

数据表

ProSep® Ultra Plus 亲和层析介质

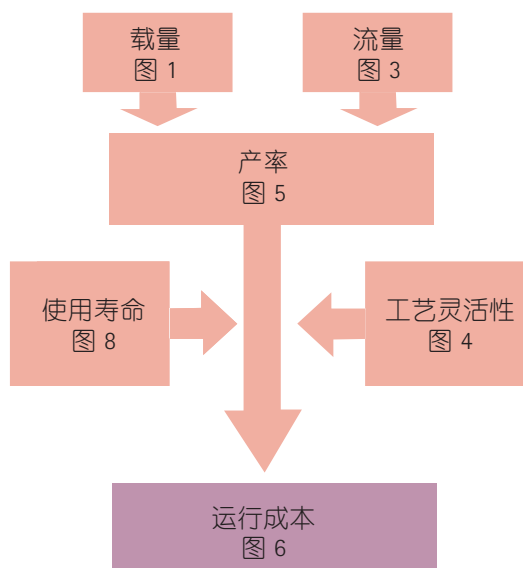
为适应当今低成本、大规模制备高浓度治疗性抗体的需求而设计的具有最高动态载量蛋白 A 亲和层析介质



ProSep Ultra Plus 是一种蛋白 A 亲和层析介质，是当前市场上动态结合载量及通量最高的一种亲和树脂。基于原有 Prosep 介质的成熟技术，ProSep Ultra Plus 具有较同类树脂产品更大的处理能力和产率。此外，其硬性基质有利于后续规模放大，也增强了操作的灵活性，为抗体生产商节约设备，缩小占地面积，及在短期内生产大量高浓度产品提供了极大的便利。

优点：

- 动态载量最高
- 成熟技术
- 通量高，实现最大产率
- 操作灵活
- 易于放大
- 运行成本低



成熟技术

ProSep Ultra Plus 系列层析介质是由 ProSep - vA 系列发展起来的，它们已被用于生产获批准的治疗性单克隆抗体。ProSep Ultra Plus 层析介质是为适应行业的发展需要，经过了深入透彻的介质优化而研发问世的。

更小的粒径、最优孔径的筛选以及配体固定化显著提高了介质的动态载量。开放交联的多孔结构保证了传质的快速进行，使得介质可在宽泛的流速、滞留时间范围内都能保持高动态载量（见图 1）。

