

# HiTrap Fibro Prisma ユニット

# HiScreen Fibro Prisma ユニット

アフィニティークロマトグラフィー

モノクローナル抗体 (mAb) の製造においては、より少ない疾患数に対応した医薬品製造、より小さい製造バッチサイズの増加が見込まれており、プロセス効率の向上やフレキシブルな多品目製造設備への需要が高まっています。このようなニーズに応えるため、mAb および Fc 領域を有する組換えタンパク質のキャプチャーに使用可能な ready-to-use フォーマットの Fibro Prisma ユニットを開発しました (図 1)。Fibro Prisma ユニットは、貫通孔構造の protein A 結合セルロースファイバーマトリックスを有し、そこでの物質移動は対流によって支配されています。この構造のおかげで、極めて短いレジデンスタイムで高い mAb 結合能が得られ、その結果、サイクルタイムはレジンベースのクロマトグラフィーのように時間単位ではなく、分単位となっています。Fibro Prisma ユニットは、アプリケーションに応じて、最大 200 サイクルまで使用可能です。

HiTrap および HiScreen Fibro Prisma ユニートを ÄKTA システムに接続することで、以下のことを実現します。

- 迅速なサイクルクロマトグラフィーによって速やかなタンパク質精製が可能です。レジンベースのクロマトグラフィーではサイクルタイムは、数時間であるのと比較して、Fibro ユニットでは 5 分以下です。
- 週あたり最大で 500 種類の mAb クローン選択およびリード最適化というハイスループットの精製が可能です。各ラン/精製サイクルでは、リアルタイムで UV、pH、電気伝導度が検出され、クロマトグラムとして描出されます。
- レジンベースのクロマトグラフィーと比較して、スループットを最大で 20 倍増加させることが可能です。これによって、プロセス開発のリードタイムは数週間短縮されます。
- 24 時間以内にライフタイム試験の実施が可能です。



図 1. HiTrap および HiScreen Fibro Prisma ユニットは、すぐに使える状態で提供されます。

## 製品の概要

電界紡糸 (エレクトロスピンニング) セルロースをベースとした Fibro クロマトグラフィーは、表面積が大きく高い結合能を実現します。このマトリックスは機械的強度の高い貫通孔構造を有するため、高流量のクロマトグラフィーが可能です。レジデンスタイムは、レジンベースのクロマトグラフィーでは分単位ですが、Fibro では秒単位で運用することができます。

セルロースファイバーの独自の構造によって、充填層クロマトグラフィー精製が抱える拡散および流動に関する制限とともに、メンブレン吸着剤やモノリスに伴う結合容量の問題を克服する技術が実現しています(図2および図3)。Fibro Prismaは、MabSelect Prisma クロマトグラフィーレジンと同じ Prisma protein A リガンドを備えています。これによって、最適な結合能、ならびに効率的な定置洗浄 (cleaning-in-place、CIP) を可能にする優れた耐アルカリ性を保持します。

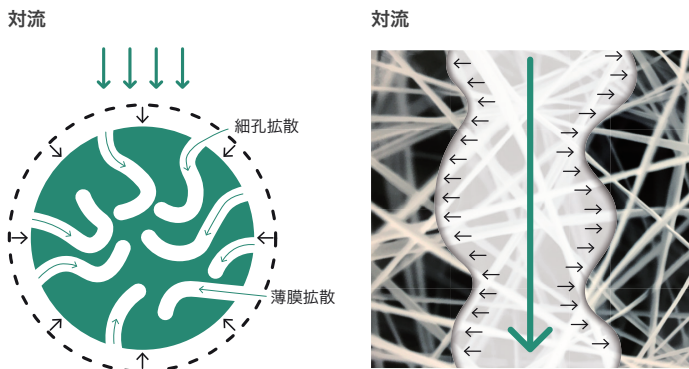
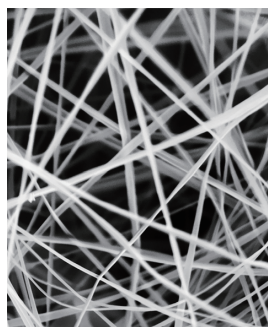
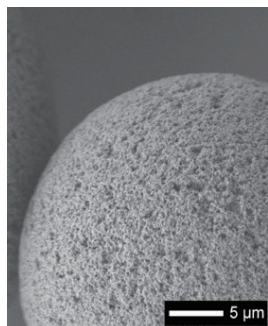


