

ECL 法を用いた薬物共存下における抗薬物抗体測定

TN376

Determination of Anti-drug Antibody by ECL Method for Drug Interference

[概要]

バイオ医薬品を投与しますと、生体内では薬物により抗薬物抗体(ADA)が産生される場合があります。この ADA は重篤な副作用を誘発する恐れがあるため抗体産生の有無を確認する必要があります。

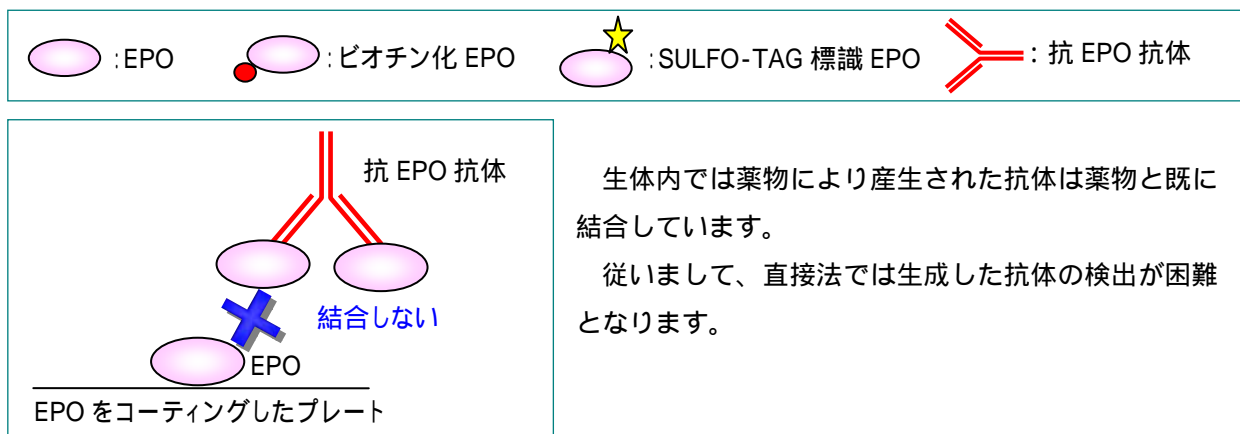
しかし ADA は検体中で共存薬物と結合しているため、従来の直接法では生成した ADA を検出することは困難です。

ブリッジングアッセイでは、2種類の標識抗原とプレインキュベーションすることにより ADA を認識することが可能となります。当社では、この ADA のブリッジングアッセイを電気化学発光(ECL)法を用いて実施しております。アッセイの条件検討及び設定、バリデーション、検体測定まで信頼性基準及び GLP に対応したサービスを承ります。

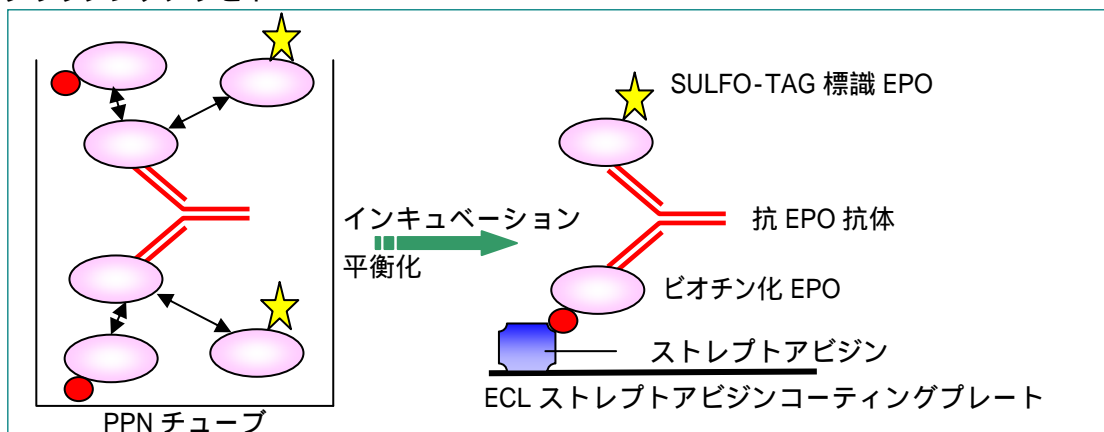
[測定方法]

