

# Q、DEAE、CM Ceramic HyperD<sup>®</sup> F

## イオン交換樹脂

### お客様のメリット

- 高流速での高い動的結合容量
- 真に硬質の非圧縮性樹脂
- 耐塩性のCM Ceramic HyperD<sup>®</sup> F樹脂が、限外ろ過 (UF) および透析ろ過 (DF) の必要度を低減

### 製品情報

Q、DEAE、およびCM Ceramic HyperD<sup>®</sup> Fイオン交換体は、生体分子の効率的で拡張可能な精製向けに設計された大容量樹脂です。従来の樹脂では大幅な容量制限や生産性の制約があった条件下で、高い動的結合容量を維持しています。

Ceramic HyperD<sup>®</sup> F樹脂は、ISO 9001:2008およびISO 14001:2004準拠の製造設備で製造されています。



## 説明

Ceramic HyperD® F樹脂は、500リットルを超えるカラムで、治療用タンパク質向けの多数の承認済み生産プロセスおよび多数の臨床／前臨床試験で使用されています。規制対応ファイル（RSF: Regulatory Support Files）とカラム・パッキング・サポートが利用可能です。

樹脂は、生産準備から本格的な量産まで、50 μmグレードで使用でき、20%エタノールや1.2 mM EDTAを含む1 M NaClのさまざまなパッケージングで供給されます。

## 動作メカニズムの原理

### 「Gel-In-A-Shell」樹脂設計

従来のマクロ多孔性イオン交換体は、典型的な孔拡散に基づいて動作し、流速が増すと結合容量が急速に減少する特徴があります。対照的に、Ceramic HyperD® F樹脂の独自の構造は、増速拡散として知られる、より迅速な物質移動メカニズムをサポートしています。

Ceramic HyperD® Fイオン交換体は、硬質セラミック・ビーズの大きな孔内に重合された大容量ハイドロゲルを使用します。この設計（図1）では、軟質の大容量ハイドロゲルと、硬質セラミック・ビーズの絶対的な機械的安定性を組み合わせています。

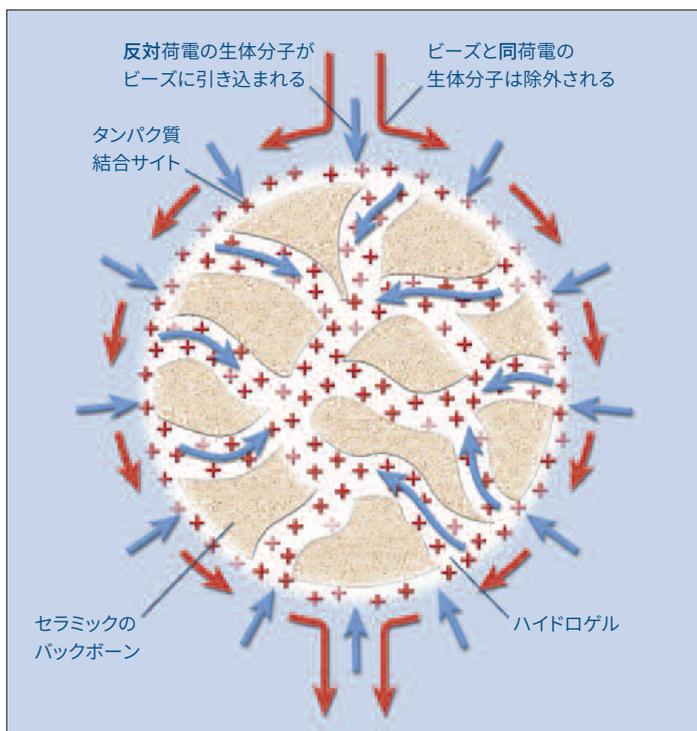


図1: 「Gel-in-a-Shell」設計

Ceramic HyperD® F樹脂は、高い動的容量と絶対的な機械的安定性を提供します。これが、製造スケールでの生産性とプロセスに経済的なメリットをもたらします。

