

# HiTrap™ Fibro Prisma 单元

# HiScreen™ Fibro Prisma 单元

## 亲和层析

越来越具有针对性的患者人群和小型生产规模推动了对单克隆抗体 (mAb) 生成效率和灵活高通量设施的需求。为了满足这些需求，我们开发了即用型 Fibro Prisma 单元 (图 1) 来捕获 mAbs 和含 Fc 片段的重组蛋白。Fibro Prisma 具有带开孔的蛋白 A 纤维素纤维基质，由对流的结构控制传质能力。这种结构可在非常短的保留时间内实现高 mAb 结合能力，使在数分钟内完成一次实验循环成为可能，而不是基于树脂的色谱法所需的数小时。Fibro Prisma 最多可使用 200 个循环，具体取决于实际应用。

通过在 ÄKTA™ 系统上连接 HiTrap™ 和 HiScreen™ Fibro Prisma 可以实现：

- 快速循环层析单元，快速纯化蛋白质。与传统树脂填料的数小时相比，循环时间少于 5 min。
- 实现高达 500 mAbs / 周的高通量纯化，非常适用于克隆筛选和条件优化。每个运行/纯化周期均具有实时 UV，pH 和电导率检测功能，可生成色谱图。
- 与基于树脂的色谱法相比，将通量提高多达 20 倍。这使工艺开发的时间缩短了数周。
- 在不到 24 小时内进行完整的生命周期研究。

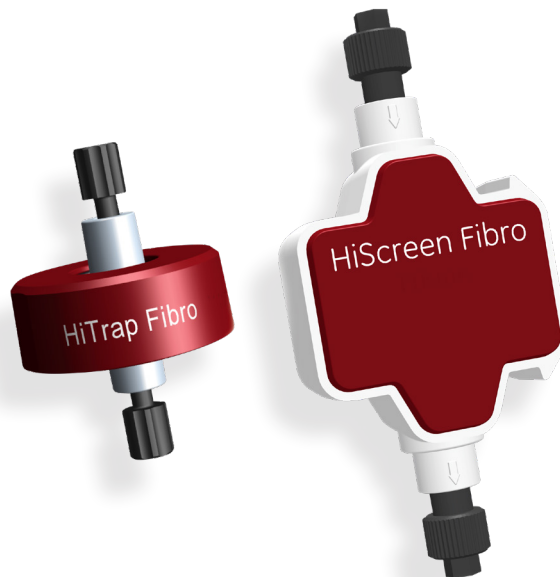


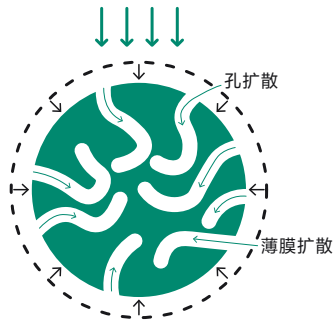
图 1. 即用型 HiTrap™ 和 HiScreen™ Fibro Prisma 单元

## 产品总览

Fibro 层析技术，采用静电纺丝纤维素为基质，具有较大的表面积，可实现高结合力。基质具有机械强度高的开放结构，从而可实现高流速。停留时间以秒为单位，而不是基于树脂的色谱法所需的分钟。

纤维素纤维的专有结构使该技术克服了填料的层析纯化的扩散和流动限制，以及膜式层析吸整材材质的载量问题(图2和图3)。Fibro PrismaA 具有与 MabSelect™ PrismaA 色谱树脂相同的经由基因工程改造的 PrismaA 蛋白 A 配基。这样可以确保兼具优秀的结合能力和出色的耐碱性，从而实现在位清洁 (CIP)。

### 对流流体



### 对流流体

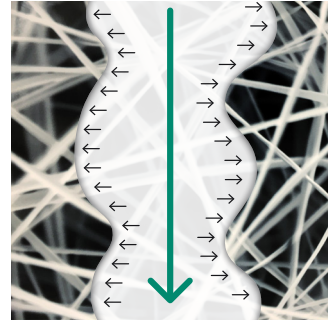
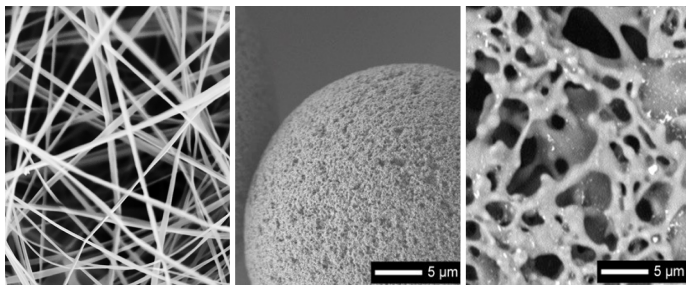


图 2. 树脂色谱法的流速(左)受扩散限制。Fibro 纤维中的开放结构(右)允许对流流速并将目标蛋白直接传质到固定在纤维表面上的配基。



Fibro 基质	层析填料基质	膜式吸附
对流传质	通过扩散进入颗粒而结合	对流传质
表面积 ~ 10 m <sup>2</sup> /g	表面积 ~ 40 m <sup>2</sup> /g	表面积 ~ 0.9 m <sup>2</sup> /g

