

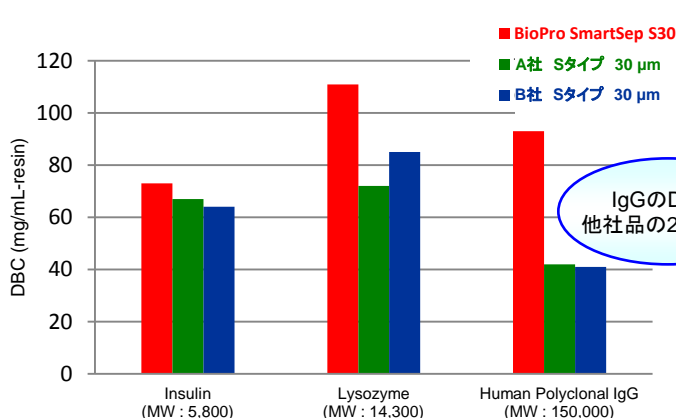
## イオン交換担体BioPro SmartSep S30のIgGハイスループット精製の有効性

R150521A

BioPro SmartSep Q/Sはバイオ医薬品の間精製から最終精製に有効なイオン交換担体です。非特異的吸着が極めて小さい親水性ポリマーを使用しているため、タンパク質の動的吸着容量(DBC)が高く回収率にも優れた製品です。DBCはpHや線速度、塩濃度などに影響を受けますが、BioPro SmartSepではいかなる条件においても高いDBCを示します。高速で大量の処理が可能のため、抗体などをはじめとする様々なタンパク質精製で高い生産性を実現します。特にIgGに対しては非常に高いDBCを示すため、サンプルの処理量も多く精製効率化に有効です。

### IgGに対する高い動的吸着容量

#### 市販イオン交換担体とのDBC比較



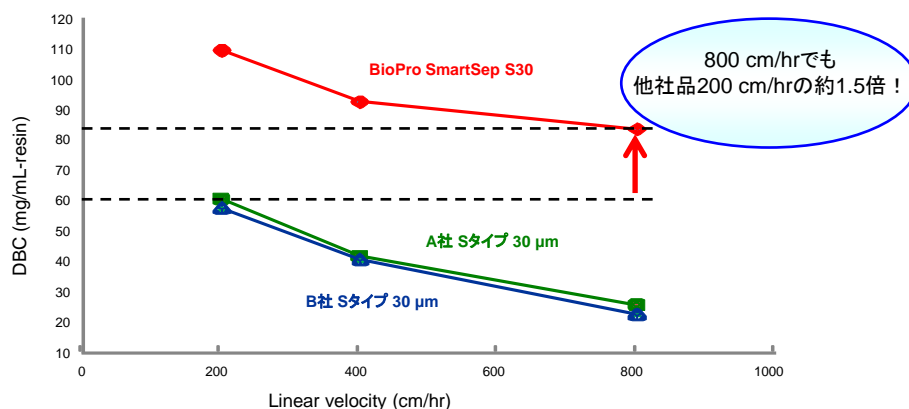
	DBC (mg/mL-resin, 10% breakthrough)		
	Insulin (MW : 5,800)	Lysozyme (MW : 14,300)	Human Polyclonal IgG (MW : 150,000)
<b>BioPro SmartSep S30</b>	<b>73</b>	<b>111</b>	<b>93</b>
A社 Sタイプ 30 μm	67	72	42
B社 Sタイプ 30 μm	64	85	41

#### DBC測定条件\*

Column size : 50 X 5.0 mm I.D.  
Sample : 1.5 mg/mL in equilibration buffer  
Flow rate : 400 cm/hr (1.32 mL/min)