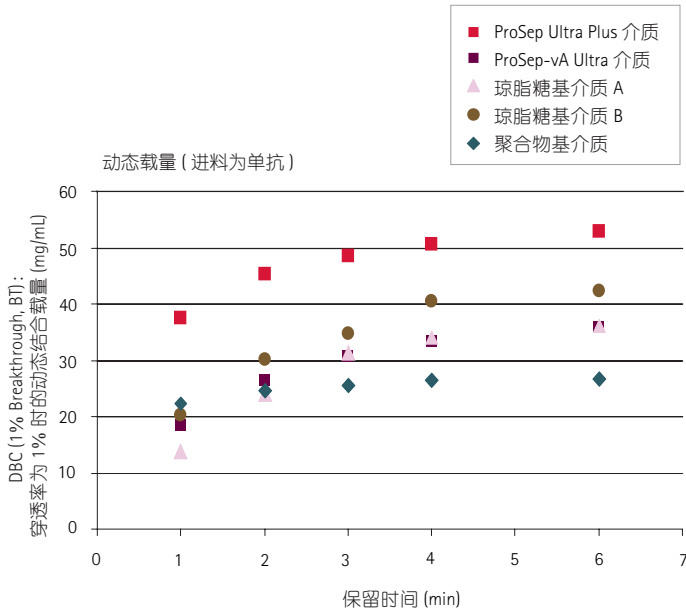


图 1：ProSep Ultra Plus 与竞争产品动态载量的比较

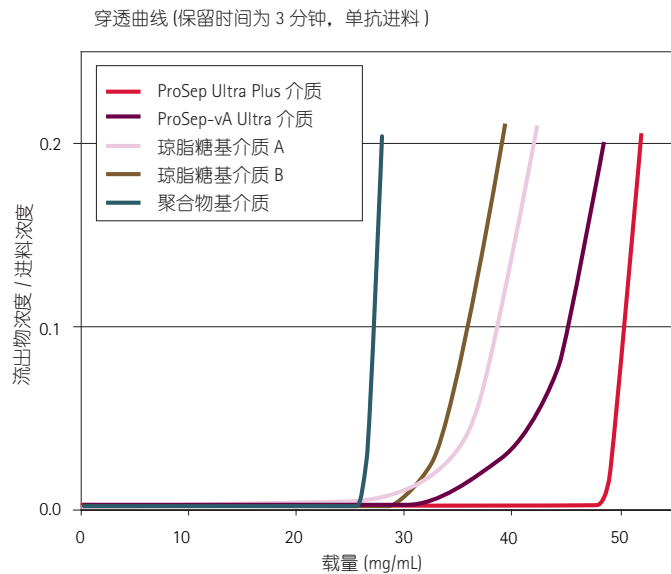


图 2：ProSep Ultra Plus 与竞争产品穿透曲线的比较

由于具有开放的孔隙结构及出色的传质特性(见图 2)，ProSep Ultra Plus 陡峭的穿透曲线允许在穿透前以更高的载样百分比进样，从而使介质载量最大化。

操作灵活性

多孔玻璃基质的完全不可压缩性，保证了反压与流量之间的线性关系。因而，填充完成之 ProSep Ultra Plus 柱子，在不同柱长和内径下对流速增加的反应是完全可预期的。另外，尽管在 ProSep Ultra Plus 中使用的是较小的介质粒径，整体刚性及颗粒粒径的匹配仍能在需要时达到超过 600 cm/h 的流速。这可以由图 3 所列出的一个直径 1.6m 柱的数据来体现。



填充 ProSep 介质的大容量层析柱(柱直径1.6m)

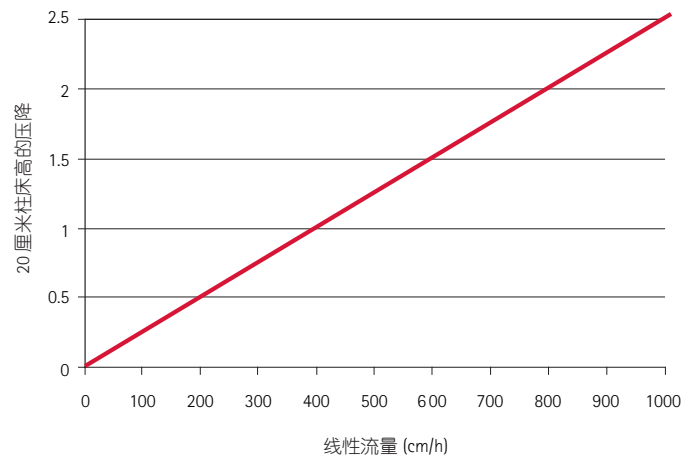


图 3：ProSep Ultra Plus 对流速增加的响应情况

工艺灵活性

ProSep 的一个流动特性优势就在于相较于可压缩树脂, ProSep Ultra Plus 层析介质能够装填更长的柱床高度, 例如 30 厘米。图 4 展示了其更宽泛的操作界面。这就使工艺设计更具灵活性, 不仅可以组装小直径的层析柱, 而且占地面积更小。