图 3. 不同层析基质的表面积和传质机理。

## HiTrap™ 和 HiScreen™ Fibro PrismaA 单元

这些即用型单元专为早期研究和工艺开发而设计，适用于筛选和优化工艺条件。它们由医用级聚丙烯塑料制成，在入口和出口处有塞子。

您可以用蠕动泵或 ÄKTA™ 层析系统操作这两个单元。Hi-Trap™ Fibro 单元也可以使用注射器沿双向流向进行操作。为了使 HiScreen™ Fibro 单元的洗脱体积最小，请使用指定的入口和出口管路，沿指定的流向洗脱蛋白质。

HiTrap™ Fibro PrismaA 单元有一个基床，可在 ÄKTA™ 系统上以 40 基质体积 (MV)/ min 的极高流速运行。HiScreen™ Fibro PrismaA 单元有两个平行基床，每个平行基床的厚度是 HiTrap™ 单元基床厚度的两倍(图 4)。因此，HiScreen™ Fibro 的推荐流速比 HiTrap™ 单元基床的流速低 (8 MV / min)。

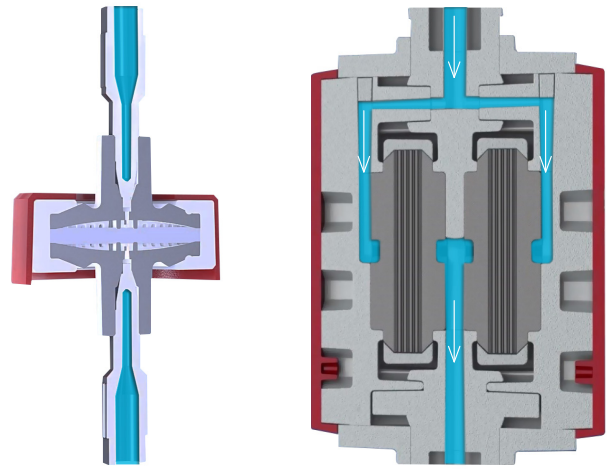


图 4. HiTrap™ (左) 和 HiScreen™ (右) Fibro PrismaA 单元的横截面图片。即将投入大规模生产的 Fibro PrismaA 单元的基床设计将与 HiScreen™ Fibro PrismaA 相似，但流路设计有所不同。

HiTrap™ 和 HiScreen™ Fibro PrismaA 单元的特性见表 1。

表 1. HiTrap™ 和 HiScreen™ Fibro PrismaA 单元的主要特征

	HiTrap™ Fibro PrismaA	HiScreen™ Fibro PrismaA
基质	衍生的静电纺丝纤维素纤维	
配基	PrismaA 配基 (来自大肠杆菌的碱稳定蛋白 A)	
配基偶联方式	单点偶联	
动态结合载量(DBC) <sup>1</sup>	~ 30 mg IgG/mL 基质	
典型的 DBC/单位 <sup>1</sup>	~ 12 mg IgG/HiTrap™ 单元	~ 112 mg IgG/HiScreen™ 单元
循环时间 <sup>2</sup>	~ 3 min	~ 5 min
流, 建议操作 <sup>3</sup>	≤ 16 mL/min (40 MV/min)	≤ 30 mL/min (8 MV/min)
基质体积	0.4 mL	3.75 mL
洗脱体积 <sup>4</sup>	≤ 7 MV	≤ 4 MV
最大操作压力	1 MPa (10 bar)	
化学稳定性	适用于 proteinA 纯化的水性溶液兼容	
操作 pH <sup>5</sup>	3 至 12	
在位清洗 pH <sup>6</sup>	2 至 14	
操作温度	4°C 至 35°C	
储存温度	2°C 至 8°C	
存储	20% v/v 乙醇的水溶液	

<sup>1</sup> 通过在 (pH 7.5) 的 Tris 缓冲液中进行分析以 10% 的穿透确定。

<sup>2</sup> 纯化周期包括以下步骤: Fibro 单元的平衡, 上样, 清洗, 洗脱, 除杂, CIP 和再平衡。

<sup>3</sup> 在室温下, 使用粘度与水相同的缓冲液。

<sup>4</sup> HiTrap™ Fibro 和 HiScreen™ Fibro 单元外壳设计尚未针对小洗脱量进行优化。但是即将到来的生成规模的生产级别 (GMP) Fibro 单位的洗脱体积预计 < 3 MV。洗脱量预计为 < 3 MV。

<sup>5</sup> 单元可以在不明显改变功能的情况下运行的 pH 范围。

<sup>6</sup> 单元可以在位进行清洗或消毒而功能没有明显变化的 pH 范围。

## Prisma 配基

Fibro 中的静电纺丝纤维素纤维与在大肠杆菌中生产的 Prisma 蛋白 A 配体偶联。在无动物源的情况下进行发酵和随后的纯化。配体经过专门设计，可增强碱和蛋白酶的稳定性。与 IgG 的 Fc 区结合的特异性与常规的蛋白 A 配体相似，一步即可提供出色的纯化效果。Prisma 配体也对 VH3 链具有亲和力，因此可用于纯化某些类型的抗体片段。

## 在很短的保留时间内具有高结合力

Fibro 基质的大孔结构和大表面积可实现非常快速的纯化，其保留时间仅为数秒，而不是基于树脂的色谱法所需的数分钟（图 5）。这意味着 mAb 的纯化速度比基于树脂的色谱法快 20 倍。完整的 mAb 纯化循环，包括平衡，上样，洗涤，洗脱，CIP 和再平衡可以在几分钟而不是几小时内完成，如图 6 所示。