Ceramic HyperD® F樹脂は、pHや伝導度の変化で縮小したり膨張したりすることはありません。20 cmを超えるベッド高のカラムを使用することで生産性を高め、プラントのスペースと設備投資を節減できます。プロダクトは、孔内面だけでなく、ゲルが充填された孔全体を通じて結合するため、総結合容量が増加します。

図2の電子顕微鏡写真は、ハイドロゲル内のタンパク質の結合を示しています。ハイドロゲル内に多くのイオン交換サイトがあるため、タンパク質にとって非常にアクセスしやすい状態になっています。生体分子がハイドロゲル内で迅速に拡散し、プロダクトの迅速な取り込みを容易にしています。増速拡散として知られる、この物質移動のメカニズムによって、従来のイオン交換樹脂で通常課せられていた動作上の制約なく、樹脂は自由に動作できます。

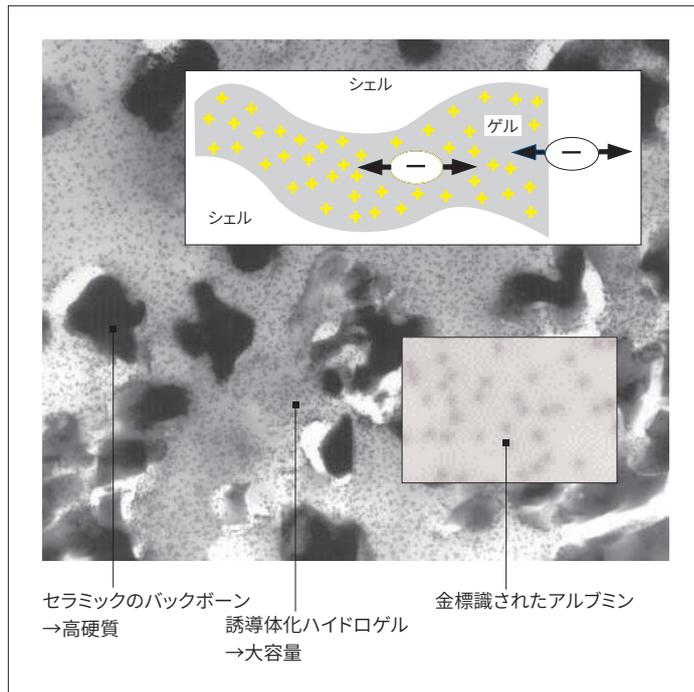


図2: Ceramic HyperD® Fイオン交換樹脂の構造

金で標識されたアルブミンの結合を示すビーズ内の断面。セラミック・シェルの孔内にハイドロゲルが完全に充填され、金標識されたアルブミン（濃黒点として見える）がハイドロゲル全体に均一に分布しています。

## 高速な選択性スクリーニング

Ceramic HyperD<sup>®</sup> F樹脂は、他の新世代イオン交換体とは異なる選択力を備えています。簡便なスクリーニングを可能にするために、Ceramic HyperD<sup>®</sup>樹脂は使いやすいプレパック・カラム（充填済みカラム）で供給されます。

スクリーニングおよびプロセス開発向けのプレパックPRCカラム：QおよびCM Ceramic HyperD<sup>®</sup> F樹脂は、信頼できる再現可能な条件下での迅速な選択性スクリーニングに対応した1 mL (5 mm ID x 50 mm) プレパックPRCカラムで入手可能です。PRCカラムは標準のクロマトグラフィー・システムに簡単に接続でき、通常の背圧は0.1 M NaClバッファー、600 cm/hrで2.0 barg未満です。

## 技術データ

表1：Ceramic HyperD<sup>®</sup> Fイオン交換体の主な特性

	Ceramic HyperD <sup>®</sup> F樹脂のタイプ		
	Q	DEAE	CM
平均粒径 (μm)	50	50	50
動的結合容量 (mg/mL) 200 cm/hrでの10%ブレイクスルー	BSA* ≥ 85 <sup>1</sup>	BSA* ≥ 85 <sup>1</sup>	IgG ≥ 60 <sup>2</sup>
イオン交換基の量 (μeq/mL)	≥ 250	≥ 200	250-400
耐圧性	70 barg (1,000 psi)		
稼働pH	2-12		
洗浄	pH 1~14		
pHおよびイオン強度に起因する 体積変化	非圧縮性		