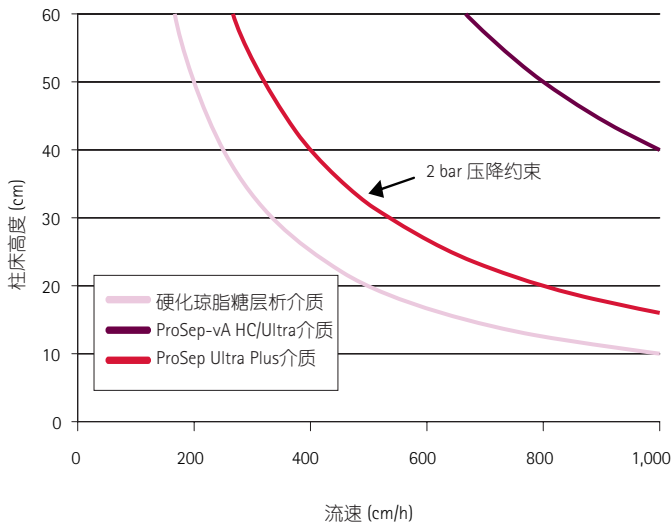


图 4 : 2 bar 压降约束下, ProSep Ultra Plus 层析介质与琼脂糖层析介质可以使用的柱床高度和流速范围情况比较。

最高产率

可用载量的最大化、业界领先的通量, 使得 ProSep Ultra Plus 成为目前树脂产品中产率最高的层析介质。这些优势在图 5 中得到了证明。其中本产品对柱床高度和负载流量的生产率 (以“处理之抗体克数 / 小时 / 单位介质体积”计) 与目前技术领先的竞争填料产品进行了比较。

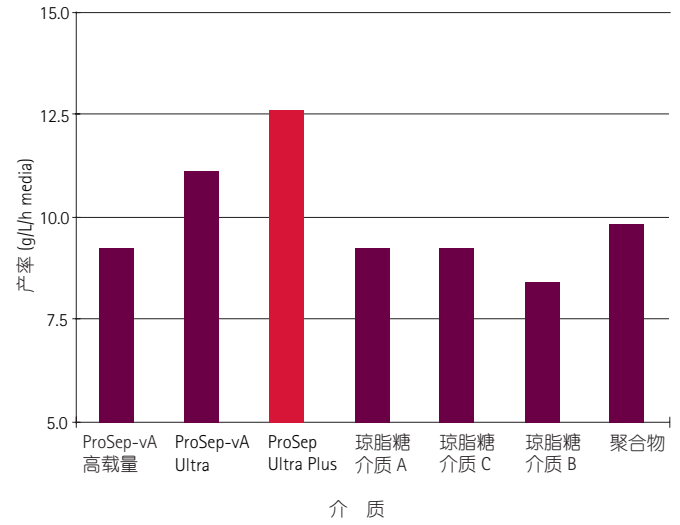
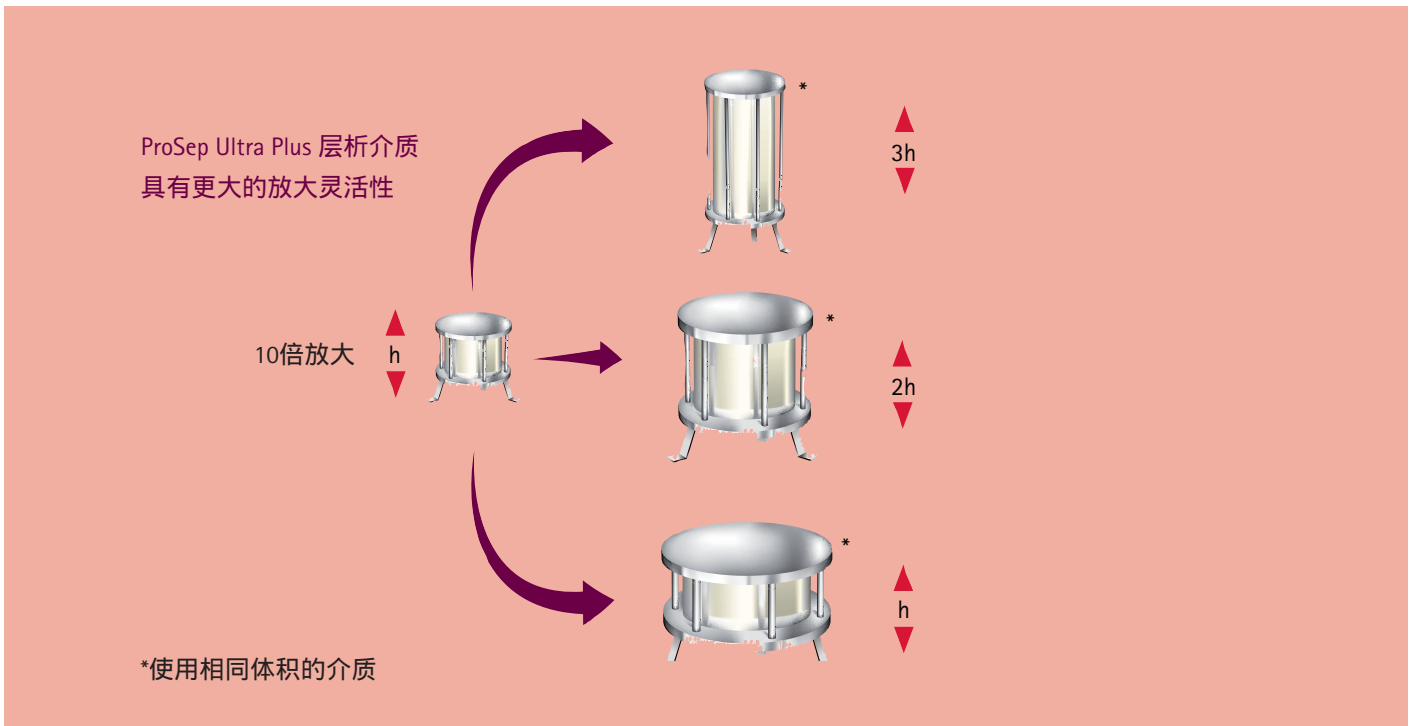


