



2025年1月23日

報道関係者各位

慶應義塾大学

## ペプチド模倣高分子による新規抗体精製法の開発 —抗体医薬品の課題であった精製コストの削減につながる成果—

慶應義塾大学大学院理工学研究科の出浦浩一（修士課程1年）、同大学理工学部の蛭田勇樹准教授、および同大学薬学部の森脇康博専任講師らの研究グループは、プロテインA（※1）の抗体結合領域を模倣した合成高分子を高速液体クロマトグラフィー（※2）用のカラム充填剤（※3）の表面に修飾し、pH依存的な抗体医薬品の保持・溶出挙動を評価しました。その結果、本充填剤がプロテインAを修飾したカラム充填剤と同様に、中性pHで抗体を保持・酸性pHで抗体を溶出することを明らかにし、低コストかつ安定性の高い抗体精製手法として応用可能であることを見出しました。

抗体医薬品は、がんや自己免疫疾患に対する画期的な治療薬として近年ますます需要が高まっています。抗体の精製コストは、抗体医薬品の総製造コストの6割程度を占めており、低コスト化が急務となっています。また、従来の精製法に用いられているプロテインAカラムには、低い安定性、高コストといった欠点を抱えています。また、低いpH条件での溶出は抗体活性の損失を引き起こす可能性が懸念されています。本研究では、タンパク質と比較して安価で安定性の高い合成高分子によってプロテインAの機能を模倣し、従来の精製法と同様の操作で抗体精製に応用しました。プロテインAの抗体結合領域（Z34C）のアミノ酸配列および、抗体との結合に重要なアミノ酸であるヒスチジンの機能を模倣し、プロテインAカラムと同様にpH依存的な抗体の保持・溶出挙動を合成高分子に付与しました。さらに、穏やかな溶出条件（pH5）の下、ハイブリドーマ細胞培養上清（※4）から80%を超える回収率で抗体を精製することに成功しました。加えて、100回連続の精製や半年間の使用後も再現性の高い回収率を維持しており、再利用性や耐久性を有することが確認されました。以上の結果から、従来法に比べて安価で耐久性が高く、活性を維持したまま抗体精製を実現できる可能性が示されました。この技術は、市場規模の拡大を続ける抗体医薬品分野において、製造コスト削減に大きく寄与することが期待されます。

本研究の成果は、2024年11月26日に、アメリカ化学会誌「*ACS Applied Materials & Interfaces*」に掲載されました。

### 1. 本研究のポイント

- ・プロテインAの抗体結合領域（Z34C）のアミノ酸配列およびヒスチジンの構造を模倣した合成高分子をカラム充填剤表面に修飾し（図1A）、プロテインAカラム同様に中性pHで抗体を保持・酸性pHで溶出することを明らかにしました。抗体との間に働く疎水性相互作用が最適化されたHisMA20-EEEMAカラムは、穏やかな条件（pH5）で抗体を溶出することが確認されました。
- ・3種類の典型的な不純物（BSA、マウス腹水、ハイブリドーマ細胞培養上清）との混合サンプルから抗体精製試験が行われ（図2）、いずれの試験においても80%を超える高い回収率と高い純度が確認されました。
- ・半年間の使用や100回連続の精製後も再現性の高いカラム性能が確認され（図3）、本カラムの高い

再利用性と耐久性が明らかになりました。

## 2. 研究背景

抗体医薬品の急速な需要拡大に伴い、抗体の精製コスト削減を目的とした研究が近年盛んに行われています。現在抗体の初期回収ステップとして最も広く使用されるプロテイン A アフィニティークロマトグラフィーは、移動相の pH を中性 (pH 7) から酸性 (pH 3) に切り替える単純な操作で高純度の抗体を精製することができますが、高コスト、低安定性、低い pH 条件での溶出による抗体活性の損失など、さまざまな課題を抱えています。本研究グループは以前、構造内にカチオン性基とアニオン性基を有し、外部 pH に応答して表面電荷を変化させる pH 応答性混合電荷高分子をカラム充填剤に修飾することで、イオン交換モードスイッチングクロマトグラフィーを開発しました<sup>1</sup>。移動相の pH 変化に応じて分離モードを完全に切り替えることができる本カラムは、タンパク質精製に応用可能であることが示唆されていました。

