

高通量和一次性的 Fibro 层析纯化 mAb

Linnea Troeng, David Westman, Matthew Townsend, Ian Scanlon, Oliver Hardick, Jinyu Zou, and Tuomo Frigard
Cytiva, Björkgatan 30, 751 84 Uppsala, Sweden

简介

生物制药正朝着单克隆抗体 (mAb) 项目数量增加和批次生产规模缩小的方向发展, 预计大多数单克隆抗体的产量将低于 150 kg/yr*。这对筛选的克隆数量、高效的工艺开发 (PD) 和灵活的、可放大的生物工艺设计提出了新的要求。在多产品生产场所中, 在不同的生产环节之间方便快捷地转换变得至关重要。这推动了高效的一次性技术的使用。在这里, 我们提出了一种能够满足这些需求的新技术。快速运行的基于纤维的层析 (简称 Fibro) 可以大大缩短科研、PD 和生产中的一次性解决方案的纯化时间。Fibro 层析支持相对较高的载量, 仅为几秒的保留时间, 以及仅为几分钟的全纯化运行周期。我们描述了一个多用途的解决方案, 可以大幅度提高科研和 PD 的通量, 并在循环间保持一致性。一个放大运行的原型展示了循环间的一致性和可放大性。

什么是 Fibro 层析?

Fibro 的吸附剂材料具有开孔结构的纤维素纤维基质, 其传质受对流流速控制。这可以实现高结合载量 (>30 g/L), 保留时间以秒而非分钟计算 (图 1 和图 2)。

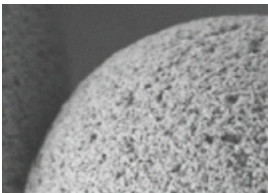


图 1. 传统层析: 扩散流速。传质受限于分子在填料颗粒中缓慢的扩散。工艺流速受限于颗粒硬度。

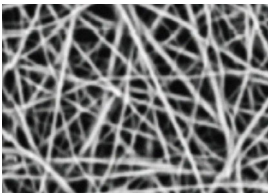


图 2. Fibro 层析: 对流流速。对流流速传质快。工艺流速仅受限于基质材料的孔隙大小。

高结合载量, 低保留时间和循环间的一致性

一个可放大的 4 mL Fibro 单元固定蛋白 A “Prisma” 配基, 可以在几分钟内运行一个完整的层析循环, 仅消耗少于 3 倍基质体积 (MV) 的浓缩洗脱液 (图 3)。通过在 ÄKTA™ pure 150 系统上使用 4 mL Fibro Prisma 单元运行 50 个循环, 证明了循环间的一致性 (回收率 >95%) (图 4)。洗脱峰在循环间具有一致性, 且压力稳定。

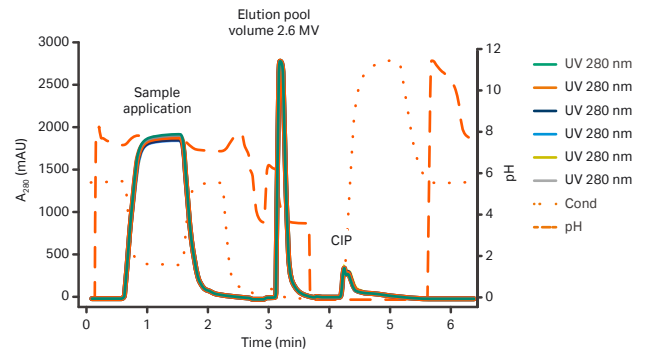


图 3. 4 mL Fibro Prisma 单元纯化含 3.8mg/mL mAb 的细胞培养液的蛋白 A 结合洗脱曲线: UV280 nm 曲线每 10 个循环叠加一次, 时间 6.3 分钟, 流速 8 MV (CIP 4 MV)。

