

UniMab® 50HC Protein A 親和性クロマトグラフィー媒体

製品紹介

世界の医薬品市場において、抗体医薬品は連続して売上ランキングの上位を占め、市場競争もますます激化しています。抗体生産コストの削減は市場競争力を高めるための重要な要素です。抗体生産のボトルネックを解決するには、まず第一歩としてProtein A親和性クロマトグラフィーの改良が必要です。UniMab® 50HC Protein A 親和性クロマトグラフィーメディアは抗体製造企業のために開発されました、優れた機械的強度、低反発、優れた化学安定性、耐アルカリ性、および高流速下での高い動的結合容量の製品です。

「UniMab® 50HC は、独自の特許技術を使用して製造した高性能、耐アルカリ性の再結合型 Protein A親和性クロマトグラフィーメディアです。このメディアは、単分散多孔性ポリメタクリル酸メチル（PMMA）微粒子を基材とし、専有の表面修飾技術とエポキシカップリングにより Protein Aを結合させて製造され、単クローン抗体やFc（機能性クロマトグラフィー）フラグメントが含まれる組み換えタンパク質類のバイオ大分子の分離精製に適しています。UniMab® 50HC は、優れた機械的強度、低反発力、優れた化学安定性、耐アルカリ性を持ち、高流速下でも高い動的結合容量を維持できるため、実験室から工業生産に至る幅広いニーズに対応します。

新世代のUniMab® 50HC Protein A親和性クロマトグラフィーメディアは、抗体精製の親和性クロマトグラフィーメディアとして、高流速でも高い動的結合容量を維持できるため、単クローン抗体およびFcフラグメントを含有する組み換えタンパク質の大規模な精製に理想的な選択肢です。これにより、企業の生産コストを低減し、競合製品に対して次のような独自の優位性を持ちます。

- (a) 耐アルカリ性があり、0.1～0.5 M NaOHでの洗浄に耐え、寿命が長く、生産コストが低い
- (b) 単分散で均一な粒径を持つ高強度の親水性基材を使用し、より高い操作圧力と線性流速に対応可能。
- (c) 耐アルカリ性のProtein Aは独自の固定結合技術で使用し、基材の脱落が少なく、耐アルカリ性が強化されている。
- (d) 高流速下で50 mg/mLヒトIgGの高い動的結合容量を持ち、全行程でより高い結合容量と、より低い非特異的吸着を実現し、同種の製品に比べて優れた性能を示しています。
- (e) 最大流速が約800 cm/h、最大耐圧力が約0.8 MPaで、同種製品よりも高性能を発揮。
- (f) 異なる抗体の洗浄脱落の条件が均一で、抗体精製プロセスの理想的な選択肢です。
- (g) 洗脱条件がより温和になっています。
- (h) 簡単なカラム充填と優れたロット再現性。

項目	詳細
製品名	UniMab® 50 HC
分離原理	Protein A 親和捕獲
基質	ポリメタクリル酸メチル（PMMA）
粒径	50 μm
配基結合方式	エポキシ結合
動態結合容量	～ 50 mg・mL ⁻¹ （人IgG，4分間の滞留時間）
最大耐圧	0.8 MPa
CIP（定置洗浄）	0.1-0.5 M NaOH
推奨流速	100-800 cm/h
pH安定性	2～12
化学安定性	通常の緩衝液、1M酢酸、1M塩酸、100%エタノール、イソプロピルアルコール（IPA）などの有機溶剤に安定。長期間強酸や強塩基との接触は避けてください。
使用温度	2-40℃
保存	20%エタノールまたはメタノール中、2-8℃

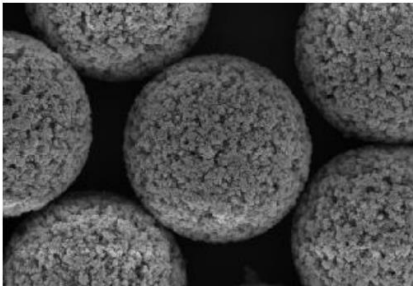


図 1. UniMab® 50 HC 親和層析介質の電子顕微鏡画像。

耐アルカリ性試験

25℃の条件下で、UniMab® 50HC の結合容量を測定し、充填材を0.5 M NaOH 溶液中に24時間浸漬させた後、再び UniMab® 50HC の結合容量を測定します。

表2. 実験条件表

項目	内容
設備	Avant (NM-BD-003)
カラム	NmTRAP 1mL
サンプル	モノクローナル抗体 2.83 mg/mL
平衡液	PBS
流速	0.2 mL/分

表3. 耐アルカリ性試験結果

浸漬前結合容量 (mg/mL)	浸漬後結合容量 (mg/mL)	結合容量の 低下率 (%)
53.43	43.06	19.41

結合容量データの検証

0.1M NaOH + 0.5M NaOH溶液を使用して定置洗浄を行い、各サイクルでCIPによるアルカリ接触時間を1時間とし、その後UniMab® 50HCの結合容量を測定しました（図2参照）。