1. サンプル：50 mM Tris-HClバッファー (pH 8.6) 中BSA 5 mg/mL

2. サンプル：50 mM 酢酸ナトリウムおよび100 mM NaCl (pH 4.7) 中hu IgG 5 mg/mL

\*BSA = Bovine Serum Albumin (ウシ血清アルブミン)

## 動作流速

Ceramic HyperD<sup>®</sup> F樹脂の硬質なセラミック骨格により、圧縮や縮小なく、低または中程度の背圧（通常3 barg未満）と高い直線流体速度（通常300 cm/hr超）で動作します。標準の低圧クロマトグラフィー・ポンプとカラムを使用できます。図3は、Q Ceramic HyperD<sup>®</sup> F樹脂の圧力対流速の曲線を示しています。カラムの充填はCeramic HyperD<sup>®</sup> Fビーズの高密度の性質により、素早く容易に行えます。

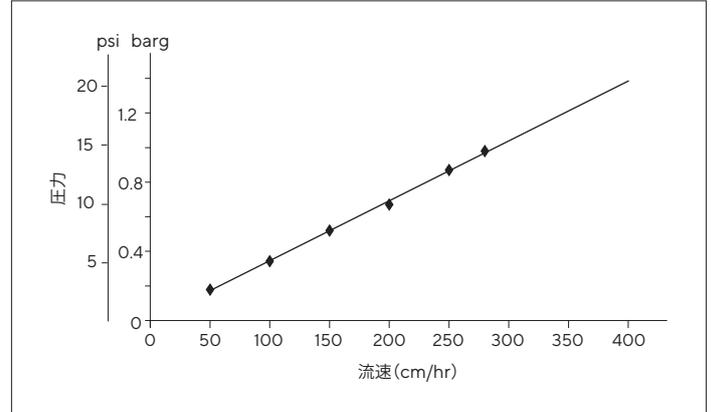


図3：Q Ceramic HyperD<sup>®</sup> F樹脂の圧力対流速の曲線

カラム：9 cm ID x 16 cm、バッファー：50 mM Tris-HClおよび0.5 M NaCl (pH 8.6)

## 動的結合容量 (DBC) と滞留時間 (RT)

Ceramic HyperD<sup>®</sup> Fイオン交換体は、高い直線流体速度または短いRTで動作できます。直線流体速度が50 cm/hrから650 cm/hr超に上昇すると、ウシ血清アルブミン (BSA) の場合のみDBCで穏やかな減少が見られます（図4参照）。わずか0.4分のRTで、BSAのDBCは、Q Ceramic HyperD<sup>®</sup> F樹脂の10%ブレイクスルーで、85 mg/mLを超えます。図5に示すとおり、RTが3分から0.4分に減少すると、DBCの穏やかな減少が見られます。DBC値は85 ~ 120 mg BSA/mLの範囲で得られました。Ceramic HyperD<sup>®</sup> F樹脂の高いDBCによって、適度な体積のカラムを使用して動作させ、バッファー体積の必要度を低減できるため、プロセスの生産性が向上します。

