に合わせてご確認ください

## 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) 6636-3733	〒104-0028 東京都中央区八重洲2-2-1
大阪支店 内村エリカ ☎(06) 6209-1948	〒541-0043 大阪市中央区高麗橋4-4-9
名古屋支店 内村エリカ ☎(052) 211-5730	〒460-0008 名古屋市中区栄1-2-7
福岡支店 ☎(092) 710-6694	〒812-0011 福岡市博多区博多駅前3-8-10
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](mailto:tskgel@tosoh.co.jp)

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