

高速粘度計 Honeybunのご紹介

はじめに

粘度データを把握しておくことは、生物学的製剤の開発パイプラインのいたるところで極めて重要です。抗体スクリーニングや剤形スクリーニングのごく初期の段階では、高い粘度は厄介な自己相互作用が存在するという警告となります。開発の最終段階では、高い粘度はる過や最終の無菌充填工程に混乱をもたらしたり、薬剤の注射を妨げたりしてすべてを失敗に終わらせる可能性があります。

こうした有用な測定を行えるデータを得るには極めて多くのサンプルと時間を要するため、必要なだけの粘度データを得ることは不可能です。高容量の古典的な手法では、一度に1サンプルしか測定できない非常に低速の装置を用いた、何時間もの手作業の時間が必要です。わずか数マイクロリットルのサンプルで測定できる最近の技術であっても、高価なチップで測定される場合が多く、一つずつしか測定できないという難点があるほか、目詰まり、クリーニングおよびキャリブレーションにおいても多くの手作業が必要です。

Honeybun (図1A) は、少量のサンプルで、6分以内に最大10サンプルを測定できる、唯一の高速微量粘度計です。サンプルは専用のカートリッジ、Bun (バン) という消耗品 (図1B) にセットして測定します。サンプル35 μL をピペットでとってBunにセットし、Honeybunに挿入すれば、後は数回マウスをクリックするだけでデータを得ることができます (図2)。測定に複雑な消耗品は不要で、測定のために目詰まりしやすい高価なチップをクリーニングするという手間も必要ありません。

方法

ウシ血清アルブミン (BSA) (Sigma-Aldrich, 05470) およびウシ血液由来 γ -グロブリン (IgG) (Sigma-Aldrich, G5009) を1xリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) (Life technologies, 10010-015) で溶解し、8,500 rcfで30分間遠心分離しました。上清を回収し、原液を4°Cで保存しました。原液を1xPBSで希釈して測定用溶液を調製し、-20°Cで保存しました。StunnerのProtein (Turbidity) アプリケーションを用いて、UV/Vis測定で濃度を確認しました。医療用グレードの粘度標準液 (MGVS) 2 cP (Paragon Scientific, MGVS20-100) を4°Cで保存し、直接使用

A



B

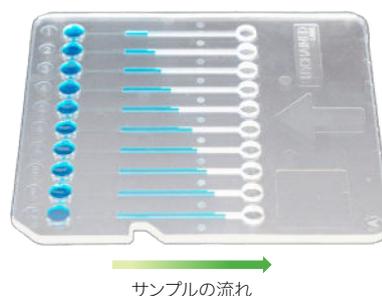


図1: Honeybun (A) は、タンパク質、ワクチン、ウイルスベクターおよび注射剤を測定できる唯一の高速微量粘度計です。Honeybunと専用消耗品 Bun (B) は、最大10サンプルを数分で読み取ることができ、測定に必要なサンプル量はわずか35 μL です。

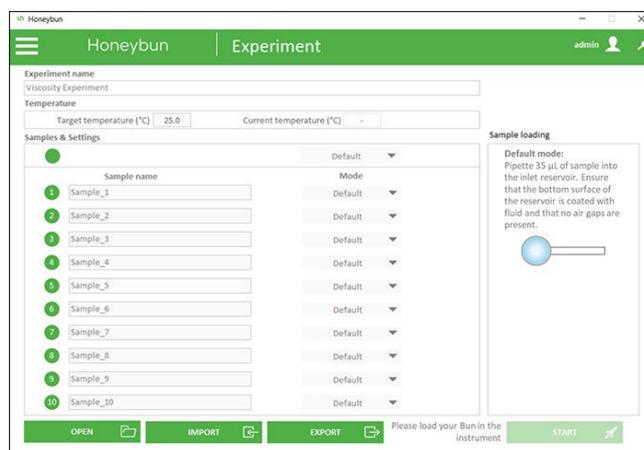


図2: Honeybunのソフトウェアは、優れた粘度データが素早く得られるように設計されています。サンプルの詳細を入力することも、簡易入力で Honeybunのソフトウェアに全情報を自動入力させて測定を開始することも可能です。たった数回のクリックで実験のセットアップが完了し、すぐにデータを収集できます。

