

生物物理学的特性評価サービス

# 超遠心分析 AUC



超遠心分析では、溶液に大きな遠心力をかけて、タンパク質などの溶質が時間とともに沈降する様子をリアルタイムで観測します。その沈降挙動から、溶質の形状、分子量、分散・会合状態などの情報が得られます。

## 沈降速度法

- 沈降係数分布
- 分子量
- ストークス半径分布
- 流体力学的形状
- 複合体の化学量論 など

## 沈降平衡法

- 分子量
- 第二ビリアル係数
- 解離会合平衡定数 など

## 信頼性

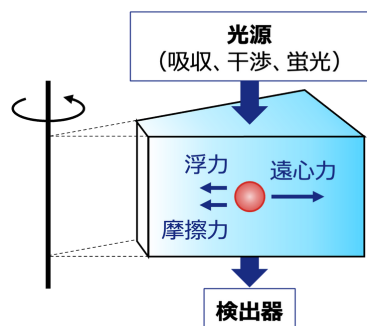
信頼性保証体制での分析に対応しており、これまでに複数の製薬企業様にご利用いただいております。

## 遺伝子組換え

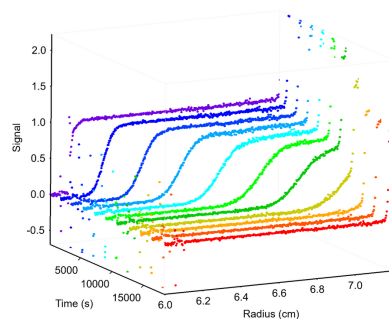
全試験P1レベルでの実施が可能です。測定法によってはP2レベルにも対応いたします。

## 蛍光

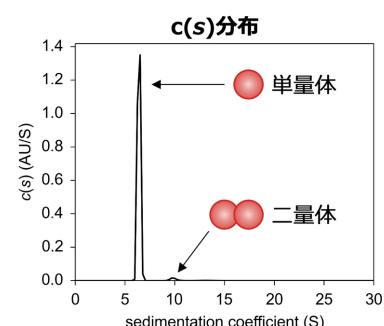
ユー・メディコは、蛍光超遠心分析の受託分析サービスを提供している国内唯一のプロバイダーです。



超遠心分析で検出する溶質の等速運動



半径方向に対する溶質濃度分布（沈降パターン）



数値解析による沈降係数c(s)分布の取得

バイオ医薬品の分析において、サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）では観測できないサイズの凝集体も、AUCでは観測可能であるケースが多く見られます。SECでは、凝集体がカラムから溶出しない、あるいは移動相による希釈に伴って会合状態が変化するなど、サンプル溶液中での状態を反映した結果が得られないことがあります。FDA（米国食品医薬品局）は、これらの弱点を補うため、超遠心分析沈降速度法（SV-AUC）など他の手法を用いてSECの結果を検証することを強く推奨しています（Guidance for Industry Immunogenicity Assessment for Therapeutic Protein Products, FDA Draft Guidance 2013 February）。このような点から、**AUCはバイオ医薬品の凝集体定量や品質管理に最も適した手法のひとつ**として、欧米では既に多くの製薬会社に導入されています。ただし、AUCの測定と解析には豊富な経験を要します。ユー・メディコでは、これまで蓄積したノウハウに基づいて、**サンプルごとに最適な分析条件で測定を行い、世界最高水準の分析結果**をご提供いたします。

近年は、遺伝子治療分野でのAUCの利用が必要となってきています。ユー・メディコでは、**アデノ随伴ウイルス（AAV）の完全粒子/空粒子比の定量**の実績もございます。是非ご相談ください。

裏面の分析例もご参照ください。▶

## CONTACT US :

06-6155-7835

info@u-medico.co.jp

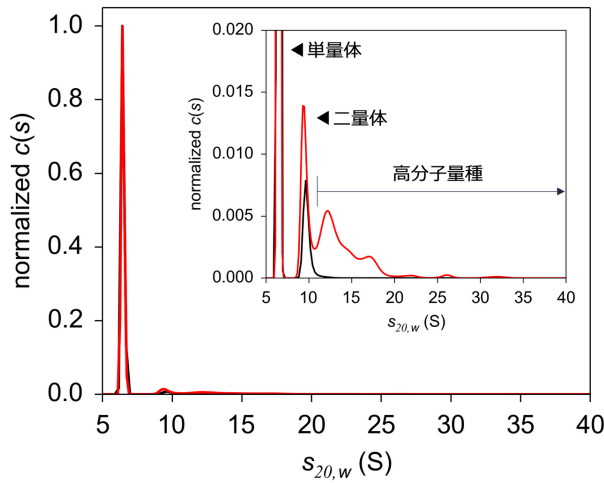
〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-1  
大阪大学フォトニクスセンター502



<https://u-medico.co.jp>

## モノクローナル抗体の会合体定量

モノクローナル抗体（NISTmAb標準試料）について、加熱（69°C、30分）が会合状態に与える影響を超速心分析沈降速度法（SV-AUC）により分析しました。非加熱サンプルでは単量体が97.7%を占めていますが、加熱により単量体含有率は88.6%にまで低下しました。それに伴って、二量体含有率では2%、高分子量種では7.1%、非加熱サンプルより高い値を示しました。高分子量種の中でも特に大きな会合体は、SECではカラム担体への吸着や目詰まりのために溶出されず、結果として検出されないことがありますが、SV-AUCでは見落としなく分析することができます。