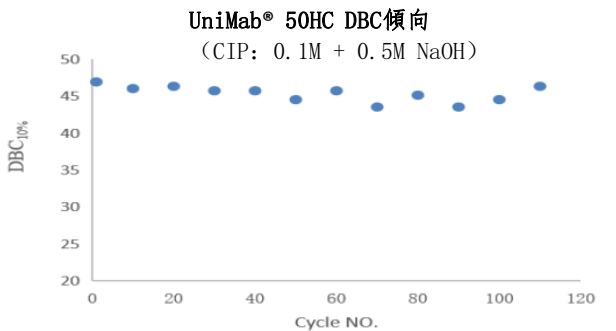


図2. モノクローナル抗体HCCFの結合容量データ

総合性能評価

以下は、納微科技 UniMab® 50HC 親和性クロマトグラフィー媒体を用いた純化されたモノクローナル抗体3の実験結果です。実験結果は、納微科技の UniMab® 50HC が卓越したモノクローナル抗体の親和性と捕捉能力を持つことを示しています。

表4. 実験条件表

項目	内容
設備	Avant (NM-BD-003)
カラム	NmTRAP 1mL
サンプル	モノクローナル抗体 3.056 mg/mL
流速	0.2 mL/min
平衡液	PBS
洗浄液	20mM 酢酸ナトリウム、pH 5.5
洗脱液	20mM 酢酸ナトリウム、pH 3.5
再生液	0.1M NaOH
滞留時間	5分

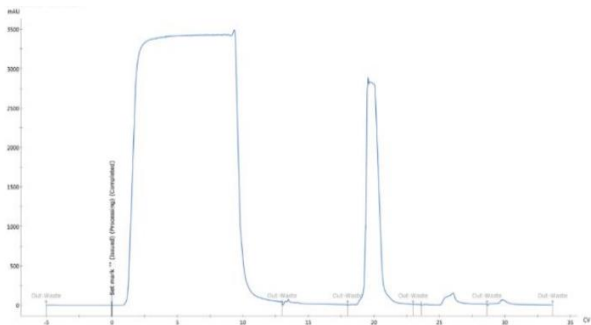


図3. UniMab® 50 HC が抗体3に対して示す親和性および捕捉能力の性能

表5. UniMab® 50HC 抗体純化の結果一覧表

項目	数値
DBC 10% 容量 (mg/mL)	50.23
回収率 (%)	95.56
純度 (%)	98.5
洗脱 (CVs)	1.41

操作案内

スラリー濃度測定

UniMab® 50HC 親和性クロマトグラフィーメディアは、20%エタノール溶液中に保存されており、約65% (v/v) のスラリー濃度 (Cs) で瓶詰めされています。スラリー濃度は、クロマトグラフィーメディアの固定沈降体積がメディア総体積に対する割合を示します。Csを正確に測定する必要がある場合は、メディア容器内のメディアを均一に混合し、その後、10mLのスラリーを量筒に移して一晩静置し、沈殿体積Vrを読み取ってスラリー濃度を計算します。

Cs (%)=100×(Vr/10)=10Vr ---式 1

最適なカラム充填効果を得るためには、0.5 M NaCl溶液で50〜70%のスラリーを調製することをお勧めします。

媒体の前処理

1, カラム体積 (Vc) の計算:

Vc = h × π r² ---式2

h: カラムの高さ; r: カラムの半径

2, 必要なスラリー量 (Vs) の計算:

通常、クロマトグラフィー媒体は圧縮されると体積が減少します。最適な充填密度を得るため、スラリー量を多めに用意することを推奨します。圧縮比 (CF) は通常 1.05-1.1 です。

Vs = 100 × (Vc × CF) / Cs ---式3

3, 充填用スラリーの用意:

原容器のスラリーを均一に攪拌し、必要な体積を計量し、適切な容器に移し、自然に沈降させます。上澄みを慎重に取り除き、カラムの体積の5倍の溶媒 (例: 0.5 M NaCl) を加えてスラリーを洗浄し、保存液を除去します。その後、スラリー濃度を目的の濃度 (50-70% v/v) に調整します。

クロマトグラフィーカラムの充填方法:

(NmXK 16/20 クロマトグラフィーカラムの例)

1. カラム充填溶液を使用して、カラム末端部の接続部を素早く流し、気泡を取り除きます。その後、カラムの出口を閉じ、底部に1〜2 cmの充填溶液を残します。
2. 充填溶液を使用して、カラムヘッドと配管内の気泡を除去します。
3. 充填用スラリーを吊るして、ガラス棒等を使用してカラム内壁に沿って連続的に注入し、充填液でカラムの壁を洗浄しながらカラムを充填させます。次にカラムヘッドを取り付けます。操作中に気泡が入らないように注意してください。
4. カラムの底部の出口を開き、クロマトグラフィーシステムポンプを起動させ、推奨される圧力範囲内で一定の流速または一定の圧力でカラムを加圧します。カラムベッドが安定した後、媒体と液の境界面にマークを付けます。
5. ポンプとカラム出口を閉じ、カラムヘッドの入口のパイプを緩め、マークした線の2-3 mm下までピストンを押し下げます。その後、カラムヘッド入口のパイプを締めます。