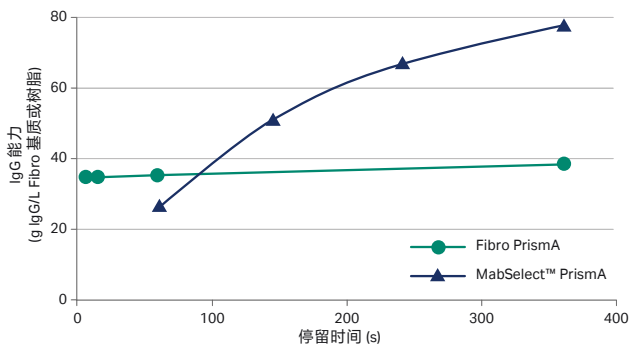
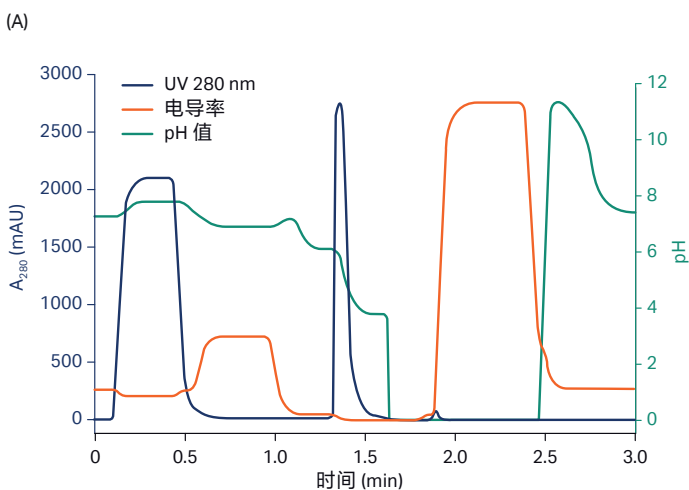


图 5. Fibro 基质的瞬间传质可在非常短的保留时间内实现高结合力。



Prisma 配体的大表面积和结合特性可实现约 30 g/L 的高动态结合能力，请参见图 7。传统的 mAb 以及抗体突变体同样已经过评估，具有很高的能力。如图 7 所示，不同分子的动态结合能力不同。

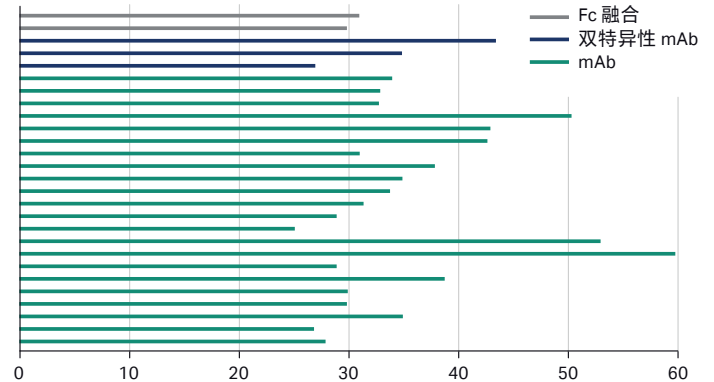


图 7. Fibro PrismaA 单元在 < 6 s 的保留时间内对多种 mAb 和抗体突变体的动态结合能力。

## 高耐碱性

在研究应用中，当在同一单元上纯化不同类型的抗体时，在保持回收率的同时防止交叉污染很重要。在数百个生命周期内重新使用设备时，清洁也很重要。当需要彻底清洁时，氢氧化钠 (NaOH) 是一种高效，低成本且易于处置的试剂。用 NaOH 严格清洗可降低宿主细胞蛋白污染，预装柱中微生物生长以及纯化之间残留的风险。但是，许多具有蛋白质配体的填料（例如蛋白 A）对碱性条件敏感。

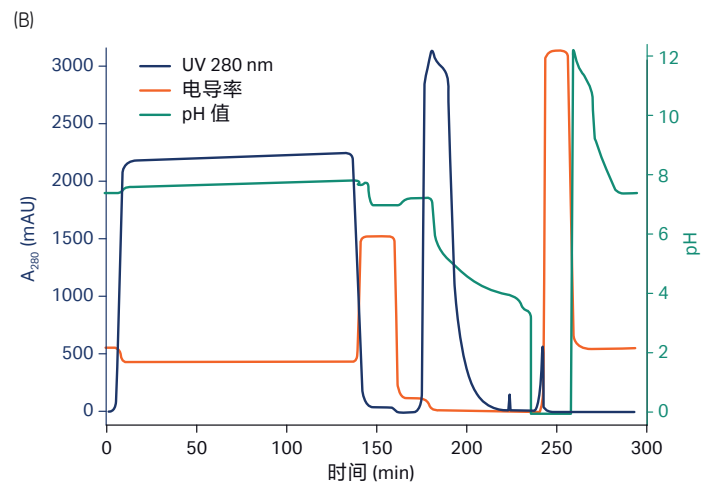


图 6. 使用 (A) HiTrap™ Fibro PrismaA 单元和 (B) 装有 MabSelect™ PrismaA 树脂的 HiTrap™ 1 mL 色谱柱进行大容量上样的典型纯化周期。

随着 Prisma 蛋白 A 配基的碱性增强，推荐的 CIP 为 0.5 至 1.0 M NaOH，每个循环 30 s 至 1 min。这意味着 HiTrap™ 和 HiScreen™ Fibro Prisma 单元可以放心地清洗以便重复使用。如果需要，Fibro Prisma 装置可以在数百个循环中用 2 M NaOH 清洗，同时仍保持高结合力 (图 8)。

