

疎水相互作用クロマトグラフィー充填剤

セルファイン フェニル EX

テクニカルデータシート



JNC 株式会社

ライフケミカル事業部

東京都千代田区大手町二丁目 2 番 1 号

TEL : 03-3243-6150 Fax : 3-3243-6219

e メール: cellufine@jnc-corp.co.jp

<http://www.jnc-corp.co.jp/fine/jp/cellufine/>

抗体医薬の凝集体の除去に

セルファイン フェニル EX は独自のリガンド修飾技術によって抗体医薬の凝集体を効率よく除去することができるクロマトグラフィー充填剤です。第 1 工程のプロテイン A クロマトグラフィー後の抗体サンプルをセルファイン フェニル EX に通液すると抗体の凝集体は補足される一方、抗体の単量体は多くがそのままフロースルー画分に回収されます。このような不純物を選択的に吸着させるフロースルー精製に使用することができます。

セルファイン フェニル EX のベース基材

ベース基材となるセルロースは天然多糖ですが、アガロースなどとは異なり、セルロース内部に結晶構造を持ちます。このためセルファインは多孔質に富んだ細孔構造を持ちます（図 1）。セルロースという素材の特長から機械的強度が高く、細孔内の分子拡散が優れた特徴を持っています。

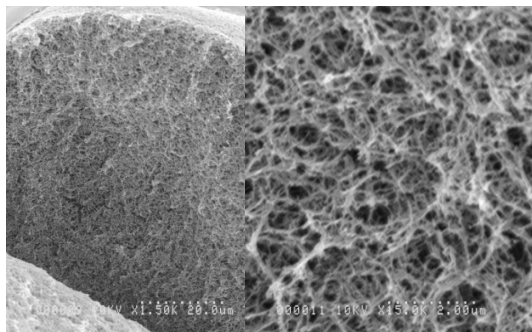


図1 セルファイン フェニルEXベース基材のSEM写真

セルファイン フェニル EX のリガンド構造

セルファイン フェニル EX のリガンド構造を図 2 に示します。

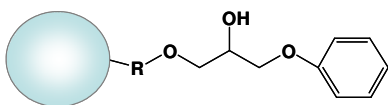


図2 セルファイン フェニル EX のリガンド構造

セルファイン フェニル EX の特長

セルファイン フェニル EX の基本的な特徴を表 1 に示します。セルファイン フェニル EX は平均 90um の架橋されたセルロース粒子です。バイオ医薬品の製造プロセスに利用できるように設計されています。JNC では複数種類の疎水性相互作用クロマトグラフィー充填剤を販売しています。これらの違いを示します。

| | フェニル EX | MAX フェニル | MAX フェニル LS |
|-----------------|-----------------|-----------|-------------|
| ベース基材 | 架橋セルロース | 高度架橋セルロース | |
| 粒径 | 40~130 μm | | |
| リガンド | フェニル基 | | |
| BSA 吸着量 (mg/ml) | 13 | 14 | 6 |
| BSA 溶出効率 (%) | 30 | 35 | 65 |
| 操作圧力 | < 0.2 MPa | < 0.3 MPa | |
| pH 安定性 | pH 2~13 | | |
| 保存方法 | 20 %エタノール、スラリー状 | | |

表1 各フェニル担体の特長

セルファイン フェニル EX の流速特性

セルファイン フェニル EX は高流速で使用できます。これはバイオ医薬メーカーに欠かせない特徴です。セルファイン フェニル EX の流速特性を示します（図 3）。セルファイン フェニル EX は、実製造で操作可能な流速特性を備えています。

