



迅速なat-line AAVウイルス力価アッセイ

迅速かつ正確なアデノ随伴ウイルス (AAV) の定量測定は、遺伝子治療におけるバイオプロセッシングを進めるための満たされていないニーズです。ウイルスのキャプシド力価は一般的にELISAで測定され、空のキャプシド力価と完全なキャプシド力価の区別があり、その比率は超遠心分析 (AUC) で取得されます。また、ウイルスのゲノム力価はddPCR (Ref.1) で測定されます。これらの手法は一般に時間がかかり、多くの人手を要します。このためバイオプロセッシングや製造中における、ウイルス力価の迅速なat-line測定には実用的ではありません。

ForteBioは、迅速、ハイスループットで、かつ堅牢なAAV2キャプシド定量法を開発しました。この手法では精製プロセスに沿ってサンプル中のウイルス力価を決定可能です。複数の96ウェルまたは384ウェルプレートのアッセイを1時間未満で測定し、アッセイを加速させることができます。作業に5時間を要するようなELISAや、8時間を要するようなddPCRアッセイと比較して、貴重な時間と労力を削減できます。

Octet®システムはバイオレイヤー干渉法 (BLI) と、96または384ウェルのサンプルプレート、および既製のバイオセンサーと組み合わせることで、迅速で正確な生体分子相互作用のリアルタイム分析を提供します。Octetシステムは、組み換えタンパク質からモノクローナル抗体に至る、様々な分子の力価と速度論的特性の決定に使用されています。ウイルスワクチンの研究では、HIV、インフルエンザ、エボラウイルスを含む様々なウイルスとウイルス様微粒子の研究に展開されています (Ref.2)。

OctetのAAV2力価アッセイは、ELISAとddPCRに比べてマトリクス効果を最小限に抑え、優れた精度と信頼性を示しました。この方法は、バイオプロセス環境での任意のAAV血清型のアッセイとして展開できます。そのアッセイ開発は、既成のバイオセンサーに適切なAAV特異的な捕捉リガンドをコーティングすることによって実現できます。私たちは、Octetシステムがバイオプロセスに関してほぼリアルタイムのフィードバックを提供し、時間とリソースを大幅に節約することで、ウイルス製造の効率と生産性を向上させることができると考えています。Octet AAV2定量アッセイの主要なハイライトのいくつかを表1に示します。

	BLI (Octet RED96e System) + AAV biosensor*	BLI (Octet RED384 System) + AAV biosensor*	BLI (Octet HTX System) + AAV biosensor*	ELISA
結果がわかるまでの時間	96ウェルプレート, 1時間未満	96ウェルプレート, 30分未満	96ウェルプレート, 5分未満	96ウェルプレート, 4-6時間
操作時間	約10分	約10分 ロボット接続も可能	約10分 ロボット接続も可能	2-3時間
精度 (%CV)	<10%	<10%	<10%	15-20%
定量レンジ	10 ⁸ -10 ¹⁰ gc/mL	10 ⁸ -10 ¹⁰ gc/mL	10 ⁸ -10 ¹⁰ gc/mL	5x10 ⁷ -1x10 ⁹ vp/mL 段階的な希釈が必要
サンプルタイプ	粗細胞培養上清 (遠心分離やろ過の必要なし)	粗細胞培養上清 (遠心分離やろ過の必要なし)	粗細胞培養上清 (遠心分離やろ過の必要なし)	粗細胞培養上清
サンプル準備	必要なし	必要なし	必要なし	サンプル希釈1:5,000-50,000

表1: AAV2アッセイにおける各手法の比較-OctetシステムとELISA

単位の gc/mL は、mLあたりのゲノムコピーを表します。Octetアッセイの結果はddPCRで同じサンプルに対して行われた比較研究に基づいて、gc/mL単位に変換されています。

References

- 1 Dobnik D, Kogovšek P, Jakomin T, Košir N, Tušek Žnidaric M, Leskovec M, Kaminsky SM, Mostrom J, Lee H and Ravnikar M, Accurate Quantification and Characterization of Adeno-Associated Viral Vectors, *Front. Microbiol.*, 2019, 10:1570. doi: 10.3389/fmicb.2019.01570.
- 2 Rejane Petersen, Strategies Using Bio-Layer Interferometry Biosensor Technology for Vaccine Research and Development, *Biosensors (Basel)*, 2017 Oct 31, 7(4), pii: E49, doi: 10.3390/bios7040049.