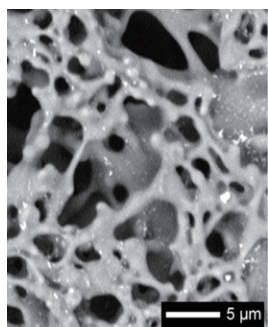
図2. レジンベースのクロマトグラフィー(左)の流量は拡散によって制限されます。Fibro ファイバーの貫通孔構造(右)は、対流を可能にするため、ファイバー表面に固定されたリガンドへ標的タンパク質が直接的に物質移動できます。



Fibro マトリックス  
対流による物質移動  
表面積 約 10 m<sup>2</sup>/g



クロマトグラフィーレジン  
粒子内への拡散を介した結合  
表面積 約 40 m<sup>2</sup>/g



メンブレン吸着剤  
対流による物質移動  
表面積 約 0.9 m<sup>2</sup>/g

図3. 種々のクロマトグラフィー用ベースマトリックスの表面積および物質移動メカニズム

## HiTrap および HiScreen Fibro Prisma ユニット

すぐに使用可能なこれらのユニットは研究用および初期のプロセス開発用として設計されたもので、スクリーニングやプロセス条件最適化に適しています。本製品は医療用ポリプロピレン製で、インレットおよびアウトレットにストッパーがあります。

両ユニットとも、ペリスタポンプまたは ÄKTA クロマトグラフィーシステムでの操作が可能です。HiTrap Fibro ユニットは、シリンジや双方向流を用いて操作することもできます。HiScreen Fibro ユニットは、規定のインレットとアウトレットを用いて規定の送液方向にタンパク質を溶出させることで可能な最小の溶出プール液量を得ることができます。

HiTrap Fibro Prisma ユニットはベッドが1つで、ÄKTA システムにおいて 40 マトリックスボリューム (matrix volume、MV)/分という非常に高い流量で操作が可能です。HiScreen Fibro Prisma ユニットにはベッドが並列で2つあり、それぞれが HiTrap のベッドの2倍の厚さです(図4)。したがって、HiScreen Fibro の推奨流量 (8 MV/分) は HiTrap の流量よりも低くなります。

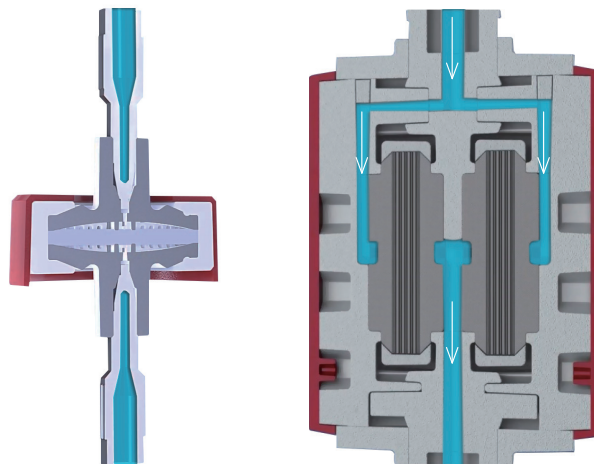


図4. HiTrap (左) および HiScreen (右) Fibro Prisma ユニットの断面図。近日発売予定である大規模の Fibro Prisma ユニットのベッドデザインは HiScreen Fibro Prisma と同様ですが、流路のデザインは変更される予定です。

