

抗体の非特異反応

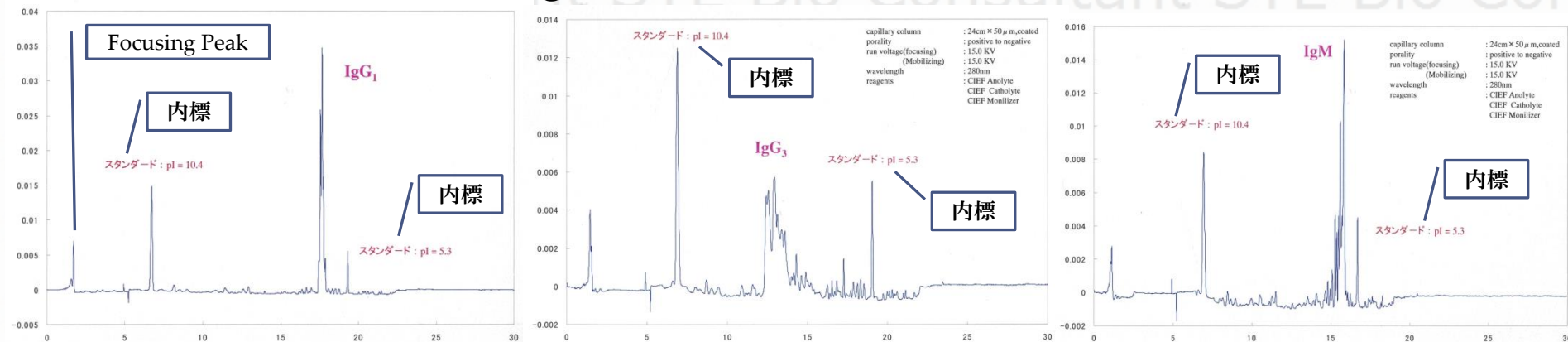
- ◆ 様々なメーカーがモノクローナル抗体を販売していますが、必ず非特異反応が存在します。
- ◆ 何故、非特異反応が発生するのか？ その原因は、明確には解明されていません。

【考えられる原因】

- ・ 抗体は、抗原タンパクの標的部位の3次元構造を認識するが、似た構造にも結合する
- ・ 抗体作成時に共存する微量タンパクに対する抗体性が保持される
- ・ 他のエピトープを認識する抗体が共存する など

- ◆ 下記に市販のモノクローナル抗体を、キャピラリー電気泳動を用いた等電点電気泳動法(CIEF)で分析した実例を示します。
CIEFは、ゲルを使用せず、溶液で行うため、分子量90万のIgMも容易に分析が行える利点があります。

Capillary Isoelectric Focusing法による市販抗体の分析例



- 1.分析機器：BioFocus 3000 Capillary Column：24cm×50μmID×375μmOD, AAEE-coated Wavelength：UV-Detect (280nm)
- 2.サンプル調整は、同機器 Application Manualより、Anolyte & Catholyte & Mobilizerは同機器標準試薬使用
- 3.内標として、Synthetic pI Marker(Bio-Rad,既販売中止)を使用（完全シングルピーク）
- 4.同機器の分解能：0.05～0.1 pI（Bio-Lyte使用時）、 ※IgMの分析は、同機器のマニュアルにもないテクニックが必要

抗体の非特異反応

【結果解説】

- 内部標準として加えたpIマーカーから、3種類の抗体とも、想定されたpI値を示している
 - この3種類の抗体製品は、SDS-PAGEにおいて、その変性作用により、長鎖と短鎖の2本のバンドが、同一位置に検出された
 - 下に示した拡大図で判るように、いずれの抗体もシングルピークではなく、多数のピークが検出されている
 - IgMは、他の抗体と比べ、条件により分解しやすく、その影響が出ているとも考えられるが、行ったSDS-PAGEでは、ややブロードではあるが、シングルピークとして検出されている
- ◆本分析により、3種類の抗体ともに、多数のピークが確認されており、単一のエピトープのみを特異的に認識するものではないことが考えられる
- ◆多数のピークの存在が意味する事項は、更なる研究が必要であり、現段階では非特異反応の存在の原因を特定することはできない
- ◆キャピラリー電気泳動を用いた等電点電気泳動法は、抗体を評価するには、極めて優れた方法であると考えられる
- ◆米国のNIHでも、抗体医薬の評価や品質管理に、このCIEF法を勧めている
- ◆特に、“Father of Capillary Electrophoresis”と呼ばれているウプサラ大のDr. Stellan Hjertenの指導のもと開発されたBioFocusは、最高の性能を持つキャピラリー電気泳動装置であると思われるが、既に販売中止となったことが惜しまれる

各抗体のピーク部分の拡大図（時間軸方向に拡大）

