

## SEC-MALSによる多価肺炎球菌多糖ワクチンの特性解析

J. MacNair, T. Desai, J. Teyral, C. Abeygunawardana, and J. Hennessey, Jr., Merck Research Laboratories  
日本語訳：昭光サイエンス株式会社

### 序論

多糖の分子量は、多糖由来のワクチンの有効性と安定性をモニターする重要なパラメーターです。実際、多糖調製物の分子量を閾値以下に減少させると免疫能が低下する可能性があります。したがって、これらの製品において分子量は製品管理(QC)で測定すべき重要な品質特性です。

高速サイズ排除クロマトグラフィーと連結した多角度光散乱(SEC-MALS)はホモポリマー溶液の分子量をモニターするための理想的な方法で、各一価免疫原性の多糖の開発に利用されています。しかし、多糖ワクチンは普通類似の大きさを持つ異なる成分の混合物を含んでおり、そのまま光散乱で解析することはできません。これらの材料のQCのためには異なる技術を使用する必要があり、SEC-MALSのように高い信頼性を持つ分析法を第二の技術として用いる必要があります。

### 材料及び方法

以下のアプローチは、Merck社の多価肺炎球菌多糖ワクチン(PNEUMOVAX®23)の分子量の販売時と有効期限時における品質管理方法の仕様を合わせるために開発されました。ワクチンの23種の多糖成分のそれぞれを別々に超音波処理することで、より低い重量平均分子量( $M_w$ )の一連の調製物を得ました。

大きさを減らした多糖につき、一価の多糖溶液としてSEC-MALSによって絶対分子量を測定しました<sup>1</sup>。測定はminiDAWN® および Optilab®を用いて行い、データはASTRA®ソフトウェアによって収集及び解析を行いました。

これらの試料はまた多価製剤として、速度比濁分析(RN)検出と高速サイズ排除クロマトグラフィー(HP-SEC)によるクロマトグラフィーの溶出容積に基づいても相対分子サイズ(r-MS)を測定しました<sup>2</sup>。2つの異なる分子サイズ解析によって得られたデータはワクチンの各多糖成分の $M_w$ とr-MSの相関を確立するために使用しました。求められた相関関係を用いて、対応する一価多糖の $M_w$ と比較することで、最終的な製剤の各多糖の有効期限のr-MSの決定が可能となりました。

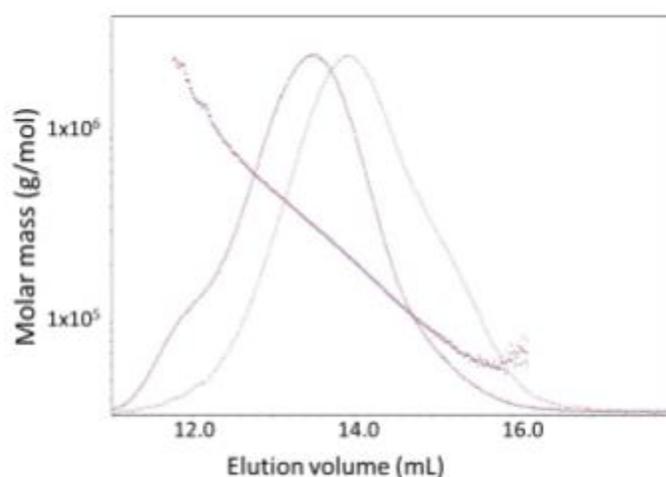


図1: 超音波によるサイズ減少前の血清型19A多糖のSEC-MALS解析。  $M_w = 270$  kDa。

### 結果と考察

ここですべての結果を記載するには多すぎますが、一つの血清型19Aの場合の結果を示します。図1は血清型19Aの超音波処理前のSEC-MALS解析です。分子量は約 50 kDa から 約2 MDaまでの分布を持ち、重

量平均分子量は270kDaです。360分の超音波処理後は、図2に示すように低分子の下限はあまり変化しませんが、高分子側は減少して約600 kDaとなりました。重量平均分子量は110 kDaでした。

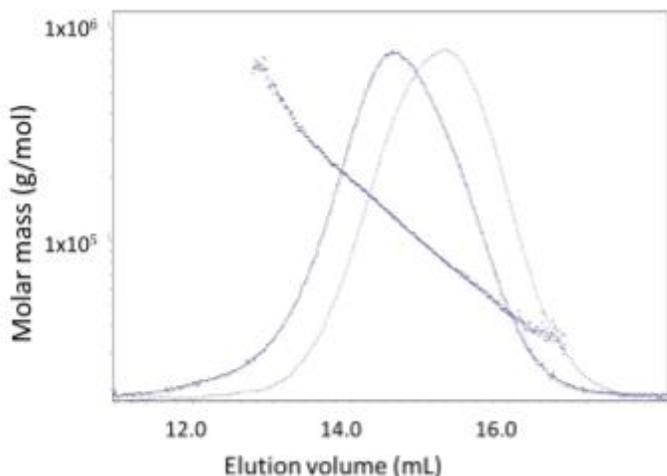


図2: 360分超音波処理を行った後の血清型19A多糖のSEC-MALS解析。M<sub>w</sub> = 110 kDa。

これらの生成物と追加の超音波処理した生成物について、r-MS信号とSEC-MALSで決定したM<sub>w</sub>の相関を調べるためにr-MS分析を行い、これらの過程を23の血清型のそれぞれについて繰り返しました。このようにしてr-MSによって信頼できるQCのための追跡可能な検定曲線を作成しました。

## 結論

SEC-MALSはこの多価多糖ワクチンの最終製品のQCには使用していませんが、QCに適した較正をする第二の技術として使用できます。仕様の整列は、最終ワクチン製品の品質管理が最初の多糖物質のそれと一致するという高いレベルの信頼性を提供します。この研究はBiologicalsで出版されました<sup>3</sup>。

## 参考文献

1. Bednar, B., Hennessey, J. P., Jr. (1993) "Molecular Size Analysis of Capsular Polysaccharide Preparations from *Streptococcus pneumoniae*" Carbohydr Res. 243, 115-130.
2. Sweeney, J. A., Sumner, J. S. and Hennessey, J. P., Jr. (2000) "Simultaneous Evaluation of Molecular Size and Antigenic Stability of PNEUMOVAX®23, a Multivalent Pneumococcal Polysaccharide Vaccine" in: Brown, Corbel, Griffiths, editors. Physico-Chemical Procedures for the Characterization of Vaccines: Dev. Biol. 103, 11-26.
3. MacNair, J., Desai, T., Teyral, J., Abeygunawardana, C., and Hennessey, J. P., Jr. (2005) "Alignment of Absolute and Relative Molecular Size Specifications for a Polyvalent Pneumococcal Polysaccharide Vaccine (PNEUMOVAX®23)" Biologicals, 33, 4958.