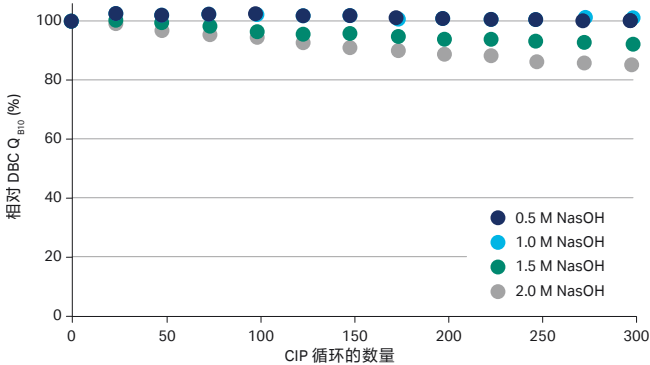


图 8. 两次运行之间使用 0.5 至 2.0 M NaOH 进行 CIP 1 min 后，HiTrap™ Fibro Prisma 的相对动态结合能力。

### 与层析填料具有相似的纯化性能

在 ÄKTA™ pure 25 系统上使用 HiTrap™ Fibro Prisma 单元 (0.4 mL) 和 HiTrap™ MabSelect™ Prisma 色谱柱 (1 mL) 分别纯化含 mAb 1 的 CHO (中国仓鼠卵巢) 细胞培养上清液样品。Fibro Prisma 单元的性能与层析柱相当，如相似的回收率 (图 9)，宿主细胞蛋白 (HCP) 去除 (图 10)，聚集体浓度 (图 11) 和蛋白 A 脱落 (图 12)。

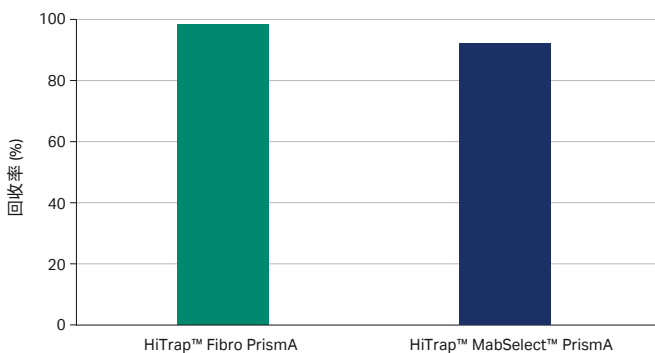


图 9. 在 HiTrap™ Fibro Prisma 和 HiTrap™ MabSelect™ Prisma 上纯化后 mAb 1 的回收率

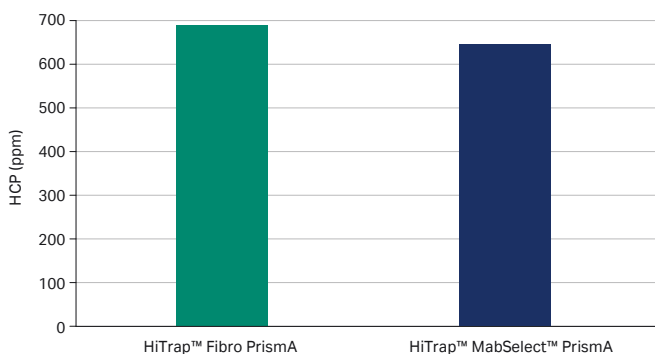


图 10. 纯化 mAb 1 后洗脱池中剩余的 HCP (ppm)。装载料中的 HCP 约为 170 000 ppm。

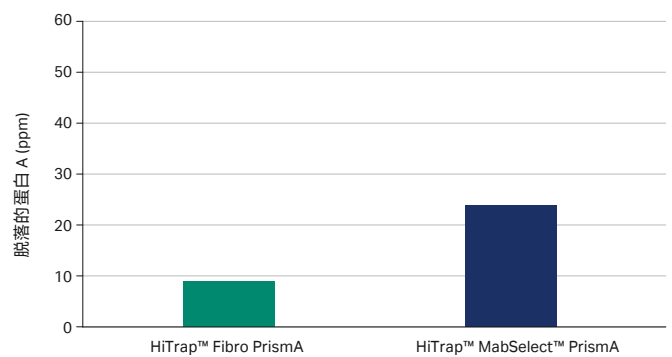


图 11. 纯化 mAb 1 后脱落的蛋白 A (ppm)。与 Fibro Prisma 单元相比，MabSelect™ Prisma 的观察到的水平略微升高是由于配体密度更高。

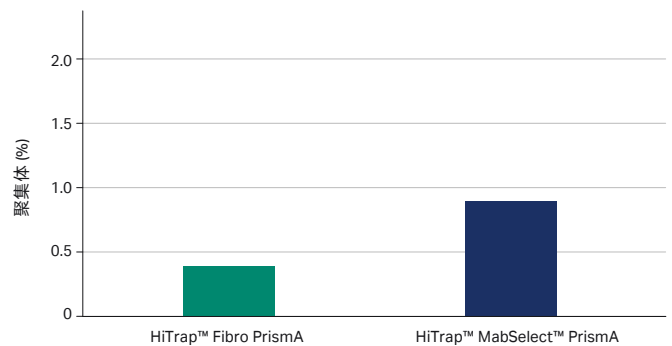


图 12. 纯化后 mAb 1 的聚集体含量 (%)。

## 使用 Fibro Prisma 时对细胞培养预处理的一般建议

Fibro Prisma 的循环周期寿命与加载到 Fibro Prisma 单元上 mAb 收获物的特性和体积直接相关。有多个例子表明，使用澄清良好的进料可以成功地进行超过 200 次循环。一般来说，mAb 收获物应通过离心澄清，然后进行深层过滤，最后进行无菌过滤 (0.2 μm)。也可以使用过滤系统进行澄清，包括用于去除细胞的粗深度过滤器，然后是用于精纯的细深度过滤器，最后是无菌过滤 (表 2)。深度过滤可以有效地去除与工艺有关的杂质，这些杂质可能导致 Fibro Prisma 基架被杂质污染。