## 3. 研究概要

本研究では、プロテイン A の抗体結合領域 (Z34C) を模倣した pH 応答性混合電荷高分子をカラム充填剤表面に修飾し、プロテイン A カラムと同様の操作で抗体精製に応用しました。高分子中に含まれるカチオン性、アニオン性、中性モノマーの比率は Z34C のアミノ酸配列を模倣して 1:1:3 に決定されました。さらに、プロテイン A と抗体の相互作用に重要なアミノ酸であるヒスチジンの機能を模倣するため、ヒスチジン同様にイミダゾール構造を有するカチオン性モノマーを合成し利用しました。抗体との間に働く疎水性相互作用を最適化するため、疎水性の異なる 3 種類の中性モノマーを用いて 3 種類のカラムを作製しました (図 1A)。このようなペプチドミメティクス分子設計によって合成された Z34C 模倣高分子は、プロテイン A と同様に中性で抗体を保持・酸性で抗体を溶出する pH 応答性を示しました (図 1B)。

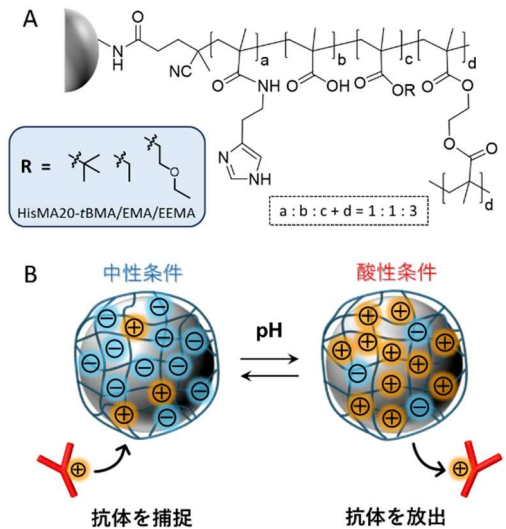


図 1 (A) 高分子の分子設計  
(B) 抗体と高分子の相互作用

## 4. 研究の成果と意義・今後の展開

抗体との疎水性相互作用が最適化された HisMA20-EEMA カラムを用い、移動相の pH を 7 から 5 に切り替えるグラジエント溶出によって、3 種類の不純物 (BSA、マウス腹水、ハイブリドーマ細胞培養上清) との混合サンプルから、2 種類の抗体医薬品 (リツキシマブ、トラスツズマブ) の精製を行いました (図 2)。その結果、全ての条件において 80% を超える高い抗体回収率が達成されました。さらに、サイズ排除クロマトグ

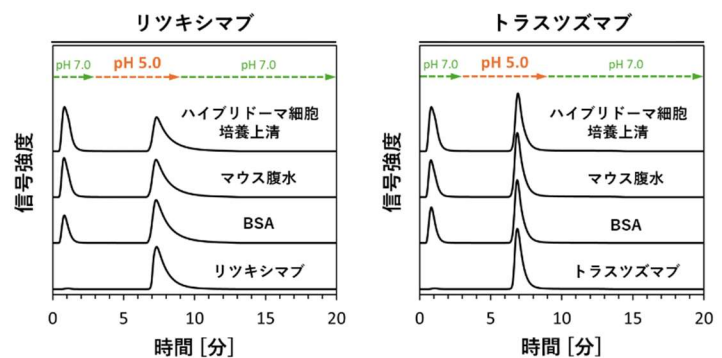


図 2 不純物との混合サンプルからの抗体精製

ラフィーによって、精製による抗体の凝集や変性が引き起こされていないことが明らかになりました。

加えて、長期間の使用に伴う耐久性や連続精製における再現性についても調査が行われました。その結果、半年間の連続的な使用前後も、リツキシマブの保持時間が98.9%維持されていたことから、本カラムの非常に高い耐久性が明らかになりました(図3A)。また、ハイブリドーマ細胞培養上清からリツキシマブを100回連続で精製した試験においても、再現性の高い抗体回収率(90 ± 1.6%)が確認されました(図3B)。