抗ヒトエリスロポエチン (EPO) 抗体を分析対象としたモデルアッセイの例を示します。

(1) 直接法



(2) ブリッジングアッセイ



薬物と結合した抗体及び2種類の標識抗原(ビオチン化抗原及び SULFO-TAG 標識抗原)を一定時間インキュベートさせることにより、抗体に結合している薬物と標識抗原を置換させます。

一定時間経ちますと平衡状態に達し、図に示しますように2種類の標識抗原で抗体を認識することが可能になります。

[試験内容]

1. 試料：測定対象を含んだ100%ヒト血清
2. 方法

ブリッジングアッセイ

- (1) ビオチン化抗原、分析試料(EPO 抗体、EPO 添加無し又は EPO 添加(1 ug/mL^{*}))、SULFO-TAG 標識抗原を混合し一定時間インキュベート(*臨床における Cmax をカバーする濃度)
- (2) 上記の混合溶液の一部をストレプトアビジンプレートに添加
- (3) 一定時間インキュベート後、ECL 測定機器にて測定

[測定例]

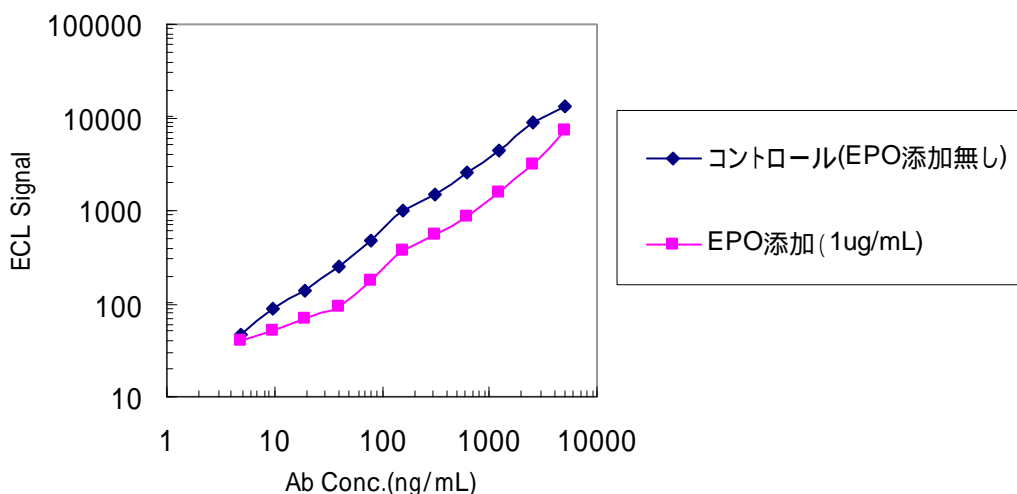


図1 EPO 共存下におけるブリッジングアッセイの検量線

コントロールにおいて、4.88~5000 ng/mL の範囲で検量線が作製出来ました。

EPO の臨床 Cmax をカバーする濃度添加においても FDA の draft guidance¹⁾で求められる 250~500 ng/mL の濃度を確保出来ました。本法では、薬物共存下においても広い濃度範囲で測定が可能であることが示唆されました。

[参考文献]

- 1) Guidance for Industry, Assay Development for Immunogenicity Testing of Therapeutic Proteins
Draft Guidance, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug administration, December 2009.

[関連技術リンク]

ECL イムノアッセイ法を用いたタンパク医薬品の生体試料中濃度測定
<http://www.scas.co.jp/analysis/pdf/tn359.pdf>

ECL 法を用いたバイオ医薬品の免疫原性アッセイ
<http://www.scas.co.jp/analysis/pdf/tn371.pdf>

作成: バイオ (TK1009) 3-M0-(16)