澄清后的收获物应尽快处理。如果无法实现，应在澄清后冷冻收获物，解冻，并在临处理前进行 0.2 μm 过滤。

对于研究应用中使用少量样品制备的情况，建议将硅藻土 (DE) 加入到样品中，然后使用瓶口过滤器进行 0.2 μm 过滤。

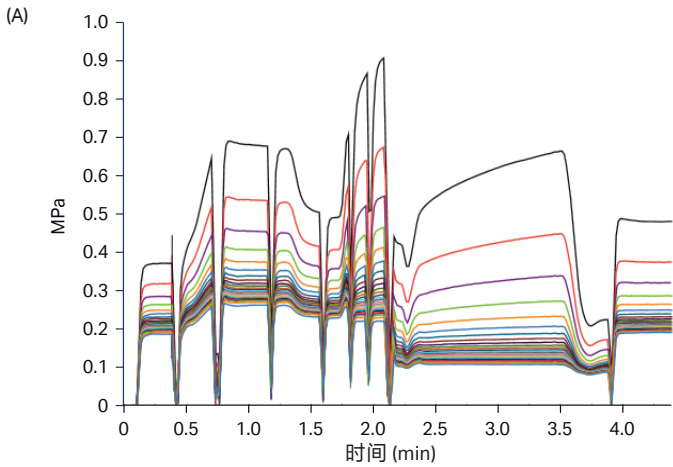
表 2. 建议在使用 Fibro Prisma 之前对细胞培养材料进行澄清处理

步骤	离心/过滤	滤器组
细胞去除	离心分离	粗深度过滤器
精纯	精深度过滤器	精深度过滤器
无菌过滤		0.22 μm 过滤器

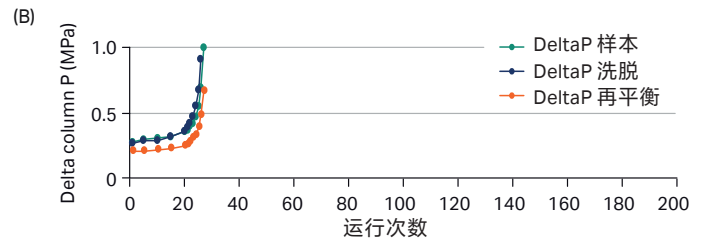
如果材料要求较高，除了一般的收获程序外，还可以使用带电荷的深度过滤器，或者替代精深度过滤器步骤。这将更有效清除带电粒子如 DNA/HCP 和/或染色质。下面是一个要求较高的 mAb 收获的例子，深度过滤大大延长了 Fibro

Prisma 单元的使用寿命。

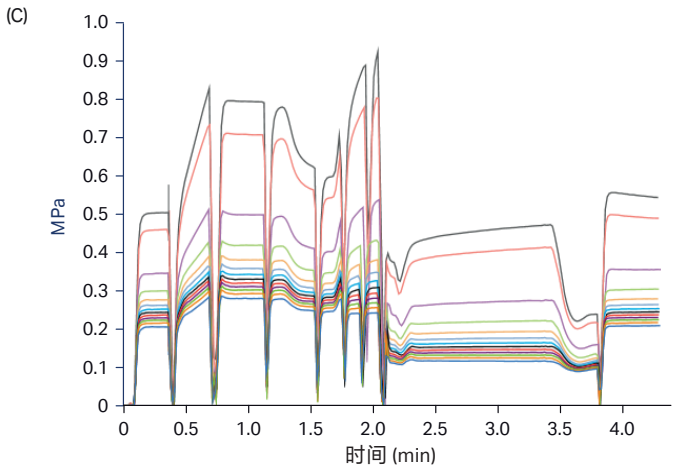
加入一个带电荷的深度过滤步骤增加了 Fibro Prisma 单元的寿命，并且在 200 个周期中只观察到一个小的压力增加。