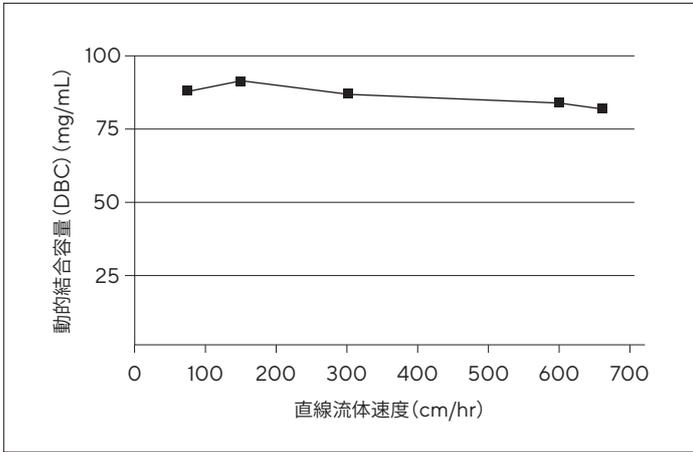


図4: Q Ceramic HyperD<sup>®</sup> F樹脂のDBC対流速

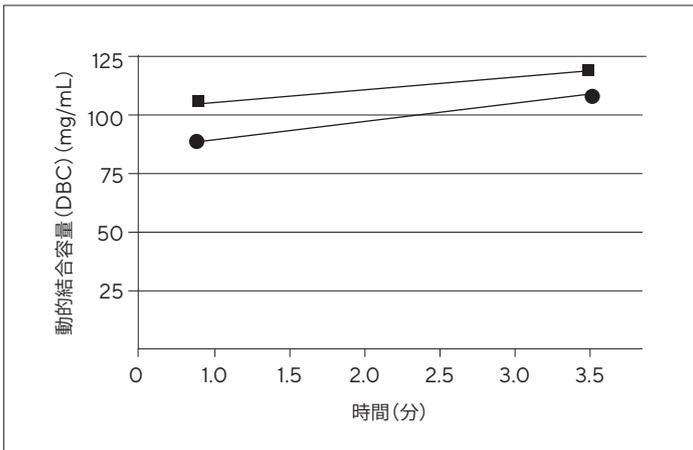


図5: Q Ceramic HyperD<sup>®</sup> F樹脂のDBC対RT

50 mM Tris-HCl (pH 8.6) を用いた場合、BSA (0.5 mg/mL) の10% (●) および50% (■) プレイクスルーにおけるDBC

#### 動的結合容量 (DBC) とサンプル濃度

Ceramic HyperD<sup>®</sup> F樹脂は、希釈原料を用いてより高いDBCを提供します。この挙動は原料中のタンパク質濃度とは無関係です。10 mg hu IgG/mL含有の原料より、0.5 mg hu IgG/mL含有の原料の方が、広範な直線流体速度値にわたり、より高いDBC値が観察されます。捕捉ステップでCeramic HyperD<sup>®</sup> F樹脂を使用すると、原料の予備濃縮の必要性が減るか、なくなります。

#### 化学的安定性と定置洗浄 (CIP)

Ceramic HyperD<sup>®</sup> Fイオン交換体は、NaOHを使用して衛生処理できます (カラム体積の5倍量の0.5 M NaOHを室温において1時間接触で)。規制対応ファイル (RSF) のデータは、長期間の耐性 (200サイクル超)、および樹脂性能の大幅な変化はないことを示しています。20%エタノール/1 M酢酸混合液などの他の化学薬品も使用することもできます。

Q Ceramic HyperD<sup>®</sup> F樹脂のウイルス除去性能が、0.5 M NaOHを用いた200サイクル以上のCIPの後にも影響されなかったことを、ウイルス除去データは示しています。

## アプリケーションの例

### 例1. CM Ceramic HyperD® F樹脂での希釈された細胞培養上清 (CCS) からIgG1の直接ワンステップ捕捉

CM Ceramic HyperD® F樹脂は、CCSからモノクローナル抗体を直接ワンステップで捕捉するために適用できます。装填前に、CCSのpHは伝導度19 mS/cm (約180 mM NaClに等しい) で、pH 4.7に調整されました。原料中のIgGの濃度は低く、150 µg/mLでした。IgGは、1分のRT (260 cm/hr) だけで精製 (90%超) されました。

