

双抗 (Cibisatamab) 的SEC分析

陆璐

应用及技术服务部

天津博纳艾杰尔科技有限公司, 天津开发区西区南大街179号, 300462

概述

Cibisatamab (CEA-TCB) 是一种由罗氏 (Roche) 开发的T细胞双特异性抗体 (TCB), 采用独特的2:1分子设计 (2个CEA结合域+1个CD3结合域), 靶向肿瘤细胞表面的癌胚抗原 (CEA) 和T细胞上的CD3ε, 通过激活T细胞杀伤CEA阳性肿瘤细胞。

本应用使用Biozen 的200Å孔径的dSEC-2 色谱柱对 Cibisatamab 进行聚集体分析。

关键词

双抗; 聚集体; SEC; Cibisatamab; Biozen dSEC-2; BioTi

实验部分

3.1仪器、试剂与材料

3.1.1主要仪器设备

Thermo U3000高效液相色谱仪

3.1.2试剂材料

磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、氯化钾为分析纯, 屈臣氏蒸馏水

3.1.3样品

Cibisatamab购自百英生物, 用纯水稀释为浓度为1.0 mg/mL;

蛋白标准品: Phenomenex Aqueous SEC check standard (Part# AL0-3042)

3.2色谱条件

色谱柱: Biozen dSEC-2 (3μm, 200Å 300*7.8mm); P/N: 00H-4788-K0;

流动相: 200mM磷酸钾缓冲液+250mM氯化钾 pH 6.2;

流速: 0.6 mL/min;

柱温: 30 °C;

波长: 280nm;

进样量: 10 μL;

3.3结果与讨论

3.3.1 Cibisatamab的分子结构

Cibisatamab 为不对称结构的双抗, 参见图1, 其分子量约为171 kDa。通过和蛋白marker混标的洗脱时间对照, Cibisatamab主峰洗脱时间略早于分子量为150kDa的IgG, 参见图2。

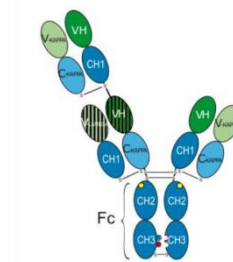


图1. Cibisatamab PD-1 × CTLA-4 双抗结构示意图

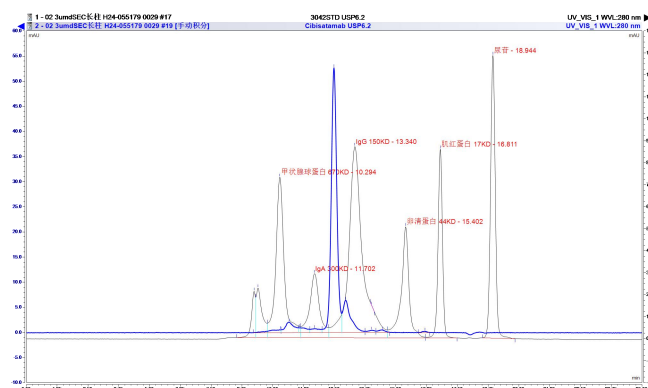


图2 Cibisatamab和Aqueous SEC check standards的叠图

上图Cibisatamab的HMWS部分可以看到包含多种不同分子量分布的异质体。推测可能包含Homodimer错配; 目标双抗二聚体、错配的二聚物以及高聚物。同时也可以看到比较多的LMWS碎片的

信息，可能包含错配，3/4抗体，单抗，或者降解的片段。Cibisatamab的积分结果参见图3和表1。

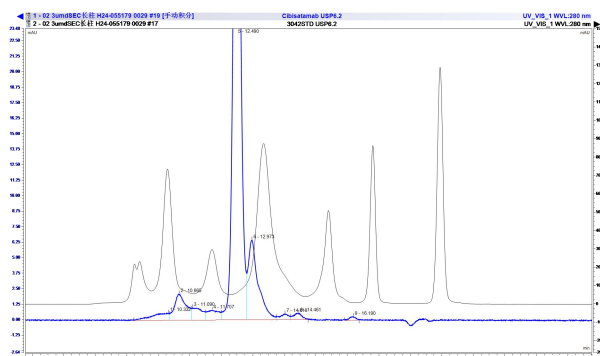


图3 Cibisatamab的积分结果

表1. 图3的积分结果

保留时间/min	峰面积%	USP分离度	塔板数
10.322	1.96	--	--
10.665	4.91	--	3186
11.090	2.07	--	--
11.707	1.86	--	--
12.490	74.50	0.97	15249
12.973	12.70	1.82	--
14.019	0.75	0.85	10668
14.461	0.87	--	15508
16.190	0.38	--	30813

结论

在本应用使用了Biozen dSEC-2 200Å 的SEC色谱柱，对于双抗药物Cibisatamab的聚集体和碎片进行分析。通过和蛋白标准品的比对，可以初步判断该样品中可能存在错配和不完整抗体的情况。分析结果可以给纯化工艺开发和优化以一定的借鉴作用。Biozen dSEC-2的高亲水性改性的硅胶修饰技术和BioTi的生物惰性柱硬件使得和生物大分子的次级作用得到改善，避免使用有机改性剂即可获得尖锐对称的峰形。另外，dSEC-2特有的孔控制技术也使得这款色谱柱具有柱床稳定、耐压、批次重现性好的特点。



Xccelerator 加速服务

探索分离，使命加速

Mission to Accelerate Separation

在新药、仿制药研发和科学研究过程中，抢占先机越来越多被大家提及，同时在食品、环境、临床等行业的客户也都面临着项目周期压缩的压力。基于此，我们成立了上海和天津两个方法开发服务中心，为客户加快项目进度提供支持。

Xccelerator 以客户为中心，以色谱技术为中心，为药物研发和科学研究提供全方位加速服务。

三大研发中心

中国天津

地址：天津市开发区西区南大街179号

电话：400-606-8099

邮箱：cninfo@phenomenex.com

中国上海

地址：上海市长宁区福泉北路518号1号楼1层

电话：400-606-8099

邮箱：cninfo@phenomenex.com

美国总部

地址：411 Madrid Avenue Torrance, CA 90501-1430, USA

Tel: +1 (310) 212-0555

Fax: +1 (310) 328-7768

Email: cninfo@phenomenex.com

仅用于研究目的，不可用于临床诊断程序。

© 2022 天津博纳艾杰尔科技有限公司保留所有权利。



如果您对于本方法的执行有任何问题，或想要了解更多信息，请拨打400-606-8099联系我们的技术专家，我们很乐意为您提供帮助！

Confidential - Company Proprietary