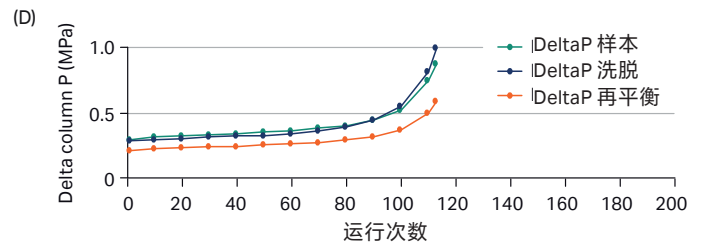
在所有 27 个周期中，未经处理的 mAb 进料的 delta 压力增加的叠加



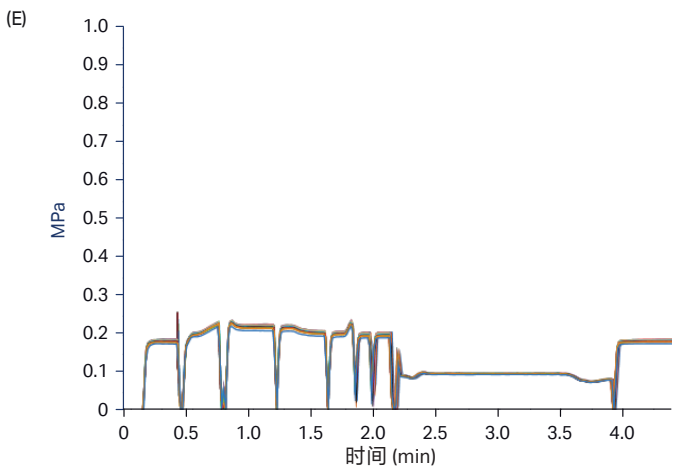
未经处理的 mAb 进料在各周期内的 Delta 压力增加曲线



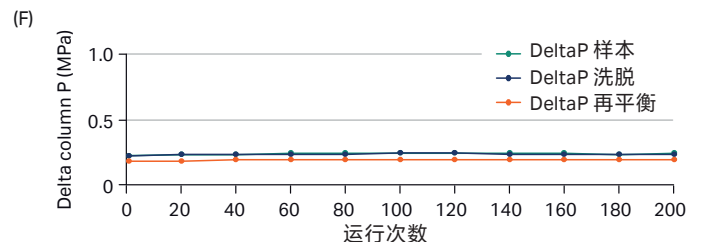
每 10 个循环的 delta 压力的叠加，以及 113 个循环中用 PDE2 深度过滤器预处理的 mAb 进料的最后一个循环



用 PDE2 深度过滤器预处理的 mAb 进料的 Delta 压力增加曲线



用带电荷的深度过滤器预处理的 mAb 进料，在 113 个循环中，每 10 个循环的 Delta 压力增加的叠加



用带电荷深度过滤器预处理的 mAb 进料的 Delta 压力

图 13. HiTrap™ Fibro Prisma 的使用寿命随着深度过滤的使用而增加，用于要求较高的 mAb 收获。

## HiScreen™ Fibro Prisma 快速循环性能

HiScreen™ Fibro Prisma 是早期工艺开发和生命周期研究的最佳选择。比如用带电荷的深度过滤器对滴度为 2.1g/L 的 mAb 收获物进行预处理。然后在 HiScreen™ Fibro Prisma 单元上使用 ÄKTA™ pure 150 系统进行 200 次循环纯化。负载约为 24 mg/mL，相当于 QB10% 值 (30 mg/mL) 的 80%。使用 0.5M NaOH 在位清洁 (CIP)，接触时间为 1 min/循环。流速为 30 mL/min，即 8 Mv/min，CIP 以一半的流速进行。每 50 个循环后收集洗脱液，分析 mAb 和宿主细胞蛋白 (HCP) 的浓度，以及 Prisma 蛋白 A 配体的泄漏情况，以便直观地看到循环周期内的纯化性能。紫外线曲线在整个周期中是一致的 (图 14 A)，观察到非常小的压力增加 (图 14 B)。

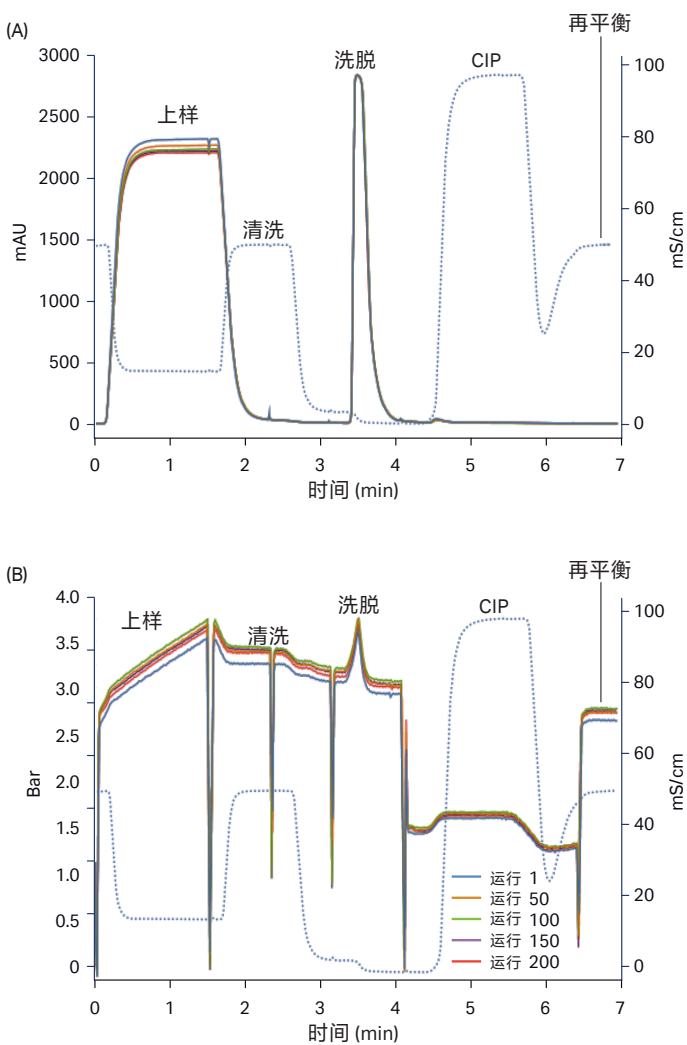


图 14. (A) HiScreen™ Fibro Prisma 生命周期研究中每 50 个周期 (1、50、100、150 和 200) 的 UV280nm 的叠加。(B) HiScreen™ Fibro Prisma 生命周期研究中每 50 个周期 (1、50、100、150 和 200) 的 dCP 叠加。