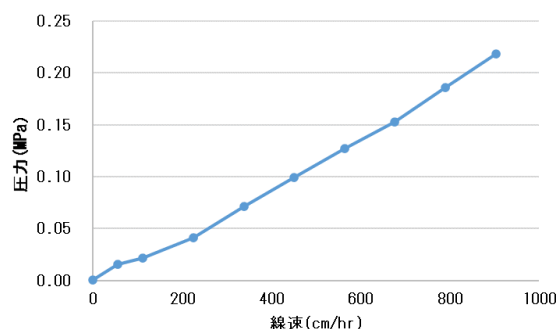


図3 セルファイン フェニルEXの流速特性

カラム: 内径2.6 cm x 高さ19.3cm

移動相: 純水、23~25 °C

コンプレッションファクター1.35で充填。システム圧力を除いた樹脂にかかる圧力を掲載している。

モデルタンパク質の分離挙動

疎水相互作用クロマトグラフィーは用途によって最適なリガンド量、すなわち疎水性の強さが異なります。図4ではセルファイン フェニル EX、セルファイン MAX フェニルのタンパク質の分離挙動を示しています。この結果からタンパク質の吸着の強さはセルファイン フェニル EX > MAX Phenyl であることが判ります。

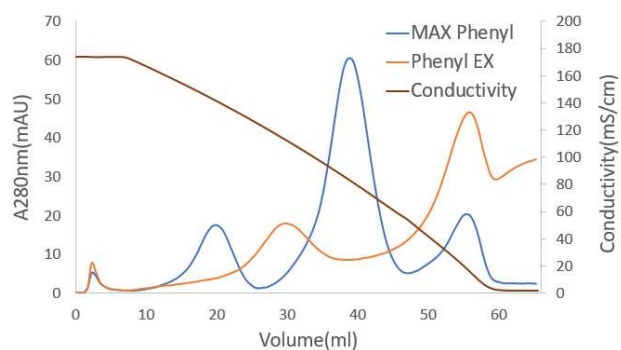


図4 モデルタンパク質の分離挙動

カラム: 内径6.6 mm × 高さ50 mm

バッファーA: 10 mMリン酸バッファー(pH 7) + 1.5 M硫酸アンモニウム

バッファーB: 10 mMリン酸バッファー(pH 7)

タンパク質: リボヌクレアーゼA, リゾチーム, キモトリプシノーゲンA

抗体凝集体の精製

セルファイン フェニル EX はモノクローナル抗体から凝集体をフローモードで除去するのに最適なクロマトグラフィー担体です。プロテイン A 担体で精製後のモノクローナル抗体を用いて抗体凝集体を除去しました(図5)。

セルファインフェニル EX は低い電気伝導度で高い凝集体除去性を有します。今回使用したサンプルの電気伝導度は 6 mS/cm に調整しています。このため通常のスル水相互作用クロマトグラフィー充填剤でも問題となる高塩濃度による配管などの腐食、バッファーの析出を抑えることができます。

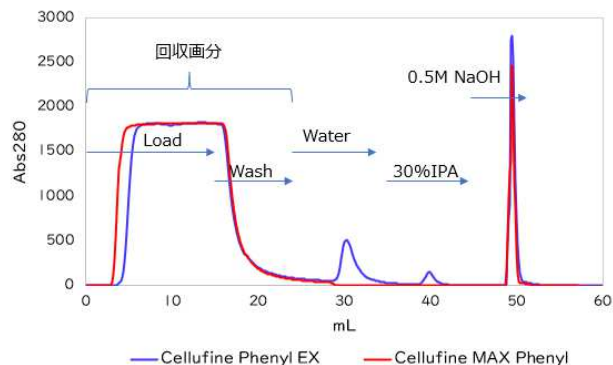


図5 モノクローナル抗体からの凝集体の除去

カラム: 1 mL ミニカラム

流速: 滞留時間 4分 (75cm/h)

サンプル: 精製後 mAb 6.6 mg/mL, pH6, 6 mS/cm

抗体負荷量: 93 mg_mab/mL_cv

平衡化・洗浄: 20 mM AcOH-Tris + NaCl, pH6, 6 mS/cm

| 担体 | 凝集体量 (カラム前) [%] | 凝集体量 (回収画分) [%] | 抗体回収率 [%] |
|----------|--------------------|--------------------|--------------|
| フェニル EX | 3.6 | 0.4 | 87 |
| MAX フェニル | | 1.3 | 99 |

