

HyperCel STAR AX イオン交換樹脂

先進的な回収能を誇る
耐塩性陰イオン交換
クロマトグラフィー樹脂



お客様のメリット

HyperCel STAR AXは、バイオプロセス用に設計された耐塩性陰イオン交換樹脂です。

- 短い滞留時間 (2分未満) で高いDBC (動的結合容量)
- 中程度または高い導電率での未希釈原料からのタンパク質の直接捕捉または不純物除去
- 広範な導電率にわたり優れた選択性
- 迅速な処理、プロセスの経済性の向上

製品情報

HyperCel STAR AXは、中程度以上の塩導電率 (2~15 mS/cm) を持つ未希釈のバイオリジカル原料 (哺乳類細胞の培養上清、大腸菌原料、血漿など) からのタンパク質の捕捉と不純物の除去を生産的に行えるよう設計された陰イオン交換クロマトグラフィー樹脂です。HyperCel STAR AXは業界ユーザーと規制当局のニーズに応えます。大規模に製造され、レギュラトリー・サポート・ファイル (RSF) の提供が可能です。

説明

HyperCel STAR AX樹脂は、優れた流動性を持ち背圧が低い硬質セルロース・マトリックスから構成されており、製造規模でのタンパク質精製のニーズに対応します。本樹脂は以下のようにさまざまなパッケージ構成で利用可能です。

- メソッドの最適化、選択性のスクリーニングを迅速に行うことができ、調製作業を省力化できるように設計された、1 mLと5 mLの便利なPRCプレパック・カラム
- クロマトグラフィーによる並列分離を完全に自動化できる200 μ Lおよび600 μ Lの小型プレパックRoboColumns*

HyperCel STAR AX樹脂は、20% (v/v) エタノール含有の1 M NaCl溶液のスラリーとして、またはプロセス規模での使用のために湿潤ケーキとして提供可能です。湿潤ケーキでの樹脂は樹脂の移送を容易にし、大規模容量の攪拌と懸濁の手間を省きます。

HyperCel STAR AX樹脂の化学的安定性は高く、シンプルな定置洗浄 (CIP) と保管が可能です。標準のCIPでは0.5~1 M NaOH処理が推奨されますが、長期保管では10~100 mM NaOHが利用可能です。

技術データ

表1: 主な特性

平均粒子サイズ	80 μ m
イオン交換リガンド	1級アミン
動的結合容量 ¹	> 100 mg BSA/mL、 pH 7.5~8.0、 導電率15 mS/cm
一般的な操作範囲における原料の導電率	2~15 mS/cm
推奨される洗浄条件 ²	1 M NaOH

¹ 25 mM Tris-HCl、0.14 M NaClを含む5 mg/mL血清アルブミン (BSA) を使用。滞留時間2分間で測定。
² 5カラム体積 (CV) の0.5~1 M NaOHを注入、接触時間1時間。

HyperCel STAR AX樹脂は、実験室、パイロット製造から生産規模までのカラムでパッキングとアンパッキングがきわめて容易で、優れた流動性を示し、最先端の生産プロセスの要求に対応します。

本樹脂は安価で標準的なバッファーにパッキングが可能です。たとえば、10 mM NaClバッファーにパッキングされた内径200 mm、高さ150 mmのカラムは、1.5 bar (22 psi) 未満の背圧で操作可能です (図1)。

パッキング性能は実験室から大規模カラム (内径400 mm) まで一貫しており、理論段数 (N/m) の標準値は2000段を超え、非対称係数 (AF) は $1.0 < AF < 1.4$ です。