在 ÄKTA™ pure 25 系统上运行的 HiTrap™ Fibro Prisma 单元也对相同的 mAb 收获材料进行了纯化，使用的缓冲液条件与 HiScreen™ Fibro Prisma 单元相同。HiTrap™ Fibro Prisma 单元的流速为 16 mL/min (40 MV/min)。同样对于 HiTrap™ Fibro Prisma 来说，mAb 负载为 QB10% 的 80%，每 50 个循环收集一次洗脱液，以便对纯化性能进行趋势分析。

两种 Fibro Prisma 版本的产量都接近 90% (图 15)。HCP 的浓度在 200 到 300 ppm 之间，在 Fibro Prisma 各版本中是一致的 (图 16)。Prisma 配体的泄漏在第一个循环中约为 13 ppm，但在其他洗脱液中 < 5 ppm (图 17)。HiTrap™ Fibro Prisma 的洗脱量在 4.4 至 4.8 MV 之间，HiScreen™ Fibro Prisma 的洗脱量在 3.3 至 3.5 MV 之间 (图 18)。小规模 Fibro Prisma 单元的洗脱量比未来中试和工艺规模的 Fibro Prisma 单元洗脱量大，因为后者的流路已经过进一步优化。

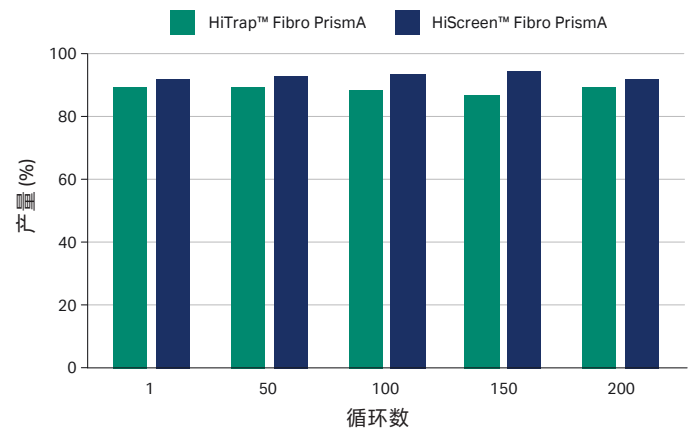


图 15. HiTrap™ Fibro Prisma 和 HiScreen™ Fibro Prisma 的生命周期生产量研究。

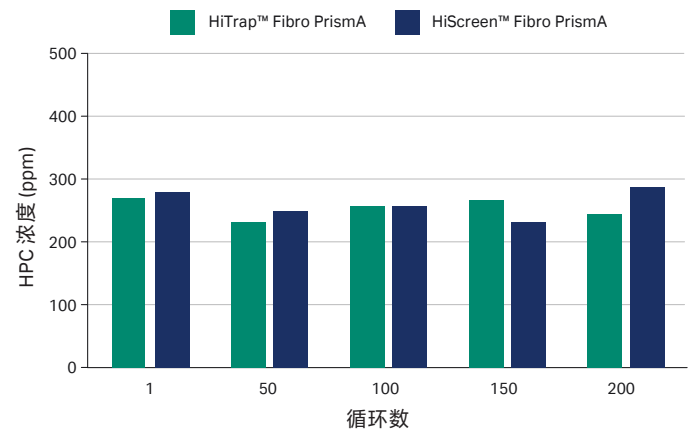


图 16. 在生命周期研究过程中，HiTrap™ Fibro Prisma 和 HiScreen™ Fibro Prisma HCP 清除率。

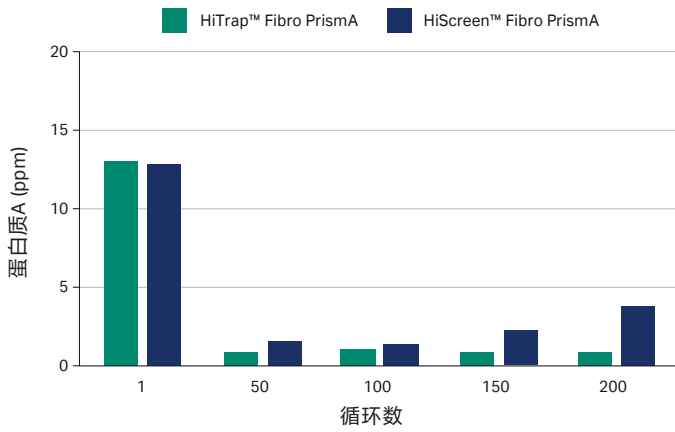


图 17. 在生命周期研究过程中，HiTrap™ Fibro PrismA 和 HiScreen™ Fibro PrismA 的配体泄漏情况。

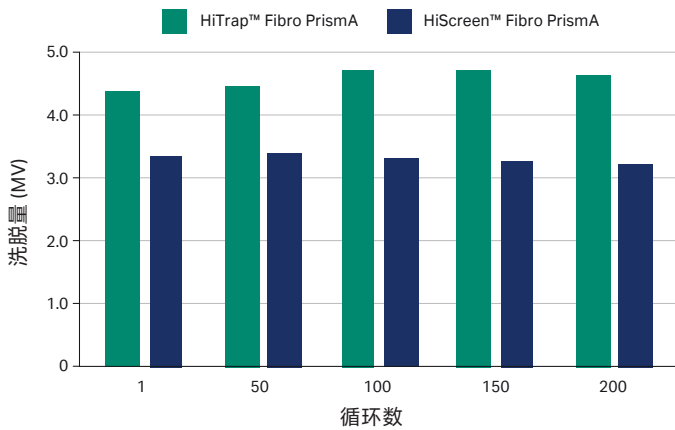


图 18. 在生命周期研究过程中，HiTrap™ Fibro PrismA 和 HiScreen™ Fibro PrismA 的洗脱量。

### Fibro PrismA: 一个可放大的蛋白 A 纤维层析平台

Fibro 技术平台的设计可扩展至生产规模，并与现有的 ÄKTA 净化系统兼容。这些单元的规模从每个纯化周期可处理约 12 mg/mAb 的研究规模 (HiTrap™ 单元) 到与良好生产规范 (GMP) 兼容的单元，这些单元可处理高达 2000 升的生物反应器收获物，或通过多次循环在不到 24 小时内处理超过 10 kg 的 mAb。

较短的循环时间使 mAbs 的高通量纯化成为可能，并为在研究和工艺开发期间节省大量时间。在更大规模的生物制造过程中，以快速循环的方式进行操作，可以充分利用蛋白质 A 在整个批次中的寿命，并且实现具有成本效益的一次性层析。

表 3. 基于每个系统上 Fibro 单元的建议流速给出的 Fibro 单元和 ÄKTA 系统的兼容性。蓝色 = 首选系统，灰色 = 兼容但不是最佳系统