表2 フェニル EX カラム後の抗体凝集体量の変化

表2に示す通り、モノクローナル抗体の凝集体は 3.6% 存在しましたが、セルファイン フェニル EX に通すことで 0.4%まで減少しました。

繰り返し使用

セルファイン フェニル EX は繰り返し使用することが可能です。定置洗浄は 0.5 M 水酸化ナトリウムに 30 %イソプロパノールを加えた洗浄液を用います。適切な洗浄液で定置洗浄を行うことで、60 回の繰り返し使用後も吸着性能は変化しませんでした(図6)。

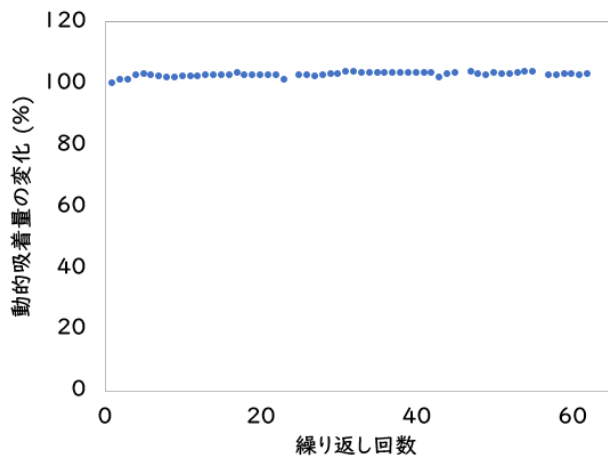


図6 繰り返し使用による性能の変化

カラム: 1 mL ミニカラム

サンプル: ヒトガンマグロブリン 2 mg/mL、平衡化バッファー

平衡化: 20 mM リン酸バッファー+ 0.5 M 硫酸アンモニウム,
pH7.0

溶出: 20 mM リン酸バッファー, pH7.0

定置洗浄: 0.5M NaOH+30% IPA (10 CV、暴露時間: 20分)

化学安定性

セルロースは化学的、物理的に安定な天然化合物として知られています。セルファインはセルロース由来のため化学薬品、酸性、アルカリ性に安定性を示します。

使用可能な化学薬品など

- ✓ エタノール (70%)
- ✓ イソプロパノール (30%)
- ✓ グアニジン塩酸塩 (6M)
- ✓ 尿素 (6M)
- ✓ NaOH (0.5M)
- ✓ 界面活性剤
- ✓ オートクレーブ (121 °C, 20 min)

保管方法

使用後の充填剤は定置洗浄後、20 %エタノールに置換して 2-25°Cで保存します。長期に保管する場合は 4°C程度の冷蔵保存を推奨します。

ご注文の情報

| 製品名 | 容量 | カタログ No. |
|--------------------|-----------------------|----------|
| セルファイン フェニル EX | 1ml x 5 (Mini-Column) | 22000-51 |
| | 5ml x 5 (Mini-Column) | 22000-55 |
| | 100 ml | 22000 |
| | 500 ml | 22001 |
| | 5 lt | 22002 |
| | 10 lt | 22003 |
| セルファイン MAX フェニル | 1ml x 5 (Mini-Column) | 20700-51 |
| | 5ml x 5 (Mini-Column) | 20700-55 |
| | 100 ml | 20700 |
| | 500 ml | 20701 |
| | 5 lt | 20702 |
| | 10 lt | 20703 |
| セルファイン MAX フェニル LS | 1ml x 5 (Mini-Column) | 20800-51 |
| | 5ml x 5 (Mini-Column) | 20800-55 |
| | 100 ml | 20800 |
| | 500 ml | 20801 |
| | 5 lt | 20802 |
| | 10 lt | 20803 |

ご購入・テクニカルサポートのご依頼

(北米)

JNC America Incorporated
 555 Theodore Fremd Avenue, Suite
 C-206
 Rye, NY 10580 USA
 TEL: 914-921-5400
 FAX: 914-921-8822
 E-mail: cellufine@jncamericany.com

(日本、アジア、その他)

JNC株式会社
 ライフケミカル事業部
 〒100-8105
 東京都千代田区大手町二丁目2番1号
 新大手町ビル9階
 Tel: +81-3-3243-6150
 Fax: +81-3-3243-6219
 E-mail: cellufine@jnc-corp.co.jp