しました。四分位範囲(1.5×IQR)法で外れ値を特定し、除外しました。

結果

必要なデータを取得

注射剤として設計されたモノクローナル抗体のような高濃度の生物学的製剤の場合は、粘度が良好な注射針通過性や注射性の鍵となります。こうした剤形の粘度を低く保つには、あらゆる処方開発において大量の粘度データを測定しなければなりません¹⁻³。

(図3)では、モデルタンパク質としてウシ血清アルブミン(BSA)とウシガンマグロブリン(IgG)を用い、それぞれ

300および75 mg/mLからリン酸緩衝生理食塩水(PBS)で希釈しました。対照としては純粋なPBSを用いました。粘度はHoneybunを用いて25°Cで測定しました。

Honeybunで幅広い濃度範囲の粘度データが得られました。粘度は、濃度の上昇に伴い、BSAでは約1.37 cPから17.3 cPまで、IgGでは0.91 cPから2.0 cPまで一様に上昇しました(図3A、図3C)。さらに、BSAとIgGはそれぞれ約2,000~35,000 s⁻¹ および2,000~37,000 s⁻¹の異なるせん断速度で試験しました(図3B、図3D)。分析したタンパク質の粘度はせん断速度に依存せず、濃度に関係なくニュートン挙動を示すことが確認されました。