HiTrap および HiScreen Fibro PrismA ユニットの仕様を表 1 に示します。

表 1. HiTrap および HiScreen Fibro PrismA ユニットの主な仕様

	HiTrap Fibro PrismA	HiScreen Fibro PrismA
マトリックス	誘導電界紡糸 (エレクトロスピンング) セルロースファイバー	
リガンド	PrismA リガンド (アルカリ安定化 protein A, <i>E. coli</i> 由来)	
リガンドのカップリング	1 点結合	
動的結合容量 (dynamic binding capacity, DBC) <sup>1</sup>	約 30 mg IgG/mL マトリックス	
典型的な DBC/ユニット <sup>1</sup>	約 12 mg IgG/HiTrap ユニット	約 112 mg IgG/HiScreen ユニット
サイクルタイム <sup>2</sup>	約 3 分	約 5 分
流量 (推奨運転流量) <sup>3</sup>	≤ 16 mL/分 (40 MV/分)	≤ 30 mL/分 (8 MV/分)
マトリックスボリューム	0.4 mL	3.75 mL
溶出流量 <sup>4</sup>	≤ 7 MV	≤ 4 MV
最大運転圧力	1 MPa (10 bar)	
化学的安定性	Protein A クロマトグラフィーに一般的に使用される水性バッファーに適合	
pH 安定性 (運転時) <sup>5</sup>	3~12	
pH 安定性 (CIP 時) <sup>6</sup>	2~14	
温度安定性 (運転時)	4~35°C	
温度安定性 (保管時)	2~8°C	
保管	20% v/v エタノール水溶液	

<sup>1</sup> Tris バッファー (pH7.5) を用いた前駆分析において、10% の漏出が見られた時点の添加タンク質量として測定

<sup>2</sup> 精製サイクルには、Fibro ユニットの平衡化、サンプル添加、洗浄、溶出、ストリップ、CIP、再平衡化が含まれます。

<sup>3</sup> 粘度が水と等しいバッファーを用いて室温で測定した値です。

<sup>4</sup> HiTrap Fibro および HiScreen Fibro ユニットのハウジングデザインは、溶出流量を小さくするために最適化されています。しかし、近日発売予定である GMP (医薬品の製造管理および品質管理に関する基準) 互換のプロセススケール Fibro ユニットの、デザインの最適化により 3 MV 未満の溶出流量になると予測されています。

<sup>5</sup> マトリックスの機能に顕著な変化を与えることなく運転が可能な pH の範囲です。

<sup>6</sup> マトリックスの機能に顕著な変化を与えることなく定置洗浄または定置サニタイゼーションが可能な pH の範囲です。

## PrismA リガンド

Fibro の電界紡糸セルロースファイバーには、*E. coli* 由来の protein A リガンドである PrismA が結合しています。培養および精製に動物由来原料は使用されていません。本リガンドは、アルカリおよびプロテアーゼに対する耐性を高めたものです。IgG の Fc 領域への結合特異性は従来の protein A リガンドと同程度であり、1 ステップでの良好な精製を実現します。PrismA リガンドは VH3 鎖に対する親和性も有するため、特定の種類の抗体フラグメントの精製にも利用できます。

## 極めて短いレジデンスタイムでの高い結合能

Fibro マトリックスが有するマクロ細孔および広い表面積は、秒単位のレジデンスタイムでの非常に迅速な精製を可能とし、レジンベースのクロマトグラフィーのような分単位のレジデンスタイムを必要としません (図 5)。すなわち、レジンベースのクロマトグラフィーと比べて、最大で 20 倍も迅速な mAb 精製が可能です。図 6 に示すとおり、平衡化、サンプル添加、洗浄、溶出、CIP、そして再平衡化からなる完全な mAb 精製サイクルを、時間単位ではなく分単位のうちに実施することができます。