图 5 : ProSep Ultra Plus 介质与其他蛋白 A 介质产率的比较。认为一次纯化 10,000 升发酵液 (5.0 克 / 升单抗) 需要 24 小时, 包括启动和清洁 (柱床高度: 20 厘米)。介质寿命假定为 200 次循环。



运行成本

虽然动态载量是层析介质选择时的重要指标，但它只是影响整体运行成本的因素之一。处理量、产率和介质寿命也是影响介质运行成本的因素。缓冲液成本以及设备折旧费也被纳入于总运行成本中。

为了弄清这些因素对成本的影响，默克密理博研发了一个运行成本模型，以便对不同的操作方案、过程辅助和产品优化方案进行比较。例如，图 6 显示具有高载量的 ProSep Ultra Plus 填料介质较其他市场内领先的同类竞争产品相比运行成本更低。

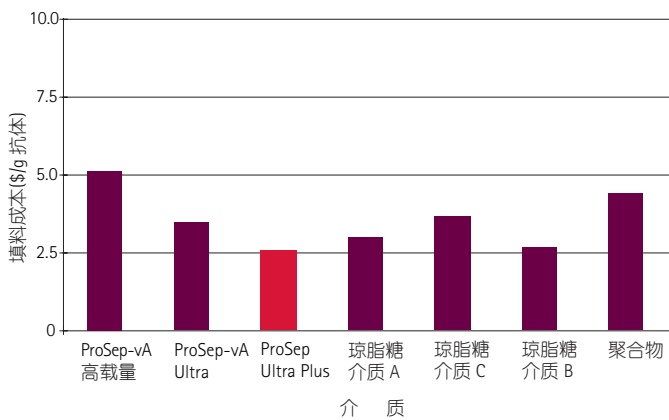


图 6：ProSep Ultra Plus 与其他蛋白 A 介质竞争产品的运行成本 (COP) 比较。认为一次纯化 10,000 升发酵液 (5.0 克 / 升 单抗) 需要 24 小时，包括启动和清洁 (柱床高度：20 厘米)。介质寿命假定为 200 次循环。

产品纯度

产品纯度也是介质选择的一个重要考虑因素。如果非特异性结合 (non-specific bound, NSB) 物质与抗体共洗脱，则经蛋白 A 介质纯化后的单克隆抗体的纯度就会降低。NSB 现象在所有的色谱树脂中都有不同程度地发生，其原因是可能是离子化、与树脂基质发生疏水相互作用或化学固定。而这种情况可以以调整上样后洗脱缓冲液的方式解决：通过破坏相互作用，将非特异性结合的杂质在不洗脱单抗之状况下先洗脱下来。

有很多的洗涤方法都已被证明有效，这其中包括选择一个中间洗涤缓冲液的 pH 值用以过渡进样和洗脱缓冲液，和 / 或加入盐，洗涤剂或氨基酸 (如：精氨酸) 等。

近期，盐和洗涤剂、盐和溶剂、盐和聚合物的组合，以及高浓度的 Tris 缓冲液的使用都被证明很有效。后面的这些方法都源于美国专利 6870034，默克密理博已经获得了专利使用许可，