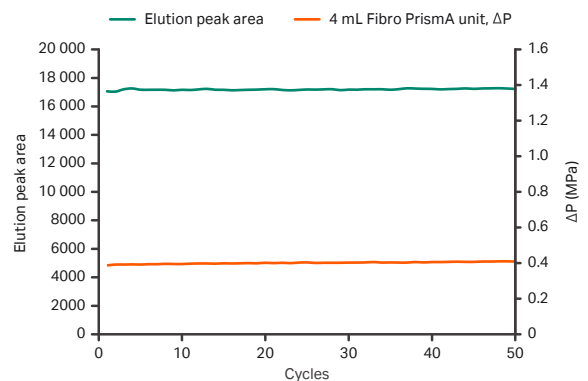


图 4. 各循环间最大柱压差 (ΔP) 和洗脱峰面积性能的趋势曲线。

实验室级 HiTrap™ Fibro Prisma 单元一步和两步高通量、自动化纯化 mAb 样品

当筛选多个克隆或优化一个过程时,关键是要有自动化、高效且交叉污染风险最小化的纯化解方案。用 Teledyne™ 自动进样器在 ÄKTA pure (图 5) 上对 10 种不同的 mAb 样品进行纯化。将 0.4ml HiTrap Fibro Prisma 单元与 1ml HiTrap MabSelect™ Prisma 柱进行比较。为了检查运行不同样品的实验间是否有残留,在蛋白 A 步骤后运行空白实验进行 SDS-PAGE 分析 (图 6)。未发现蛋白质条带,表明并无残留。使用 HiTrap Fibro Prisma 单元,捕获步骤时间从 60 分钟左右缩短到 10 分钟左右(包括约 5 分钟不同样品间的清洗和准备自动进样器),回收率和纯度与 HiTrap 层析填料柱相当。将 HiTrap Fibro Prisma 单元捕获的峰直接转移到 2×5ml 的 HiTrap 脱盐柱上,以此建立了 mAb 样品的自动进样两步串联纯化方法。该套设备包括一个多功能阀和第二个紫外监测器追踪第二步的样品。捕获和脱盐步骤之间的回收率较高,循环时间比 HiTrap MabSelect Prisma 缩短了 3 倍以上(表 1)。

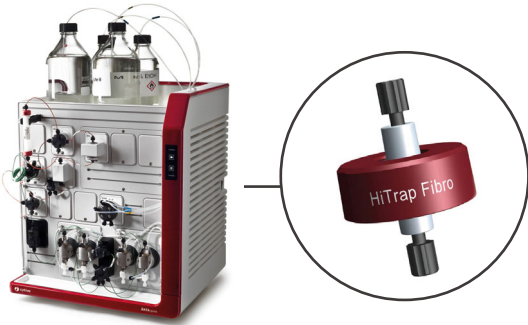


图 5. ÄKTA pure 和 HiTrap Fibro Prisma 单元产品图。

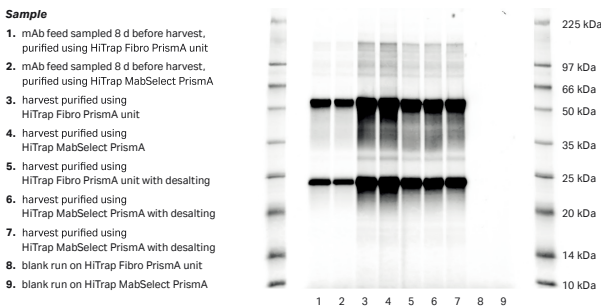


图 6. protein A 步骤后的 SDS-PAGE 分析。空白实验是样品 8 和 9。

表 1. 两步串联纯化的回收率和运行时间

纯化方式	回收率 – 紫外检测亲和步骤洗脱面积 (mL × mAU)	回收率 – 紫外检测脱盐步骤洗脱面积 (mL × mAU)	总运行时间, 包含自动进样器和 CIP (min)
HiTrap MabSelect Prisma column, 1 mL	1036	1027	84
HiTrap Fibro Prisma unit, 0.4 mL	1175	1109	22

Fibro Prisma 放大单元运行显示浓缩洗脱、循环间一致性、可放大性

一个独立的合作者评估了一个放大的 600 mL Fibro Prisma 原型单元。使用装配 ÄKTA ready High Flow Kit 的 ÄKTA ready 系统,使用澄清的 mAb 料液运行 17 个循环(图 7)。测得动态结合载量为 30.6 g/L,循环时间在最大柱压差(dCP)为 2.8 bar 时为 7.3 min,最大 dCP 为 4.2 bar 时为 4.8 min。通过 100 mAU/100 mAU 临界 UV 吸收值进行收集,测得回收率 >95%,洗脱液体积少于 2.45 MV。缓冲液消耗量为 0.65 L/g (约 18 MV/run),这与蛋白 A 填料层析柱相当。

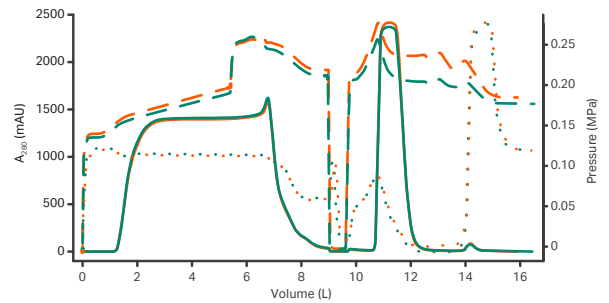


图 7. 叠加层析图: Fibro Prisma 原型 600 mL 单元的循环 1 和 13。

结论

在这里,我们描述一种有前景的技术,缩短产品上市时间,并实现低成本效益和一次性生产解决方案:

- 纤维吸附材料中的开孔结构使纯化循环时间只要几分钟。
- 在 ÄKTA 系统上装配自动进样器,以高通量模式提供全层析图,从而实现大量样品的自动化纯化。
- 一个独立的合作者成功评估了 Fibro Prisma 的放大原型,展示了浓缩洗脱、快速的循环时间和低缓冲液消耗量。

* Data derived from BDO's BioProcess Technology Consultants bioTRAK™ database.

cytiva.com

Cytiva 和 Drop 标识是 Global Life Sciences IP Holdco LLC 或其附属公司的注册商标。Cytiva 版权所有商品和服务的销售需遵守在 Cytiva 企业中运营之供应商公司的销售条款与条件。可应要求提供这些条款与条件的副本。如需了解最新信息,请联系您当地的 Cytiva 代表。如需查看当地办公室的联系信息,请访问 cytiva.com/contact。

CY18520-22Feb21-DF