HyperCel STAR AX樹脂の圧力対流速

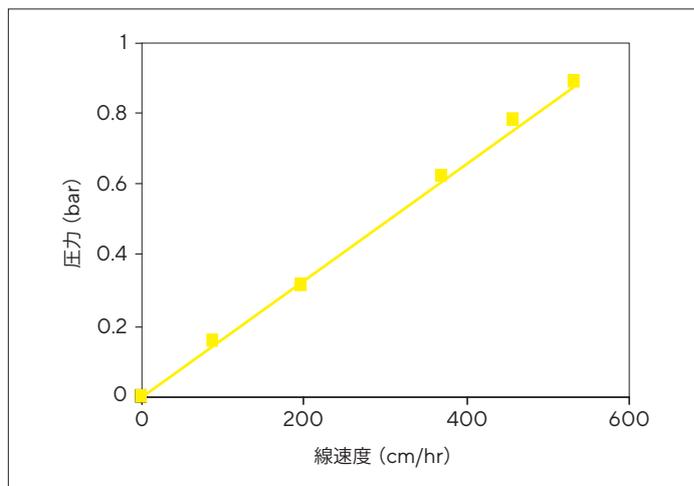


図1: カラム: 内径200 mm × ベッド高150 mm。パッキングバッファー: 10 mM NaCl

特長およびメリット

広範な導電率における高い動的結合容量: 原料の希釈が不要で、ダウンストリーム・プロセスを効率化

HyperCel STAR AX樹脂におけるpHと導電率の関数としての動的結合容量対滞留時間

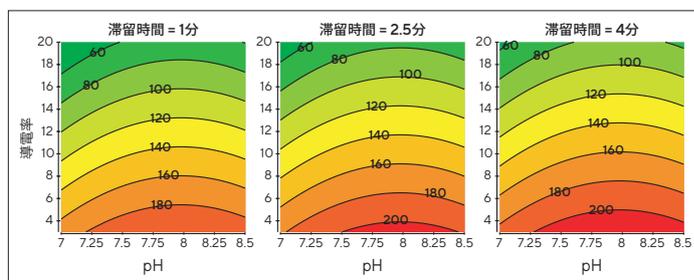


図2: カラム: 内径0.5 cm × ベッド高5 cm (約1 mL)。試料: 5 mg/mL BSA (平衡化バッファー)。平衡化バッファー: 25 mM Tris-HCl、pH 7.0~8.5。導電率: 3~20 mS/cm。滞留時間: 1~4分 (0.25~1 mL/min)。数値はBSAに対する樹脂の結合容量をmg/mLで示します。

多様なpH (7.0~8.5)、導電率 (3~20 mS/cm)、滞留時間 (1~4分) による動的結合容量への影響を調べるために、BSAをモデルとして実験計画法 (DoE) を実施しました。

* RoboColumnはRepligen GmbHの登録商標です。

図2のデータは、HyperCel STAR AX樹脂におけるBSAに対するDBCへのpHと導電率による影響を示します。等高線図は、本樹脂が短い滞留時間で広範なpHと導電率における高いDBC (100 mg/mL超) を有することを示しています。これによりプロセスの柔軟性と生産性を最適化できます。

未希釈および希釈血漿由来のヒト血清アルブミン (HSA) に対するHyperCel STAR AX樹脂の動的結合容量

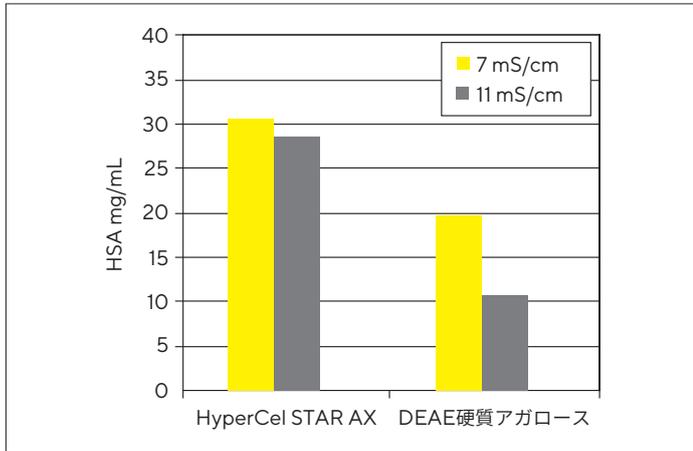


図3: 未希釈 (11 mS/cm) および希釈 (7 mS/cm) 血漿に対応する導電率におけるHSAに対するDBCを、HyperCel STAR AX樹脂と従来の硬質アガロースDEAE陰イオン交換樹脂とで比較したものの。

図3のデータは、従来の樹脂と比較すると7~11 mS/cmの範囲で導電率によるDBCへの影響が少ないことを示しています。これにより、HyperCel STAR AX樹脂に未希釈血漿を直接添加することが可能となります。

低背圧での優れた流動性 (図1) と組み合わせることで直接大量の原料を迅速に処理することができるため、全体的なプロセス処理能力が向上し、タンパク質分解のリスクを抑制できます。