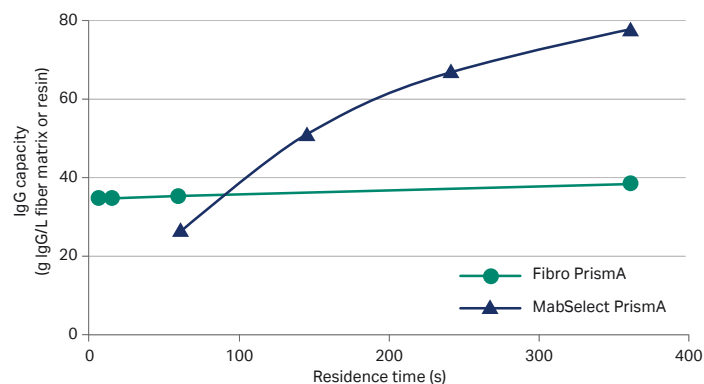


図 5. Fibro マトリックスにおける速やかな物質移動は、極めて短いレジデンスタイムでの高い結合能を実現します。

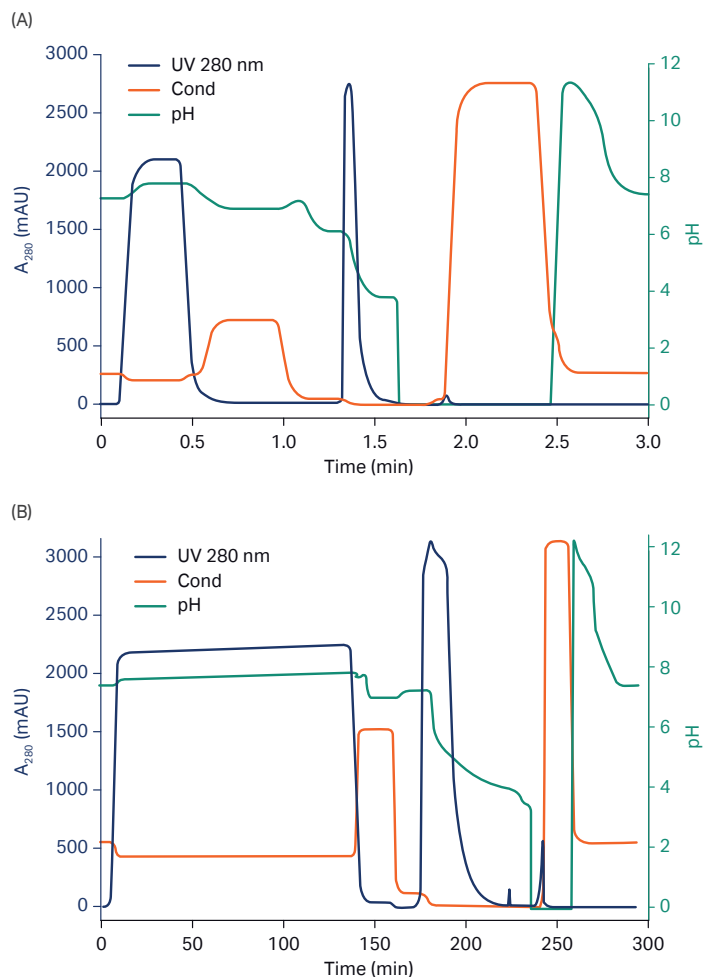


図 6. 高い負荷量でサンプルを添加した際の (A) HiTrap Fibro PrismA ユニット、および (B) MabSelect PrismA レジンを充填した HiTrap 1 mL カラムを用いた典型的な精製サイクルの例。

広い表面積、および PrismA リガンドの結合特性によって、約 30 g/L という高い動的結合容量が得られます (図 7 参照)。通常の mAb のほか、抗体バリエーションについても評価が行われ、高い結合能が示されています。図 7 に示されているとおり、動的結合容量は抗体分子ごとに異なります。