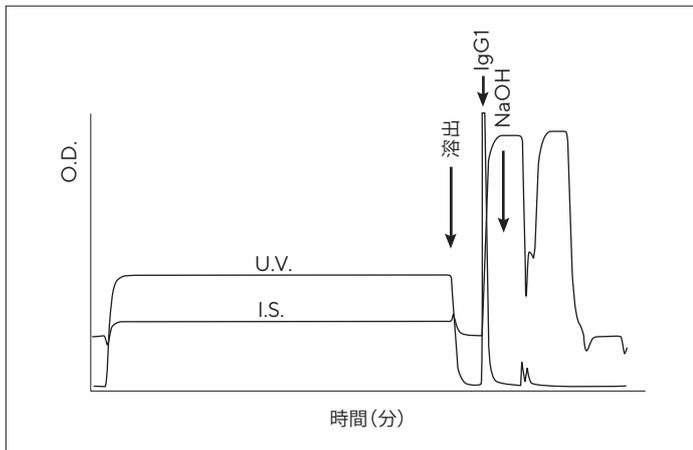


図6：CM Ceramic HyperD® F樹脂でのCCSからのマウスIgG1のワンステップ捕捉

IgG1純度：90%、カラム：9 cm ID x 5.2 cm (330 mL)、装填：pH 4.7に調整された31 L CCS 100-150 µg/mL、平衡化および装填後洗浄：50 mM酢酸ナトリウムおよび0.1 M NaCl (pH 4.7)、溶出：同バッファー+1.5 M NaCl、稼働期間：164分、滞留時間：1分、直線流体速度：260 cm/hr

### 例2. CM Ceramic HyperD® F樹脂での細胞培養上清からのマウスIgMの精製

IgMは精製することが比較的難しい分子です。図7は、CM Ceramic HyperD® F樹脂での濃縮されたマウスIgM CCSの精製のアプリケーションを示しています。その結果は、ステップ純度77%で精製できました (SEC HPLCによる分析)。

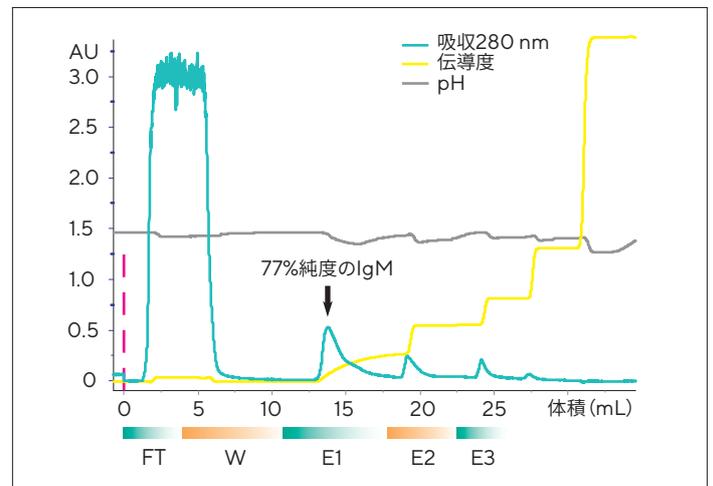


図7：CM Ceramic HyperD® F樹脂での濃縮されたマウスIgM CCSの精製

pH 5.5で装填：4倍希釈後の4 mL。平衡化+洗浄：100 mM酢酸ナトリウム (pH 5.5)。

ステップごとの溶出：平衡化バッファー+ 0.1 M NaCl (E1) / + 0.2 M NaCl (E2) / + 0.3 M NaCl (E3)、流速：43 cm/hr (RT：7分)

### 例3. MEP HyperCel混合モード樹脂でのモノクローナル抗体捕捉後の、DEAE Ceramic HyperD® Fイオン交換体での仕上げステップ

DEAE Ceramic HyperD® F樹脂は、マウス腹水からIgG1を精製するための2ステップ・プロセスにおける仕上げステップで使用されました。第1ステップは、混合モードMEP HyperCelカラムでのIgG1の捕捉で、IgG1の初期捕捉は良好な結果となりました(93%)。全2ステップで、IgG1の純度98%を達成しました。