カラム効果の評価

充填したクロマトグラフィーカラムをまず2 CVの0.5 M NaCl溶液で平衡化し、その後、2.0 M NaCl溶液を使用し、100 cm/hの流速でカラム効率を評価します。また、脱イオン水でカラムを平衡し、アセトン溶液を用いてテストを行うことも可能です。具体的な試験パラメーターについては表3を参照してください。

表3. UniMab® 50HCクロマトグラフィーカラムの効率試験条件

サンプル	5% (v/v) のアセトン水溶液または2M NaCl
サンプル量	1〜5%カラム体積
流動相	脱イオン水または0.5 M NaCl
線速度	50〜200 cm/h
検出	5%アセトン上サンプル: UV 280 nm、2M NaCl上サンプル: 電気伝導率計測
合格基準	As: 0.8〜1.5; Plates (N/m): >2500

使用方法

- 1, 洗浄および平衡化: 使用前に、順次洗脱液（例: 100 mM グリシン、pH 3.0）および平衡液（例: 20 mM PB + 150 mM NaCl、pH 7.4）でカラムを洗浄および平衡化します。
- 2, サンプルのロード: サンプル量は最大で 媒体(DBC10%) の0.8倍を超えないこと。
- 3, 洗浄: 5CV 平衡液（例: 20 mM PB + 150 mM NaCl、pH 7.4）でカラムを洗浄します。
- 4, 洗脱: 5CVのクエン酸、酢酸、またはグリシン酸、pH 3-4でカラムを洗脱します。
- 5, 洗浄: 5CVの1M 酢酸でカラムを清洗します。
- 6, 再生 (Cleaning-in-place, CIP) : 3〜5CV0.1〜0.5MNaOHでカラムを再生洗浄します。必要に応じて時間を延長して浸漬します。
- 7, 再平衡化: 5CVの平衡液（例: 20 mM PB+150 mM NaCl、pH 7.4）でカラムを洗浄し、再平衡化します。
- 8, 保存: 使用終了後、まず純水でカラム内の緩衝塩を置換し、その後20%エタノールで保存します。注意: 使用過程中、サンプルおよび移動相は必ず0.45 μmのフィルターで濾過してください。

長期保存

長期保存メディアは20%エタノールまたは2%チオマロールで密閉保存し、保存温度は2〜8℃を推奨します。エタノールの揮発や微生物の成長を防ぐために、3ヶ月ごとに20%エタノールを交換することをお勧めします。

故障排除

もし、UniMab® 50HC親和性クロマトグラフィー製品の使用中に問題が発生した場合は、以下の表を参照して解決するか、または私たちにお問い合わせください。

現象	原因分析	対策提案
カラム 圧力上昇	流速が高すぎる	流速を下げる
	機器のオンライン フィルターが詰まっている	汚染物質を除去して洗浄する、またはフィルターを交換する。サンプルと緩衝液を使用前にフィルター処理する
	カラムベッドが圧縮 されている	カラムを再充填する
	カラムの使用期間が 長すぎる	新しいカラムに交換するか、カラム媒体を交換する
	ポンプと収集器の間 のバルブが開いてい ない	出口を開く
カラム上の 沈殿物	疎水性タンパク質、 脂肪タンパク質、 または脂質の蓄積	非イオン性界面活性剤で洗浄（例: 0.1% Tergitol 15-S-9 または Triton X-100 reduced/酸化還元剤）、0.5M NaOH、または1Mグアニジン塩酸塩；その後、少なくともカラム体積の5倍の毒性除去フィルター緩衝液（pH 7-8）で洗浄
	タンパク質の変性による沈殿	2倍のカラム体積の50 mM NaOH、または50 mM NaOHと1.0 M NaCl、または0.1 M H ₃ PO ₄ 、または6 M グアニジン塩酸塩と10 mM NaOHでカラムを洗浄し、少なくとも10分以上洗浄します。その後、カラム体積の5倍以上の消毒された緩衝液（pH 7-8）で洗浄します。

UniMab® 50HC親和性クロマトグラフィー媒体製品仕様書

製品型式	包装	商品番号
UniMab® 50HC	30 mL	17010-250100-2030
	50 mL	17010-250100-2050
	100 mL	17010-250100-2100
	300 mL	17010-250100-2300
	500 mL	17010-250100-2500
	1 L	17010-250100-1001
	5 L	17010-250100-1005
	10 L	17010-250100-1010
	50 L	17010-250100-1050
	100 L	17010-250100-1100

注：7.7 mm × 22 mm、16 mm × 25 mm、7.7 mm × 100 mm のカラムも提供可能です。その他のサイズや特別なニーズがある場合は、お問い合わせください。