Honeybunは、高濃度のものも含め、幅広い範囲の一般的な濃度のタンパク質の測定を容易に行うことができます。

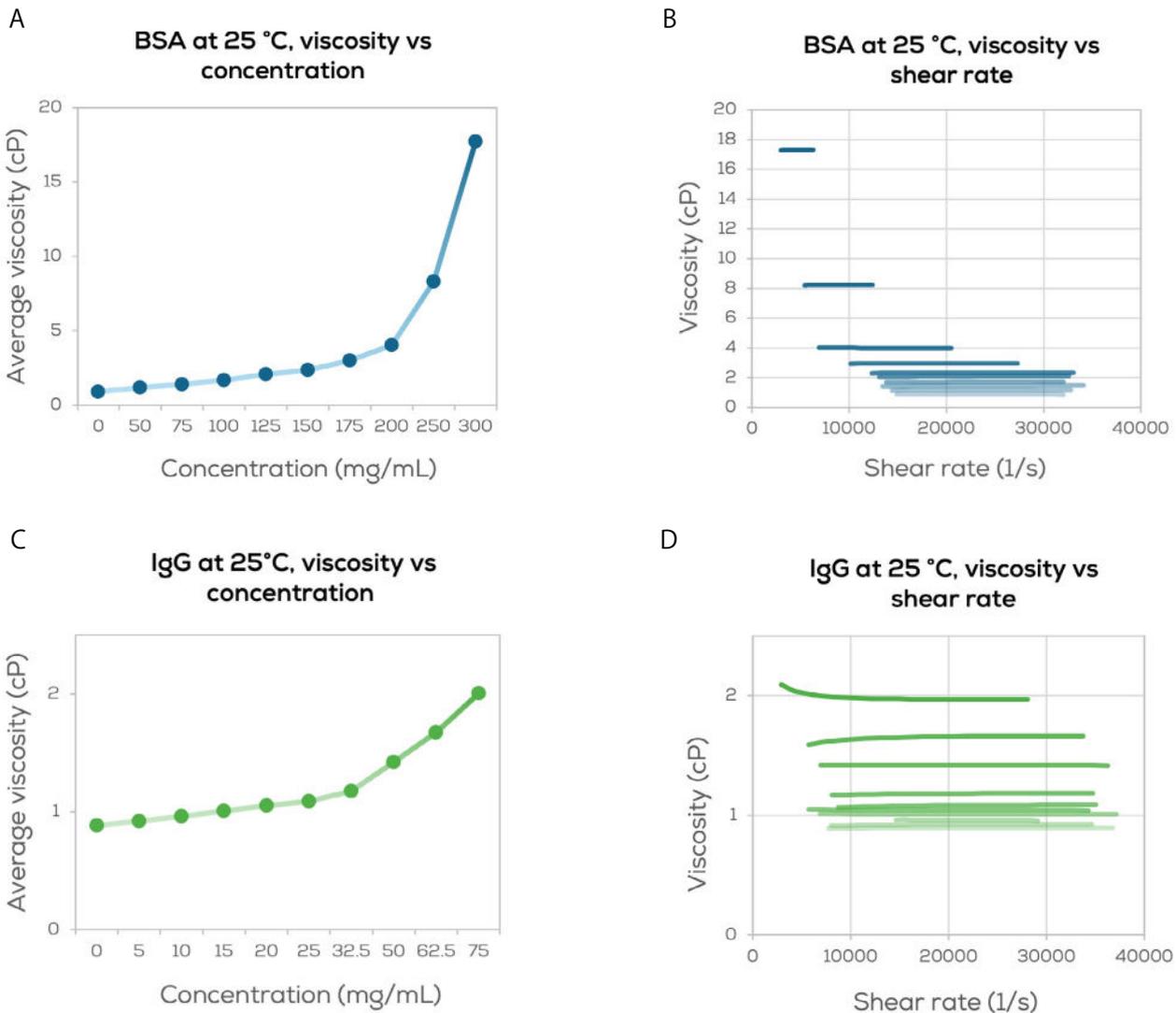


図3: さまざまな濃度のBSAとIgGを25°Cで3回測定しました。両タンパク質とも、粘度は濃度とともに上昇しました(A、C)。両タンパク質とも、試験したせん断速度の範囲での粘度は一定で、ニュートン挙動を示しました(B、D)。

複数の濃度の粘度データを収集することで、タンパク質剤形の挙動についてより詳細な知見が得られます。

どの温度でも測定可能

注射剤のサンプルは、室温と冷蔵庫から取り出した直後の温度で測定する必要があります。Honeybunは温度調節機能を搭載していますので、10°C まで粘度を測定することができます。

BSAとIgGの粘度を、それぞれ0(純粋なPBS)~300および75 mg/mLのさまざまな濃度で、10、15、20および25°Cで3回測定しました。Honeybunで測定したBSAの粘度は1.35~30.6 cP(図4A)、IgGの粘度は0.88~3.0 cP(図

4C)でした。両タンパク質とも、温度が上昇すると粘度は低下しています(図4Bおよび図4D)。

結論

Honeybunは、シンプル、高速に低容量の粘度測定を多数行える十分な機能を備えています。1サンプルあたりわずか35 μLを用いて、最大10サンプルを同時に処理できます。幅広い温度およびサンプル濃度での粘度データをわずか数分で取得することができます。Honeybunの粘度測定は、セットアップと測定が高速で、低容量、ハンズフリー、クリーニング不要の手間のかからない方法です。