結合容量が高いため、体積と設置面積がさほど大きくないカラムを用いて操作することが可能になります。これによりバッファー使用量を削減でき、機器の節約と樹脂への投資費用の低減につながります。

広範な導電率にわたり優れた選択性と分離効率

HyperCel STAR AX樹脂における10 mS/cmでのタンパク質混合物の分離

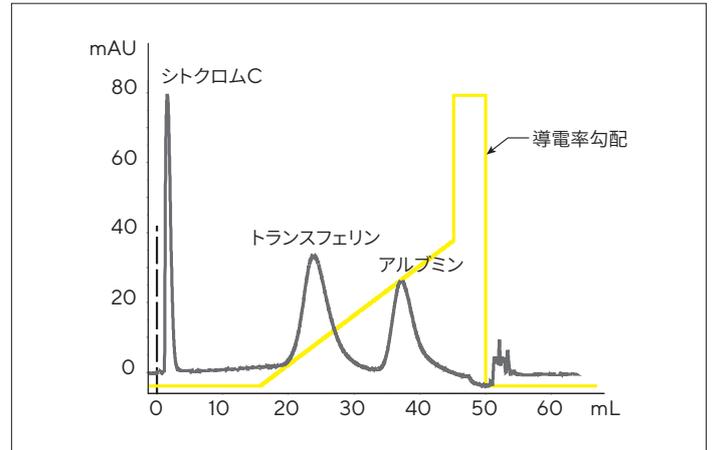


図4: HyperCel STAR AX 1 mL PRCプレパック・カラム; 100 μ L混合物 (2 mg/mLシクロロムC、10 mg/mLヒトトランスフェリン、10 mg/mL BSA)。添加: 25 mM Tris-HCl、pH 8.0、10 mS/cm。溶出: 勾配0%~50%、25 mM Tris-HCl、pH 8.0 + 1 M NaCl。

樹脂の選択性は原料中の目的タンパク質と夾雑物を識別する重要なパラメーターです。樹脂選択性のスクリーニングは重要であり、プロセス開発の初期段階で行う必要があります。

1 mL PRCプレパック・カラムの使用により迅速なスクリーニングと条件最適化を実現できます。適切な化学的性質を選択したら、高さを2倍にした5 mL PRCカラムで使用条件を最適化できます。5 mL カラム2つを直列に接続してカラムベッドの高さを20 cmに増すことができ、パイロット・スケールやスケールダウンの用途に向けてより綿密に実際の条件をモデル化できます。1 mLカラムも直列に接続できます。

図4に示すように、ビーズ構造、リガンドの化学的性質、および固有のイオン電荷密度の違いにより、HyperCel STAR AX樹脂の選択性と分離効率は広範な導電率で維持されます。

応用例

応用例としては、組換えタンパク質、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、血漿由来成分、その他のバイオ医薬品の直接捕捉があります。

HyperCel STAR AX樹脂では未希釈原料からタンパク質を直接捕捉できるため、目的物質の精製工程の前、たとえばプロテインAアフィニティー・ステップによるモノクローナル抗体 (MAb) の捕捉前の、夾雑物 (CHO宿主細胞由来タンパク質など) の早期除去にも使用できます。

応用例1. 未希釈血漿からのアルブミンの直接捕捉

本応用例の目的は、未希釈の血漿 (導電率11 mS/cm) からHSAを捕捉する2ステップ精製の第1ステップとしてHyperCel STAR AX樹脂を評価することです。HyperCel STAR AX樹脂を使用して捕捉の第1ステップを行い、次に陽イオン交換ステップを直交的に実行しました。血漿のpHや導電率は調整しませんでした。未希釈の血漿原料 (pH 7.6, 11 mS/cm) を30 mg/mLのDBCで添加しました (図3を参照)。

最良の収率/純度比が得られる最適な条件を判別するために96ウェル・フィルター・プレートで実験計画法 (DoE) を実施しました (図5に洗浄/溶出条件の最適化の一例を示します)。

これらの条件を次にPRCプレパック・カラムでのカラム・クロマトグラフィーに適用しました (図6)。

図5は、HSAの収率は主に溶出条件によって影響され (最適範囲: pH 3.5~4.2および導電率2~27 mS/cm)、純度は主に洗浄条件によって影響されることを示しています (15 mS/cm超の高い導電率での洗浄により純度が向上します)。