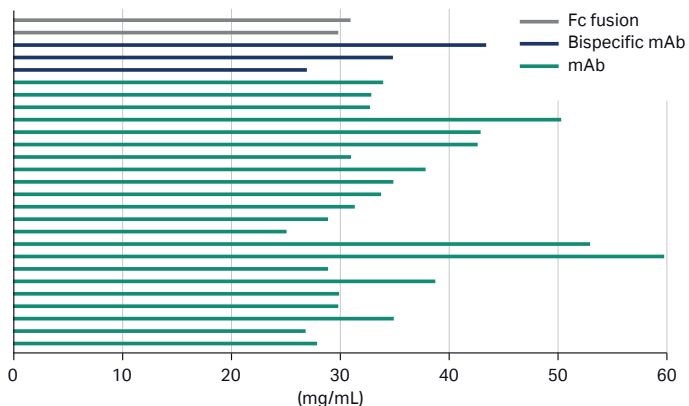


図 7. 種々の mAb および抗体バリエーションについて Fibro PrismA マトリックスの動的結合容量 (レジデンスタイム 6 秒未満)。

### 高いアルカリ耐性

さまざまな種類の抗体を同一のユニットで精製するような基礎研究アプリケーションにおいては、回収率を維持しながらクロスコンタミネーションを防止することが重要です。数百サイクルというライフタイムを通じてユニットを再利用する場合、洗浄も重要です。徹底的な洗浄が必要な場合、水酸化ナトリウム (NaOH) は効率的で低コストであり、かつ廃棄が容易な洗浄剤です。NaOH で徹底的に洗浄することで、宿主細胞由来タンパク質 (host cell protein, HCP) による汚染、プレバックカラムの中の微生物増殖、また精製サイクル間のキャリーオーバーのリスクを低減できます。しかし、protein A のようなタンパク質ベースのリガンドを結合させたレジンの多くはアルカリ条件に弱いという性質を有します。

アルカリ耐性を高めた protein A リガンドである PrismA の場合、毎サイクルごとに 0.5~1.0 M NaOH で 30 秒~1 分間の CIP が可能です。すなわち、HiTrap および HiScreen Fibro PrismA ユニットの、再利用のために確実な洗浄が可能です。必要な場合には、Fibro PrismA ユニットの、最高 2 M NaOH で洗浄を行っても高い結合能を維持したまま数百サイクル再利用することができます (図 8)。

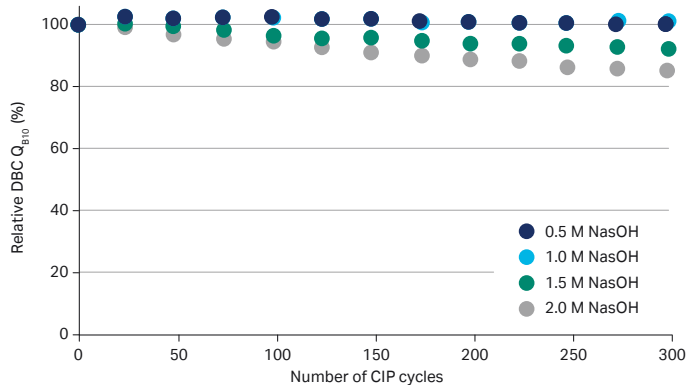


図 8. 0.5~2.0 M NaOH で毎サイクルごとに 1 分間の CIP を 300 サイクル実施したときの HiTrap Fibro PrismA の動的結合容量の変化。

### レジンベースのカラムと同等の精製性能

mAb 1 を含む CHO (チャイニーズハムスター卵巣) 細胞の培養上清サンプルを、ÅKTA pure 25 システムに接続した HiTrap Fibro PrismA ユニットの (0.4 mL) および HiTrap MabSelect PrismA カラム (1 mL) を用いて精製しました。Fibro PrismA ユニットの性能は、回収率 (図 9)、HCP の除去率 (図 10)、漏出 protein A リガンド (図 11)、および凝集体濃度 (図 12) に関して MabSelect PrismA カラムと同等でした。