因而可以给予 ProSep A 用户的副许可。这使用户在需要使用以上这些缓冲液组合时，可以免除使用费。

与业界竞争产品进行宿主细胞蛋白 (Host cell protein, HCP) 含量降低比较，尽管有些值会因进料不同而异。

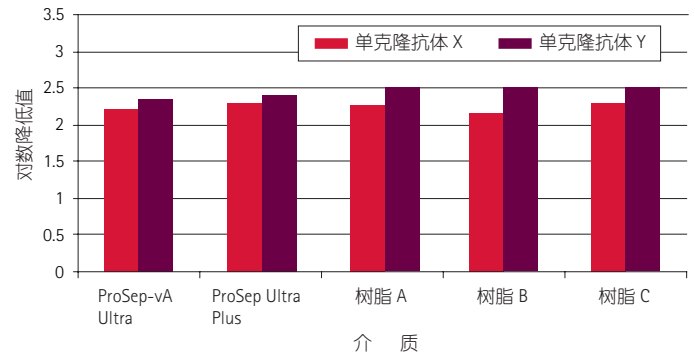


图 7：对单克隆抗体 x 和 y 的宿主细胞蛋白对数下降值

高度可重复性

层析介质的可重复性使用是设计低成本纯化工艺的一个重要指标。ProSep Ultra Plus 层析介质技术发展于高载量 ProSep-vA 和 ProSep-vA Ultra 层析介质 (现有记录表明，它们在生产条件下具有更长久的使用寿命)。^{1, 2}ProSep Ultra Plus 介质的性能在多次循环使用中不会降低。

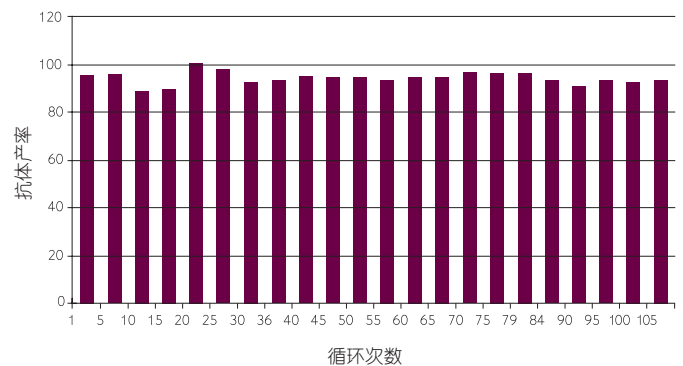


图 8：多次循环 ProSep Ultra Plus 层析介质的性能数据 (在研阶段)

清洗程序

以下推荐的处理和清洗程序对于维护介质性能是相当关键的。默克密理博推荐您尽量使用低 pH 值再生 (如：pH 值 1.5 的磷酸) 并定期清洗 (如：6 摩尔尿素溶液)。这些清洗维护方法都被证明对延长介质寿命有效。更为详细的建议请参阅使用说明书。