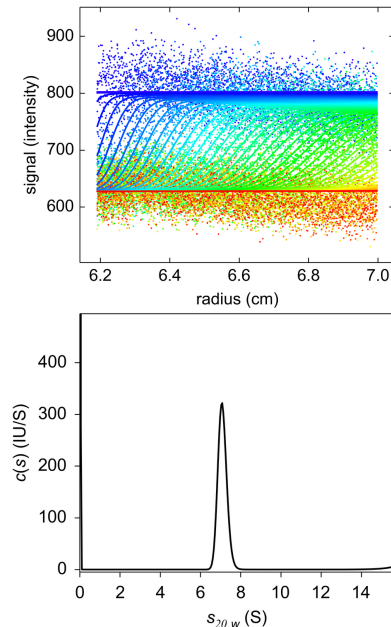
		非加熱	加熱
沈降係数	単量体	6.45 S	6.46 S
	二量体	9.55 S	9.70 S
含有率	単量体	97.7%	88.6%
	二量体	2.2%	4.2%
	高分子量種	0.1%	7.2%

## 蛍光超速心分析（FDS-AUC）の分析例

ユー・メディコは国内で唯一、FDS-AUCの受託分析サービスを提供しております（2022年6月現在）。多くの場合、測定試料を蛍光色素（Alexa Fluor 488やGFPなど）で標識する必要がありますが、弊社では蛍光標識も承っております。また、遺伝子組換え体（P1レベル）に対応しております。

### 低濃度試料の測定

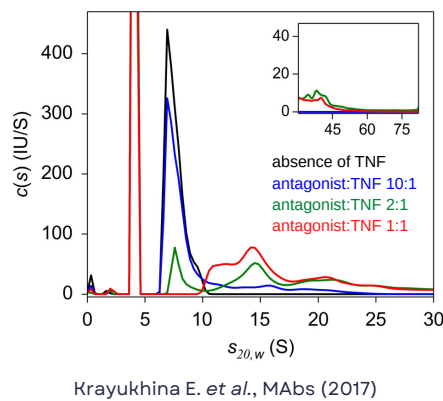
500 pMの抗体溶液の沈降パターン（上）と沈降係数 $c(s)$ 分布（下）です。蛍光検出を利用するため、通常の超速心分析で使用する吸収光学系（測定最小濃度：数百 nM）や干渉光学系（測定最小濃度：0.1 mg/mL）に比べて約1000–2000倍薄い濃度での測定が可能です。



Uchiyama S. et al., Biophys. Rev. (2018)

### 血清中の抗原-抗体反応評価

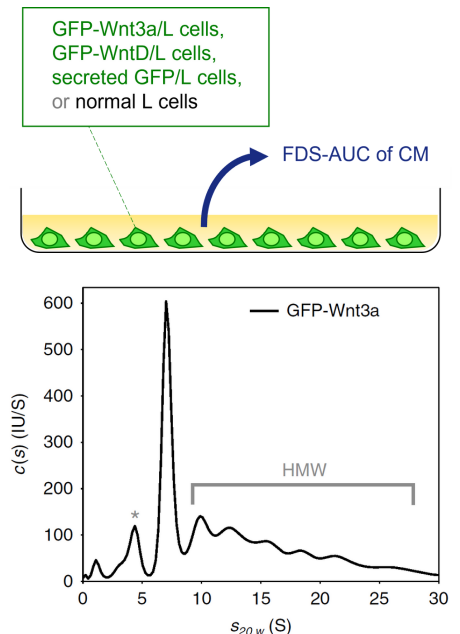
蛍光検出を用いることで、夾雑物における目的タンパク質の沈降挙動のみを高感度でモニタリングできます。そのため、これまで明らかにすることが難しかった血清中での免疫複合体の沈降係数の分布を取得することが可能になりました。図は、ヒト血清中で、フリーの抗原（TNF）の存在量を変えて、蛍光標識した抗体（adalimumab）を含む免疫複合体の沈降係数 $c(s)$ 分布を取得したものです。より生体内に近い状態で免疫複合体のサイズを明らかにすることは、抗体医薬の活性やクリアランスを考察する上で、有用な情報を与えます。



Krayukhina E. et al., MAbs (2017)

### 培地中のタンパク質会合評価

蛍光検出を用いることで、培養上清に分泌された組換えタンパク質の沈降係数 $c(s)$ 分布を取得することが可能になりました。本測定により、これまで不明だったWntタンパク質の血清含有培地中での会合状態を明らかにすることに成功しました。



Krayukhina E. et al., Commun. Biol. (2018)

ご希望に応じたテーラーメイドな分析をご提案いたします。  
お気軽にご相談ください。

☎ 06-6155-7835

✉ info@u-medico.co.jp

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-1  
大阪大学フォトリクスセンター502



🌐 <https://u-medico.co.jp>