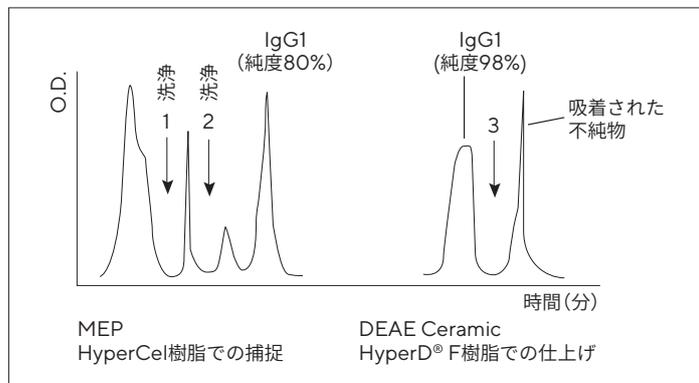


図8: MEP HyperCel樹脂に続きDEAE Ceramic HyperD® F樹脂での腹水からのIgG1の2ステップ精製

MEP HyperCelカラム: 50 mM Tris-HClバッファー (pH 8) を用いた洗浄1、25 mMカプリル酸ナトリウム含有の同バッファーを用いた洗浄2 (矢印1)、続いて水洗浄 (矢印2) によって、アルブミンを除去します。50 mM酢酸ナトリウム (pH 4.0) を用いて溶出します。IgG1濃縮画分にトリス塩基が追加され(最大pH 8.8、イオン強度7.4 mS/cm)、DEAE Ceramic HyperD® Fカラムに注入されます。同バッファーを用いた洗浄で抗体を採取します。DEAE Ceramic HyperD® Fカラム: 0.6 cm ID x 10 cm、平衡化: 50 mM Tris-HCl (pH 8.8)、直線流体速度: 160 cm/hr。IgG1は結合せず、吸着された不純物が1 M NaClによって溶出されます (矢印3)。

### 参考文献

1. Duval, M.他、Job Life Sciences 316 (1993) 1463。
2. Boschetti, E.他、J. Biochem. Biophys. Meth. 32 (1996) 15。
3. Necina, R., Amatschek, K., Jungbauer, A., Biotechnology and Bioengineering Vol. 60/6 (1998) 689。
4. Moure, F., Rendueles, M., Diaz, M., ECCE2 (Second European Congress of Chemical Engineering) (1999) Montpellier。
5. Riedel, K.-U.他、Eur. J. Biochem. 231 (1995) 742。
6. Jouanneau, Y.他、Eur. J. Biochem. 267 (2000) 780。
7. Sookkheo, B.他、Protein Expression and Purification 20 (2000) 142。
8. Norling L.他、J.Chrom. A, 1069 (2005) 79-89
9. Bengio, S.他、BioProcess International, (May 2010), 64。

# 発注情報

説明	パーツ番号			パック・サイズ
	Q	DEAE	CM	
Ceramic HyperD <sup>®</sup> F樹脂	20066-031	20067-039	20050-035	25 mL
Ceramic HyperD <sup>®</sup> F樹脂	20066-023	20067-021	20050-027	100 mL
Ceramic HyperD <sup>®</sup> F樹脂	20066-015	20067-013	20050-019	1 L
Ceramic HyperD <sup>®</sup> F樹脂	20066-064	20067-054	20050-050	5 L
Ceramic HyperD <sup>®</sup> F樹脂	20066-056	20067-047	20050-043	10 L

## PRCプレパック・カラム

パーツ番号	説明	パッケージ
PRC05X050QCHDF01	Q Ceramic HyperD <sup>®</sup> F 5x50、1 mL	1/パッケージ
PRC05X050CMCHDF	CM Ceramic HyperD <sup>®</sup> F 5x50、1 mL	1/パッケージ

# お問い合わせ先

詳細については、[www.sartorius.com](http://www.sartorius.com)をご覧ください。

ザルトリウス・ステディム・ジャパン株式会社

営業部

Phone : 03 6478 5201 | Fax : 03 6478 5495

[www.sartorius.com](http://www.sartorius.com)

〒140-0001 東京都品川区北品川1-8-11 Daiwa品川Northビル4階

※製品仕様は予告なく変更される場合があります。