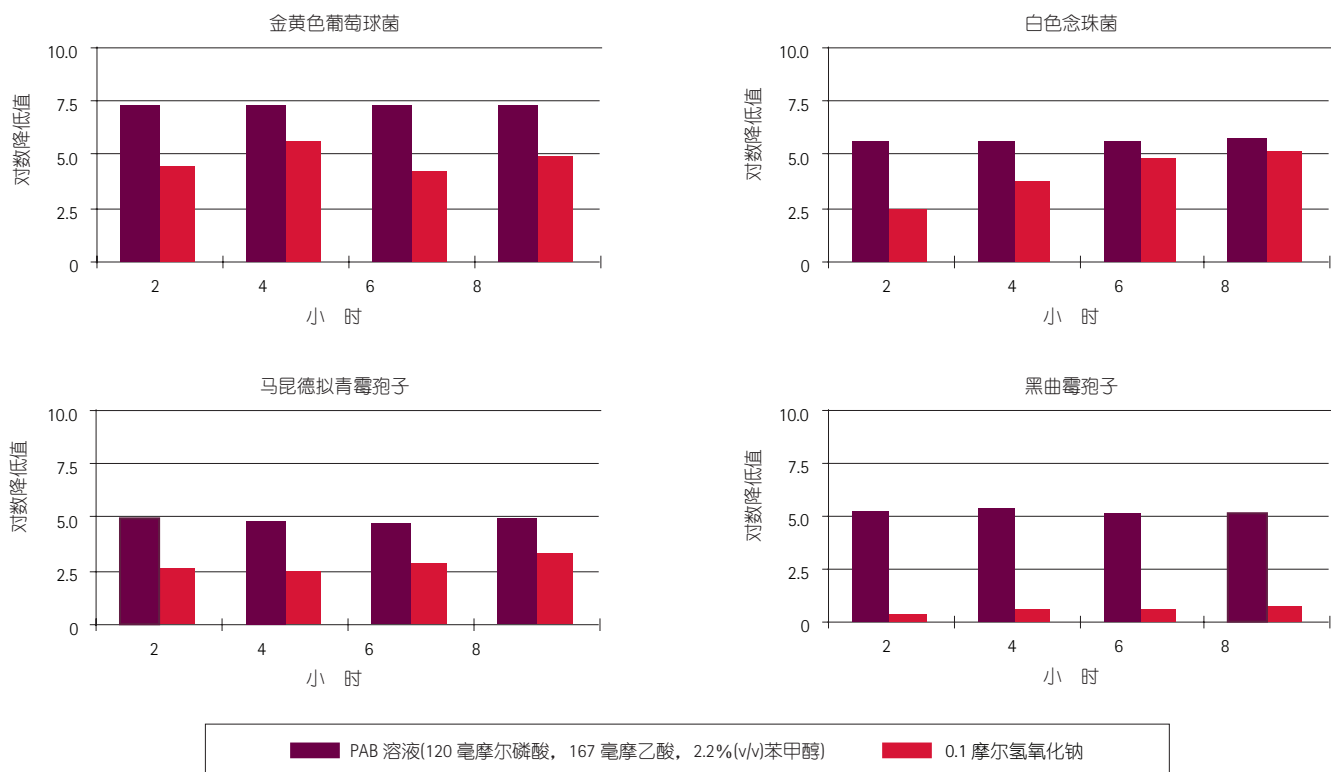


图 9：15°C 下，比较于 PAB 溶液和 0.1 摩尔 NaOH 溶液中的对植物孢子形成机制微生物杀死的能力（对数降低值）

消毒

在 0.1 摩尔醋酸钠、pH(5.2 ± 0.5)、2% 苯甲醇中，ProSep Ultra Plus 层析介质可以长时间消毒并贮存。尽管这种方案对微生物杀死效果很有效，它对孢子体的杀死效果可能需要 24 小时才能达到。为便于填料柱快速转入下一轮的生产，默克密理博研发了一种更迅速的消毒方案：PAB(120 毫摩尔磷酸，167 毫摩尔乙酸，2.2% (v/v) 苯甲醇)。对苯甲醇酸化显著提高了微生物杀死能力，对孢子体的杀死甚至可以控制在 3 小时以内。大大减少消毒时间的同时，也避免了在操作过程中引入新的化学物质。图 9 显示，PAB 较 0.1 摩尔 NaOH 杀菌能力更有效。

贮存及处理

ProSep Ultra Plus 层析介质可以贮存在 0.1 摩尔的醋酸缓冲液，pH 值 5.2 和 1% 苯甲醇为防腐剂。

使用时，推荐以 0.1 摩尔的醋酸缓冲液，pH 值 5.2 和 1%-2% 苯甲醇为 ProSep Ultra Plus 层析介质的防腐剂。另外，ProSep Ultra Plus 层析介质也可存储在磷酸盐缓冲液 (PBS) 或其他含有防腐剂的缓冲液中。ProSep Ultra Plus 高载量层析介质的适宜贮存温度为 2-8°C。

预实验及工艺开发的精简性

ProSep Ultra Plus 亲和介质有即开即用可抛弃型的预装柱，填料体积为 1.0、2.5 和 5.0 毫升一次性柱。这些小规模的预装柱是进行填料介质筛选、摸索运行条件、放大和优化研究的理想工具。这些易于使用、经济实惠的预装柱可以兼容任何色谱系统。