\*条件の詳細はお問い合わせください。

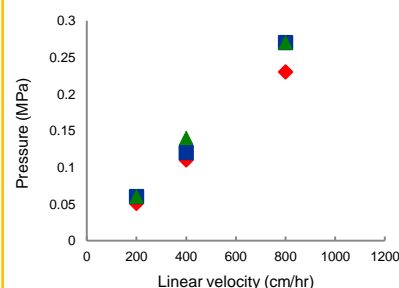
#### 線速度のDBCへの影響



#### DBC測定条件

Column : 50 X 5.0 mm I.D.  
Equilibration buffer : 20 mM citric acid-NaOH (pH 5.3)  
Elution buffer : Equilibration buffer containing 0.5 M NaCl  
Flow rate : 200-800 cm/hr (0.66-2.62 mL/min)  
Temperature : ambient (25°C)  
Detection : UV at 280 nm  
Sample : **1.5 mg/mL human polyclonal IgG** in equilibration buffer

#### 実験時の圧カプロファイル



Linear velocity	DBC (mg/mL-resin, 10% breakthrough)		
	200 cm/hr	400 cm/hr	800 cm/hr
<b>BioPro SmartSep S30</b>	<b>110</b>	<b>93</b>	<b>84</b>
A社 Sタイプ 30 μm	61	42	26
B社 Sタイプ 30 μm	58	41	23

・BioPro SmartSep S30は種々のタンパク質に対して他社品より高いDBC

IgGでは400 cm/hr~800 cm/hrで他社品の2倍以上

➡ 抗体精製用カラムのダウンサイジングに貢献

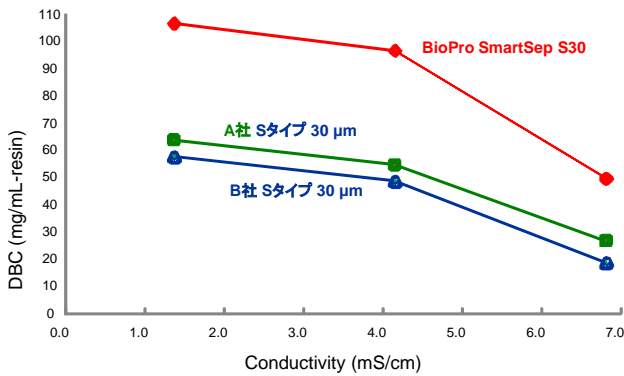
・高流速になるほど他社品との差が増大→高流速で活かせるメリット

➡ BioPro SmartSep S30の使用で精製工程時間の大幅短縮

# 各条件のDBCへの影響

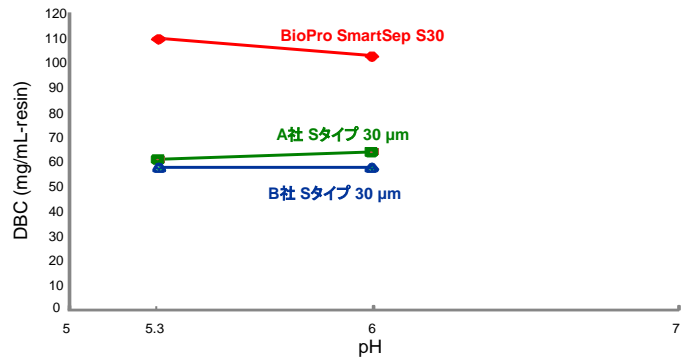
## 塩濃度のDBCへの影響

Sample: 1.5 mg/mL human polyclonal IgG  
in equilibration buffer containing 0, 25, 50 mM NaCl  
\* Equilibration buffer pH: 5.3



## pHのDBCへの影響

Conductivity : 1.30 mS/cm (pH 5.3)  
1.40 mS/cm (pH 6.0)



### 共通条件

Column : 50 X 5.0 mml.D.  
Equilibration buffer : 20 mM citric acid-NaOH (pH 5.3 or 6.0)  
Elution buffer : Equilibration buffer containing 0.5 M NaCl  
Flow rate : 200 cm/hr (0.66 mL/min)  
Temperature : ambient (25°C)  
Detection : UV at 280 nm  
Sample : 1.5 mg/mL human polyclonal IgG in equilibration buffer