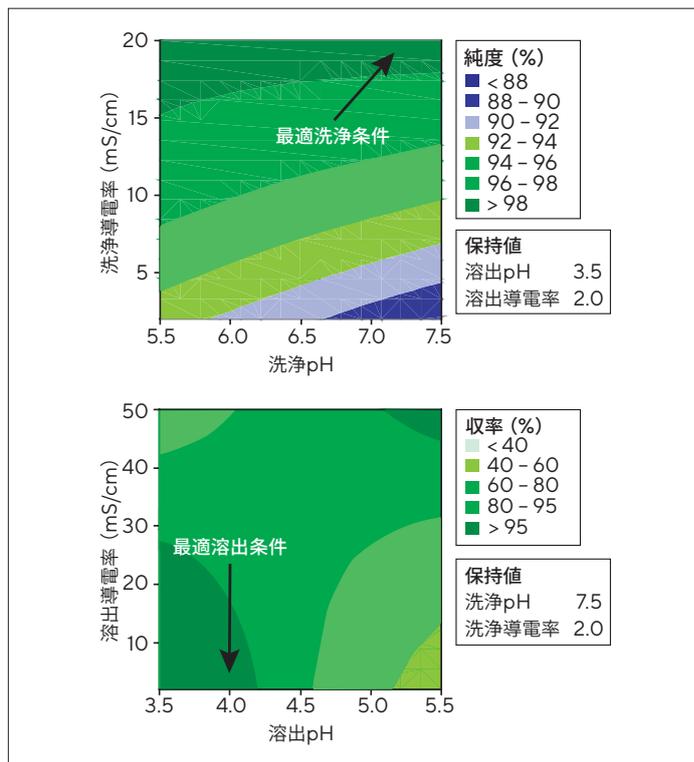


図5: HyperCel STAR AX樹脂におけるHSAの純度と溶出画分の収率 (パーセント) に対する洗浄 (W) 条件および溶出 (E) 条件の影響 (96ウェル・フィルター・プレートでの実験計画法)

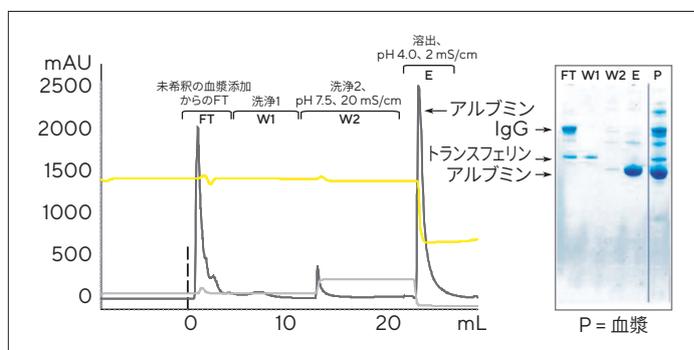


図6: 1 mL HyperCel STAR AX PRCプレパック・カラムへの、96ウェルプレートで判別した条件の適用

96ウェルプレートで判別した条件を、1 mL PRCプレパック・カラムのHyperCel STAR AX樹脂での未希釈血漿のクロマトグラフィーに適用しました。図6に示したクロマトグラムと溶出画分のSDS-PAGE分析では、夾雑物の大部分は高導電率での洗浄により除去され、単一のステップでHSA画分の純度99%、収率90%に達したことを確認しました。

さらに、先に図3に示したように、未希釈血漿の捕捉ステップで使用したHyperCel STAR AX樹脂のDBCは30 mg/mL超であり、これは同じ条件で試験した従来のDEAEアガロース樹脂の2倍を超えていました。

HSAは塩分を追加しなくてもpH (4.0) の単純な低下によって溶出し、HyperCel STAR AXに対して直交する陽イオン交換カラム (S HyperCel樹脂) への直接添加が可能になります。

陽イオン交換樹脂でのこの最終仕上げステップの容量は約65 mg/mLでした。これにより、精製されたHSA画分がpH 7で溶出し、純度は99%超でした (表2)。

表2: 未希釈血漿からのヒト血清アルブミンの2ステップ精製

	添加	容量 (mg/mL)	収率	純度
HyperCel STAR AX 樹脂での捕捉	未希釈血漿	> 30 mg/mL	90%	99%
S HyperCel樹脂での仕上げ	pH 4.0での HyperCel STAR AX樹脂からの 溶出液	65 mg/mL	95%	> 99%