PROSEP ULTRA PLUS 介质的性能特点

基质	固定孔径玻璃
粒径	60 μm
配体	重组原蛋白 A
固定化配体	多点
静态结合载量	通常 >67 mg/mL (hIgG)
动态结合载量	通常 >50 mg/mL (保留时间为 3-6分钟, 穿透率为 10%)
推荐流动相速度	最大为 800 cm/h
推荐柱床高度	最大为 30cm
pH 值范围	1.5 - 8.5
推荐长期贮存条件	2 - 8°C, 加抑菌剂

PROSEP ULTRA PLUS 预装柱规格

组件	柱管: 聚丙烯(PP) 柱床支撑: 17μm聚丙烯/聚乙烯(PP/PE)
连接	1/16 英寸 10 - 32 细牙螺纹, 1/16 英寸(外径), 0.5 - 0.8 mm(内径)聚醚酮或聚四氟乙烯毛细管
柱形状/体积	8 mm(内径) x 20 mm 1 mL 8 mm(内径) x 50 mm 2.5 mL 8 mm(内径) x 100 mm 5 mL
最大反压	20 bar
化学稳定性	预装柱可耐受水、盐缓冲溶液、 8 摩尔尿素、6 摩尔盐酸胍盐、 有机溶剂或洗涤剂。
温度范围	4 - 30°C

制造标准及质量保证

默克密理博非常重视品质控制和行业质量标准。ProSep Ultra Plus 使用的是大肠杆菌来源的重组天然蛋白 A。在其组件中不含任何哺乳动物源成分。所有 ProSep 产品都经过了国际公认的 BS EN ISO® 9001 制造认证, 并接受独立的例行监察审计。

PROSEP ULTRA PLUS 预装柱

1、2.5 和 5 毫升的 ROSEP ULTRA PLUS 预装柱参数如下:

柱尺寸	柱床体积
8 mm (内径) x 20 mm (柱长)	1 mL
8 mm (内径) x 50 mm (柱长)	2.5 mL
8 mm (内径) x 100 mm (柱长)	5 mL

直径 8 毫米的层析柱能以相同的内径, 从 1 mL 放大到 5 mL 毫升。这些层析柱可以与任何 HPLC, FPLC™或 AKTA® 系统兼容。

订购信息

介质	数量/包装	产品编号
ProSep Ultra Plus 介质	2 mL	175118822
ProSep Ultra Plus 介质	10 mL	175118824
ProSep Ultra Plus 介质	100 mL	175118827
ProSep Ultra Plus 介质	1 L	175118830
ProSep Ultra Plus 介质	5 L	175118833
ProSep Ultra Plus 介质	10 L	175118835
ProSep Ultra Plus 介质	25 L	175118834

以 50%的浆液 (0.1 摩尔醋酸缓冲液, pH 值 5.2, 1% 苯甲醇) 方式提供。

PROSEP ULTRA PLUS 介质预装柱	产品编号
1 mL	175118521
2.5 mL	175118522
5 mL	175118523

参考文献:

- Fahrner, R.L., Knudsen, H.L., Basey, C.D., Galan, W., Feuerhelm, D., Vanderlaan, M., and Blank, G. (2001) *Industrial Purification of Pharmaceutical Antibodies: Development, Operation and Validation of Chromatography Processes*. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews* 18, 301- 327
- O'Leary, R.M., Feuerhelm, D., Peers, D., Xu, Y., Blank, G.S., (2001) *Determining the Useful Lifetime of Chromatography Resins BioPharm* Vol 14 No 9, 10-17



默克密理博

www.millipore.com

China.Bioprocess@merckgroup.com

客服热线: 400-889-1988

香港办事处

香港湾仔骆克道3号29楼
电话: (852) 23763878
传真: (852) 25130313

上海办事处

上海市浦东新区张江高科
晨晖路88号二号楼2楼
电话: (021) 38529000
传真: (021) 50803042
邮编: 201203

北京办事处

北京市朝阳区曙光西里甲5号
凤凰置地广场A座写字楼18层
电话: (010) 59898600
传真: (010) 57623560
邮编: 100035

广州办事处

广州市黄埔大道西638号
富力科讯大厦803A室
电话: (020) 37883048
传真: (020) 37883072
邮编: 510627

成都办事处

成都市锦江区东大街芷泉街
东方广场C座11楼7号
电话: (028) 85288550
传真: (028) 85288553
邮编: 610061