

学位論文の審査要旨

学位論文申請者氏名：増田 由美子

論文題目：

フロースルーモードのイオン交換クロマトグラフィーによるモノクローナル抗体の精製法に関する研究：ウイルス除去性能評価及び非対称な電荷分布を持つ抗体への対応
(Study on purification method of monoclonal antibodies by ion-exchange chromatography in a flow-through mode: evaluation of virus removal performance and application to antibodies with asymmetric charge distribution)

論文の概要及び判定理由

モノクローナル抗体は、ガンや自己免疫疾患など様々な疾患の治療に使われており、新たな薬剤の開発が毎年増えている。その理由として、特異性が高いこと、安全性に関する問題が低分子化合物に較べて少ない事などが挙げられる。しかし、治療用の抗体は投与量が多いこと、生産コストの高い動物細胞に発現させることなどから薬価は高く、コスト削減が常に要求されている。生産コストのうち、抗体の精製に必要なクロマトグラフィー担体は大きな割合（10%以上）を占めることから、担体の利用効率を上げる方法の開発は重要である。

本論文ではクロマトグラフィー担体の効率的な利用を可能にすると期待されている「フロースルーモード」（及びそれに類似した「オーバーロードモード」）によるウイルスの除去について検討した。モノクローナル抗体の精製においては、凝集した抗体、宿主細胞に由来するタンパク質やウイルスなどを除去することが求められている。本論文は以下の2つの内容から構成される。

第一部：オーバーロードモードでの陽イオン交換クロマトグラフィーによるウイルスの除去

イオン交換クロマトグラフィーで最も一般的な「結合/溶出モード」に比べ、オーバーロードモードは必要な樹脂の体積を 1/10 に削減できることが、凝集した抗体および宿主細胞に由来するタンパク質について従来報告されていた。しかし、ウイルス除去に関する報告はなかった。学位申請者は以下を初めて示した：

- ・オーバーロードモードのウイルス除去能は、結合/溶出モードと同等であること...
- ・ウイルス除去能は、抗体種・樹脂種により有意な影響を受けないこと...
- ・オーバーロードモードにおけるウイルス除去能は、結合/溶出モードにおけるウイルス溶出プロファイルから予測でき、pH 及び緩衝液種に影響を受けず、堅牢であること...

第二部：フロースルーモードでの陰イオン交換クロマトグラフィーによる非対称な電荷分布を持つ抗体の精製

フロースルーモードでの陰イオン交換クロマトグラフィーもウイルスの除去に有用であることが知られており、その pH 条件は抗体の等電点 (pI) から計算できる。しかし、等電点から計算した pH ではフロースルーせず、樹脂に結合してしまう特異な抗体 mAb A に遭遇した。

学位申請者は以下の成果を上げた：

- ・この抗体の抗原結合ドメインの電荷分布を解析し、非対称な電荷分布を有していることを見出した。
- ・ネットワーク構造を有する膜吸着体は非対称な電荷分布の影響を受けにくいと予測した。
- ・この膜吸着体を使用したところ、mAb A はフロースルーするとともに、ウイルスも除去されることを見出した。

抗体のフロースルーモードでの精製に関する本研究は確実な抗体医薬品の供給を実現し、抗体医薬品開発の加速化に貢献できると考えられるので、博士(理工学)の学位に値するものと判定した。

審査年月日 令和 2年 2月 6日

審査委員

主査	群馬大学学術研究院	教授	園山 正史	印
副査	群馬大学学術研究院	教授	武田 茂樹	印
副査	群馬大学学術研究院	教授	土橋 敏明	印
副査	群馬大学学術研究院	准教授	武野 宏之	印
副査	群馬大学学術研究院	教授	若松 馨	印

関連論文

- 1 著者名 Masuda Y, Ogino Y, Yamaichi K, Takahashi Y, Nonaka K, Wakamatsu K
論文題目 The prevention of an anomalous chromatographic behavior and the resulting successful removal of viruses from monoclonal antibody with an asymmetric charge distribution by using a membrane adsorber in highly efficient, anion-exchange chromatography in flow-through mode
(非対称な電荷分布を有するモノクローナル抗体が高効率なフロースルーモード陰イオン交換クロマトグラフィーで示す異常な挙動の膜吸着体を用いることによる回避および効果的なウイルス除去)
雑誌名 *Biotechnology Progress* (DOI 10.1002/btpr.2955)
- 2 著者名 Masuda Y, Tsuda M, Hashikawa-Muto C, Takahashi Y, Nonaka K, Wakamatsu K
論文題目 Cation exchange chromatography performed in overloaded mode is effective in removing viruses during the manufacturing of monoclonal antibodies
(モノクローナル抗体の製造においてオーバーロードモードで実施される陽イオン交換クロマトグラフィーはウイルスの除去に有効である)
雑誌名 *Biotechnology Progress* 第35巻 第5号 e2858 2019年9月/10月

参考論文

1 著者名 Furukawa K, Okuno K, Onai S, Sugimura K, Yoko-o Y, Ishibashi-Masuda Y,
Oshima T, Tsuruoka N, Magota K, Tanaka S, Ohsuye K
論文題目 Production of an α -amidating enzyme (α -AE) in recombinant CHO cells
雑誌名 Animal Cell Technology: Basic & Applied Aspects 第5巻 493頁～499頁
1993年

※ 掲載決定のものも記載すること