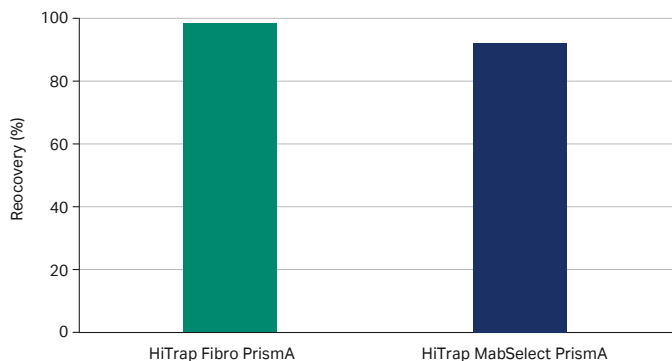


図 9. HiTrap Fibro PrismA または HiTrap MabSelect PrismA で精製した mAb 1 の回収率。

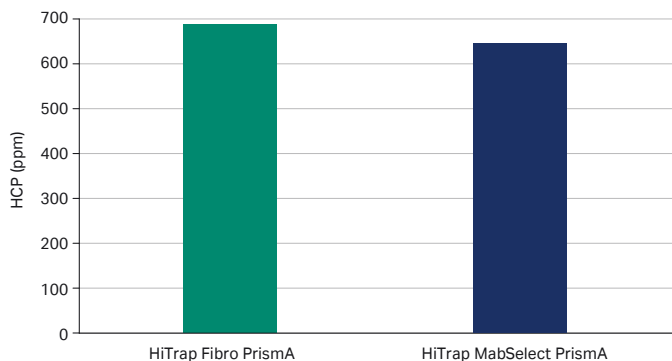


図 10. mAb 1 精製後の溶出プールにおける残存 HCP 濃度 (ppm)。添加したフィードの HCP 量は約 170 000 ppm でした。

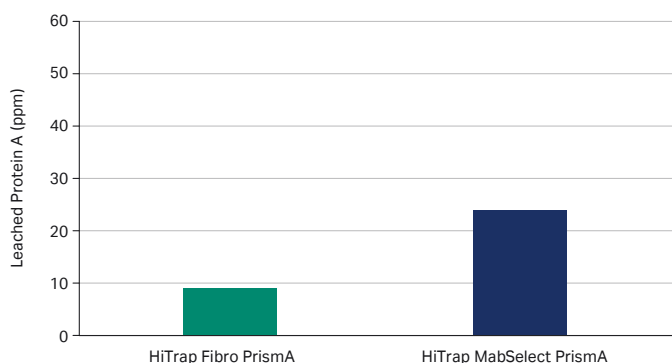


図 11. mAb 1 精製後の漏出 protein A 濃度 (ppm)。MabSelect PrismA の方がわずかに高い濃度を示したのは、Fibro PrismA ユニットの比較してリガンド密度が高いためです。

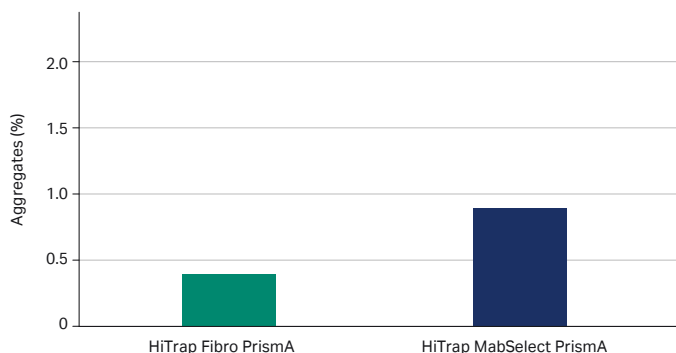


図 12. mAb 1 精製後の凝集体濃度 (%)。

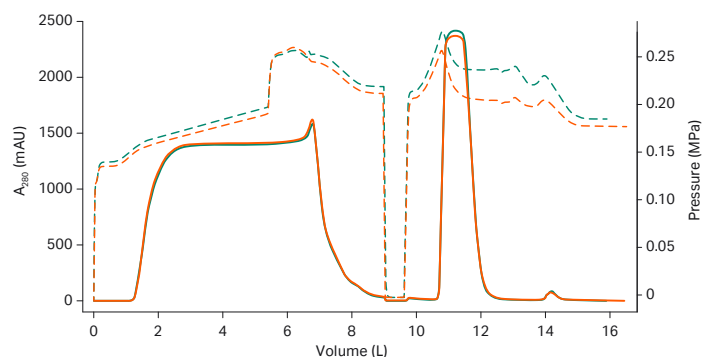


図 13. 重ね書きされたクロマトグラム：ラージスケールの Fibro Prisma プロトタイプユニット (0.6 L) のサイクル 1 およびサイクル 13。

## Fibro Prisma : スケーラブルな protein A 結合ファイバークロマトグラフィープラットフォーム

Fibro テクノロジープラットフォームは、製造スケールまでのスケールビリティとともに、既存の ÄKTA 精製システムに適合するよう設計されています。本ユニットは、1 精製サイクルあたり約 12 mg mAb の容量 (HiTrap ユニット) の研究スケールから、複数回サイクリングすることにより 24 時間以内に最大 2,000 L のバイオリアクターのハーベスト、あるいは 10 kg 以上の mAb を処理可能な GMP 互換ユニットまで、幅広く提供される予定です。