	DBC (mg/mL-resin, 10% breakthrough)				
	5.3			6.0	
pH				5.3	6.0
NaCl concentration	0 mM	25 mM	50 mM	-	-
Conductivity	1.36 mS/cm	4.14 mS/cm	6.8 mS/cm	-	-
BioPro SmartSep S30	107	97	50	110	103
A社 Sタイプ 30 μm	64	55	27	61	64
B社 Sタイプ 30 μm	58	49	19	58	58

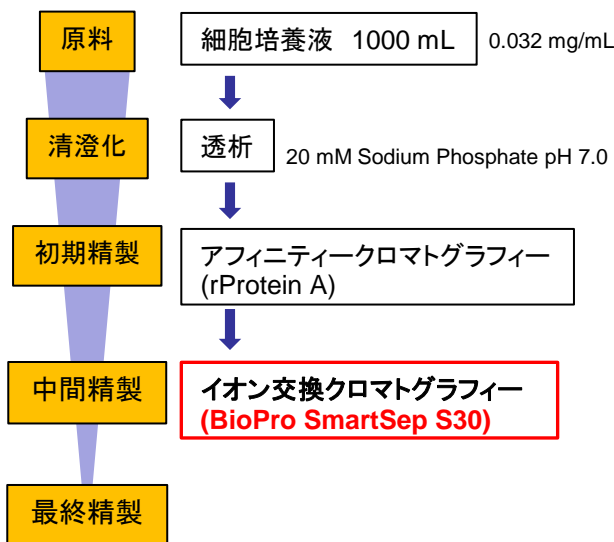
- ・高い塩濃度でも高いDBC → Protein Aを用いた初期精製後の脱塩操作を簡略化可能
- ・カチオン交換モードでの抗体精製で汎用されるpHレンジでも高いDBCを示す

## IgG1 (ヒト型抗ヒトTNF-α モノクローナル抗体) の分離例

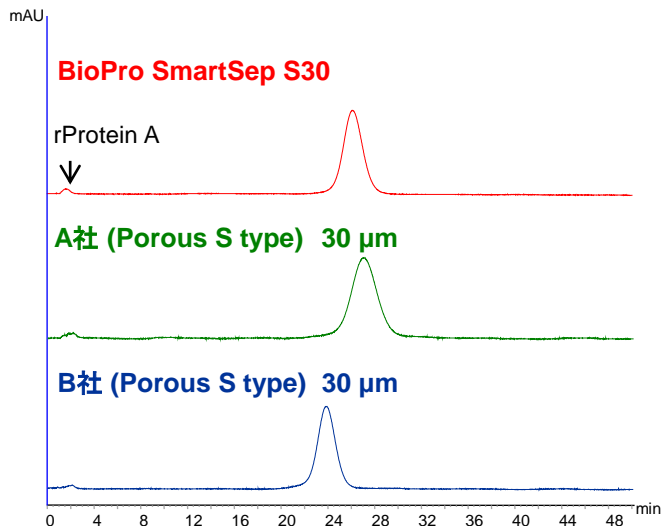
細胞培養液中のモノクローナル抗体IgG1の分離精製を行った例を示しています。清澄化したのち、アフィニティークロマトグラフィー(rProtein A)で初期精製を行い、イオン交換クロマトグラフィーで精製を行っています。初期精製で使用した担体のリガンドであるrProtein Aが離脱してサンプル中に混入していますが、イオン交換クロマトグラフィーで分離、除去されています。

### サンプル精製スキーム

Sample: ヒト型抗ヒトTNF-αモノクローナル抗体 (アダリムマブ)



### アフィニティークロマトグラフィー後の中間精製



Column : 50 X 5.0 mml.D.  
Eluent : A) 20 mM citric acid-NaOH (pH 5.3)  
B) 20 mM citric acid-NaOH (pH 5.3) containing 0.5 M NaCl 0-100 %B, 30 column volumes  
Flow rate : 180 cm/hr (0.59 mL/min)  
Temperature : ambient  
Detection : UV at 280 nm  
Sample : Anti-hTNFalpha IgG1 (Affinity column後)  
Injection : 0.25 mL (0.1 mg IgG1)

- ・rProtein Aでの初期精製時にリガンドが脱離したため、イオン交換カラムでの中間精製において除去