系统	色谱系统		HiTrap™ Fibro PrismA (0.4 mL)	HiScreen™ Fibro PrismA (3.75 mL)
	最小流量 (mL/min)	最大流量 (mL/min)	推荐流量, mL/min	推荐流量, 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

在一个独立的评估中，一个工艺规模的 Fibro PrismA 原型单元 (0.6 升) 在配备了 High Flow kit 的 ÄKTA™ ready 层析系统上运行了 17 个循环。结果显示了良好的性能，DBC 为 30.6 g/L，循环时间为 7.3 min，最大柱压差 (dCP) 为 2.8 bar；循环时间为 4.8 min，最大柱压差 (dCP) 为 4.2 bar。在 > 95% 的回收率下，洗脱液体积低于 3 MV。缓冲液用量为 0.65 L/g (每次运行约 18 MV)。如图 19 所示，各个循环中都保持了较好的性能。

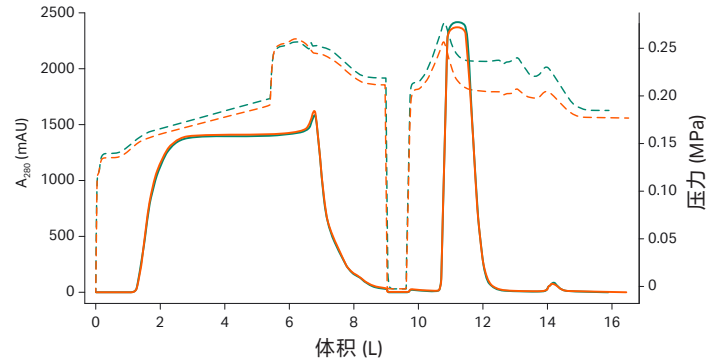


图 19. Fibro PrismA 大规模 (0.6L) 原型装置的循环 1 和 13 的色谱图叠加。

Fibro 单元与现有的 ÄKTA™ 色谱系统兼容。我们建议使用 HiTrap™ Fibro PrismA 和 ÄKTA™ pure/avant 25 和 150。对于 HiScreen™ Fibro PrismA 我们推荐 ÄKTA™ pure/avant 150。这些系统都有预定义的 UNICORN™ 色谱方法的仪器配置，可用于 Fibro。HiTrap™ 和 HiScreen™ Fibro 单元也可以在其他 ÄKTA™ 系统上运行，如表 2 所示。即将推出的大规模 GMP 兼容的 Fibro PrismA 单元将与 ÄKTA™ pilot 600 系统、ÄKTAprocess™ 系统和 ÄKTA™ ready 系统兼容。

### 储存

将 HiTrap™ 和 HiScreen™ Fibro PrismA 保存在 20% 的乙醇中，温度为 2 °C 至 8 °C。

使用前，用结合缓冲液进行平衡，并进行一次空白运行，包括 CIP。

# 订购信息

产品	包装规格	产品货号
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

## [cytiva.com.cn/fibro](http://cytiva.com.cn/fibro)

有关当地办事处的联系信息，请访问[cytiva.com.cn/contact](http://cytiva.com.cn/contact)。

Cytiva 和 Drop 标志是 Global Life Sciences IP Holdco LLC 或其附属公司的商标。

ÅKTA、ÅKTAprocess、HiScreen、HiTrap、MabSelect 和 UNICORN 是 Global Life Sciences Solutions USA LLC 或作为 Cytiva 开展业务的附属公司的商标。

所有商品和服务的销售均应遵守 Cytiva 业务范围内的供应公司的销售条款和条件。如有要求，可提供这些条款和条件的副本。有关最新信息，请联系您当地的 Cytiva 代表。

CY18584-30Nov21-DF