短いサイクルタイムにより、mAb のハイスループト精製が可能になり、基礎研究およびプロセス開発の時間を大幅に節約するチャンスが得られます。バイオ医薬品製造のためのスケールアッププロセスでは、迅速なサイクル運転によって、1 バッチの間に protein A のライフタイムを十分に活用することで、費用対効果の高いシングルユースクロマトグラフィーを実現します。

独立した共同研究者の評価において、プロセススケールの Fibro Prisma プロトタイプユニット (0.6 L) を用いて、High Flow Kit を装着した ÄKTA ready クロマトグラフィーシステムにおいて 17 サイクルの運転を実施しました。その結果、DBC は 30.6 g/L、サイクルタイムは、最大カラム出入口差圧 (dCP) が 2.8 bar のとき 7.3 分、最大 dCP が 4.2 bar のとき 4.8 分という良好な性能を示しました。溶出液量は 3 MV 未満で回収率は 95% を超えていました。バッファの消費量は 0.65 L/g (1 ランあたり約 18 MV) でした。図 13 に示すように、精製性能はサイクル間で維持されていました。

Fibro ユニットは既存の ÄKTA クロマトグラフィーシステムに適合します。HiTrap Fibro Prisma は、ÄKTA pure/avant 25 を推奨します。ÄKTA pure/avant 150 も使用可能です。HiScreen Fibro Prisma については、ÄKTA pure/avant 150 を推奨します。これらのシステムでは、Fibro 用の predefined method がプリセットされた UNICORN ソフトウェアの最新版コンフィグレーションファイルを利用できます。表 2 に示すように、HiTrap および HiScreen Fibro ユニットは他の ÄKTA システムでも運転が可能です。近日発売予定であるラージスケールの GMP 互換 Fibro Prisma ユニットは、ÄKTA pilot 600 システム、ÄKTAprocess システム、ÄKTA ready システムに適合します。

### 保管

HiTrap および HiScreen Fibro Prisma は 20% エタノール中、2 ~ 8°C で保管してください。

使用前に結合バッファーで平衡化し、ブランクラン (CIP を含む) を実施してください。

表 2. Fibro ユニットの推奨流量に基づく各 Fibro ユニットと各 ÄKTA システムの適合性。青色 = 推奨システム、灰色 = 適合するが最適ではない。

システム	クロマトグラフィーシステム		HiTrap Fibro Prisma (0.4 mL)	HiScreen Fibro Prisma (3.75 mL)
	最小流量 (mL/min)	最大流量 (mL/min)	推奨流量 (mL/min)	推奨流量 (mL/min)
ÄKTA go	0.01	25	16	25
ÄKTA pure/avant 25	0.001	25	16	25
ÄKTA pure/avant 150	0.01	150	16	30

## ご注文情報

<b>Product</b>	<b>Column size</b>	<b>Product code</b>
HiTrap Fibro PrismA 1 pack	0.4 mL	17549855
HiTrap Fibro PrismA 4 pack	4 × 0.4 mL	17549856
HiScreen Fibro PrismA	3.75 mL	17549816



掲載されている内容および価格は2020年6月現在のものです。価格は希望小売価格(消費税は含まれておりません)であり、単なる参考価格のため、弊社販売代理店が自主的に設定する販売価格を何ら拘束するものではありません。掲載されている製品は試験研究用以外には使用しないでください。

掲載されている内容は予告なく変更される場合がありますのであらかじめご了承ください。掲載されている社名や製品名は、各社の商標または登録商標です。お問合せに際してお客さまよりいただいた情報は、お客さまへの回答、弊社サービスの向上、弊社からのご連絡のために利用させていただく場合があります。

## Cytiva(サイティバ)

グローバルライフサイエンステクノロジーズジャパン株式会社  
〒169-0073

東京都新宿区百人町3-25-1 サンケンビルディング

お問合せ: バイオダイレクトライン

TEL: 03-5331-9336 FAX: 03-5331-9370

e-mail: Tech-JP@cytiva.com



**Intertek**  
ISO 9001:2015  
認証取得

[www.cytivalifesciences.co.jp](http://www.cytivalifesciences.co.jp)

71-3979-12