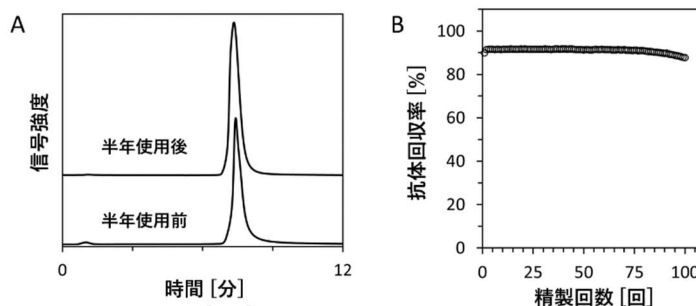


図3 (A)耐久性試験 (B)再利用性試験

本研究では、Z34C 模倣高分子を利用したカラムが抗体精製用カラムとして高い性能を有することを見出しました。本カラムは従来のプロテイン A カラムと比べて安価で耐久性が高く、市場規模の拡大を続ける抗体医薬品の製造コスト削減への寄与が期待されます。

## 5. 付記

本研究は、慶應義塾先端科学技術研究センター (KLL) による探索研究推進費の支援を受けて行われました。

### <参考文献>

- [1] Kaku, T.; Deura, K.; Yoshii, T.; Citterio, D.; Hiruta, Y. Cation/Anion-Exchange Mode Switching Chromatography Utilizing pH-Responsive Mixed Charge Polymer-Modified Silica Beads. *Molecular Systems Design & Engineering* **2024**, *9* (1), 56-62, DOI: 10.1039/d3me00100h

### <原論文情報>

Deura, K.; Sakama, A.; Moriwaki, Y.; Citterio, D.; Hiruta, Y. IgG-Binding Peptidomimetic Mixed-Charge Polymer-Modified Resins for Chromatographic Purification of Antibodies. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2024**, *16* (49), 67468-67476, DOI: 10.1021/acsami.4c16861

### <用語説明>

#### ※1 プロテイン A

細菌由来のタンパク質であり、免疫グロブリン (特に IgG) の Fc 領域に特異的に結合する。

#### ※2 高速液体クロマトグラフィー

液体試料を高圧送液ポンプと高性能充填剤のパッキングされたカラムにより、分離分析を高速に行える装置。分離モード、充填剤、検出器の選択により、多種多様な分離分析を可能にしている。

#### ※3 カラム充填剤

高速液体クロマトグラフィーなどに用いられるカラム内に詰められた基剤である。一般的に多孔性粒子が用いられており、分離用途に合わせて、さまざまな置換基、リガンドが修飾された充填剤が利

用できる。

※4 ハイブリドーマ細胞培養上清

抗体を産生する B 細胞と無限の増殖能を持つミエローマ細胞を融合したハイブリドーマ細胞が細胞培養上清中に抗体を分泌するため、培養上清から抗体を単離する技術が必要とされている。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、各社科学部等に送信させていただいております。

---

・研究内容についてのお問い合わせ先

慶應義塾大学 理工学部 応用化学科 准教授 蛭田 勇樹 (ひるた ゆうき)

TEL : 045-566-1566 FAX : 045-566-1568 E-mail : hiruta@aplc.keio.ac.jp

・本リリースの配信元

慶應義塾広報室 (望月)

TEL : 03-5427-1541 FAX : 03-5441-7640

E-mail : m-pr@adst.keio.ac.jp <https://www.keio.ac.jp/>