応用例2. MAbのプロテインA捕捉前のCHOPの早期除去

この研究の目的は、哺乳類細胞培養原料からの従来のプロテインA樹脂によるMAb捕捉の前の、HyperCel STAR AX樹脂を用いた前精製ステップの影響を評価することでした (図7)。

図7に示す2つの精製方法について、CHOP (チャイニーズ・ハムスター卵巣タンパク質) 夾雑物の含量を市販のELISAアッセイを用いて比較しました。

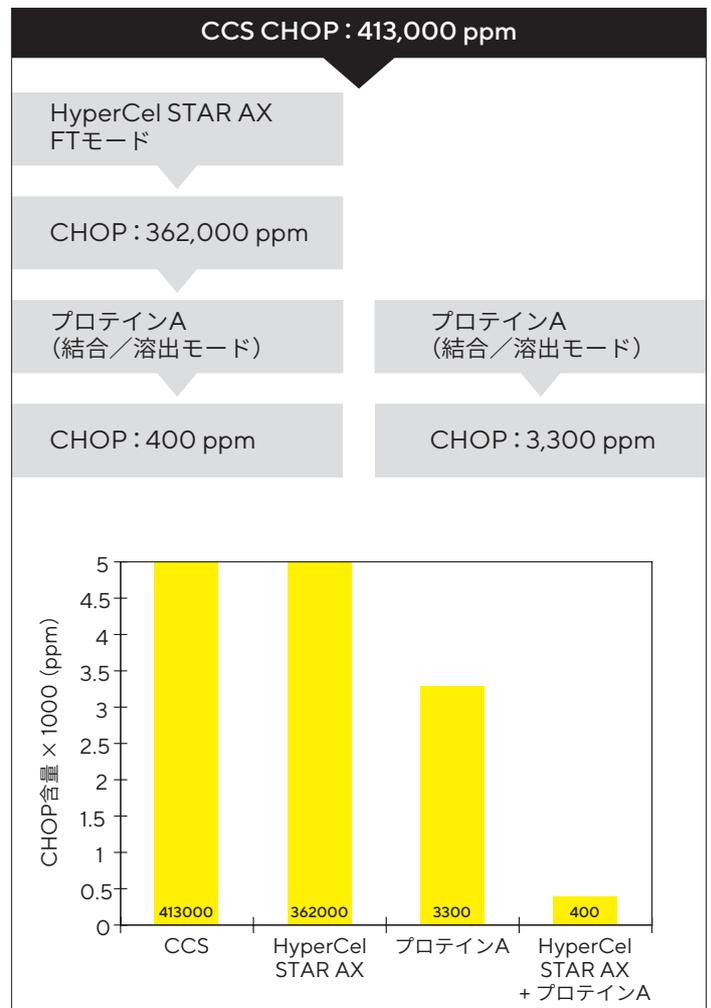


図7: 従来のMAb精製方法と、HyperCel STAR AX樹脂による前精製ステップを含む代替のMAb精製方法

データは、プロテインAの前にHyperCel STAR AX樹脂を使用することでCHOPがより削減されたことを示しています (8倍超)。この相乗効果により、当初の宿主細胞タンパク質 (HCP) の含量は413,000 ppmでしたが、最終的なCHOPレベルは約400 ppm (3 Log減少) まで減少し、MAbの回収率は90%でした。

前精製ステップにより、MAb捕捉の標準ステップとして使用される高価なプロテインAカラムの寿命が延びるため、プロセスの経済性にプラスの影響がもたらされます。

発注情報

説明	パーツ番号
HyperCel STAR AX樹脂	
25 mL	20197-026
100 mL	20197-032
1 L	20197-046
5 L	20197-058
10 L	20197-064
プレパック・カラム	
PRCカラム5 × 50 HyperCel STAR AX、1 mL	PRCSTARAX1ML
PRCカラム8 × 100 HyperCel STAR AX、5 mL	PRCSTARAX5ML
RoboColumn HyperCel STAR AX 200 μL、1列8本	SR2STARAX
RoboColumn HyperCel STAR AX 600 μL、1列8本	SR6STARAX

お問い合わせ先

詳細については、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

〒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。