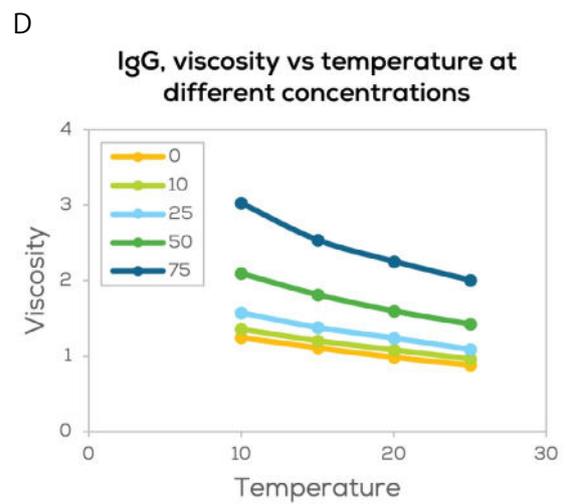
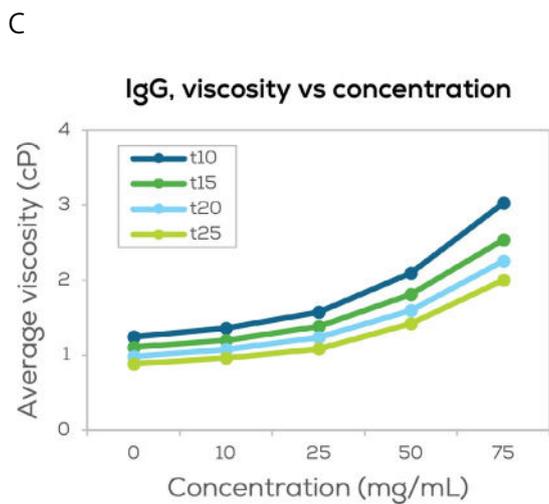
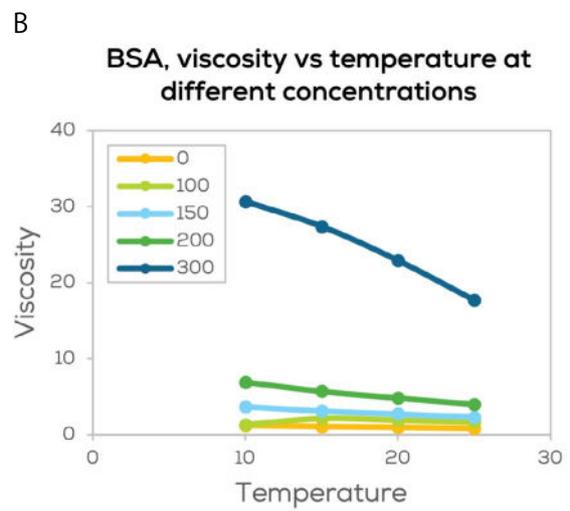
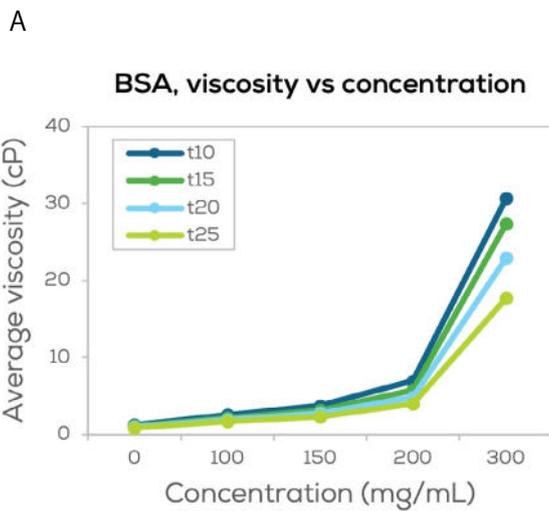


図4:さまざまな濃度のBSAとIgGを4段階の温度で3回測定しました。両タンパク質の粘度は温度が上昇すると低下しました(A、C)。両タンパク質とも、任意の温度でタンパク質濃度を上昇させると粘度も増加しました(B、D)。図に挿入されている凡例内の数値は温度 °C(A、C)またはタンパク質濃度 mg/mL(B、D)を表しています。濃度0 mg/mLは純粋なPBSです。

参考文献

- 1 Allmendinger, A. et al. High-throughput viscosity measurement using capillary electrophoresis instrumentation and its application to protein formulation. J. Pharm. Biomed. Anal. 99, 51–58 (2014).
- 2 Shire, S. J., Shahrokh, Z. & Liu, J. Challenges in the development of high protein concentration formulations. J. Pharm. Sci. 93, 1390–1402 (2004).
- 3 Tomar, D. S., Kumar, S., Singh, S. K., Goswami, S. & Li, L. Molecular basis of high viscosity in concentrated antibody solutions: Strategies for high concentration drug product development. mAbs 8, 216–228 (2016).



Unchained Labs

東京都千代田区神田須田町 2-9-2 PMO神田岩
本町 3F
Phone: 03-3526-2811
Email: unchained.labsjp@unchainedlabs.com

©2022 Unchained Labs. 禁無断複写・転載。HoneybunはUnchained Labsの商標であり、Unchained LabsはUnchained Labsの登録商標です。掲載されているその他すべてのブランドや製品名は、各社が所有する商標です。