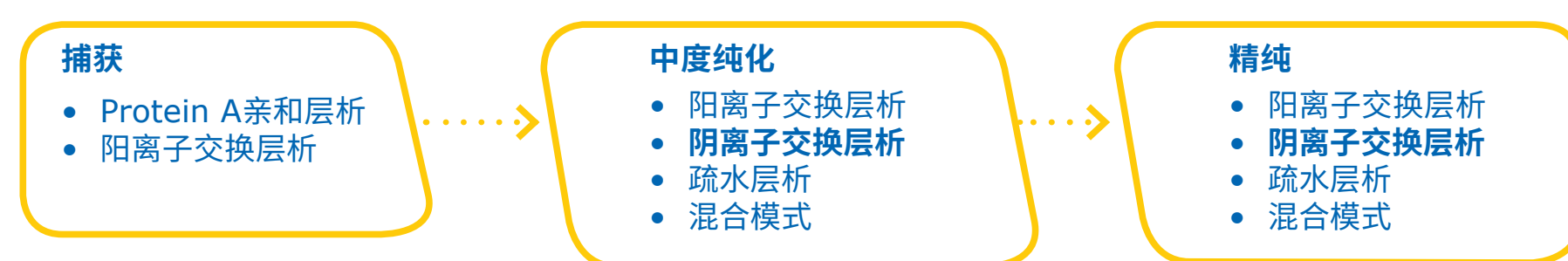


新一代阴离子膜层析Natrix® Q 的应用研究

强阴离子交换 (AEX) 层析已成为单克隆抗体 (抗体) 纯化精纯步骤的行业经典。可以以流穿的方式从工艺进料流中去除DNA, 病毒, 内毒素和宿主细胞蛋白 (HCP)。

经典抗体纯化平台中的层析工艺



由于载量的限制, 传统的基于填料的层析柱通常尺寸过大, 不适用于生产中对于灵活性的要求。传统的膜层析满足了快速生产的要求, 但是由于较低的结合载量而不能提供足够的工艺稳定性。这些因素对于生物工艺的大规模运行提出了挑战。

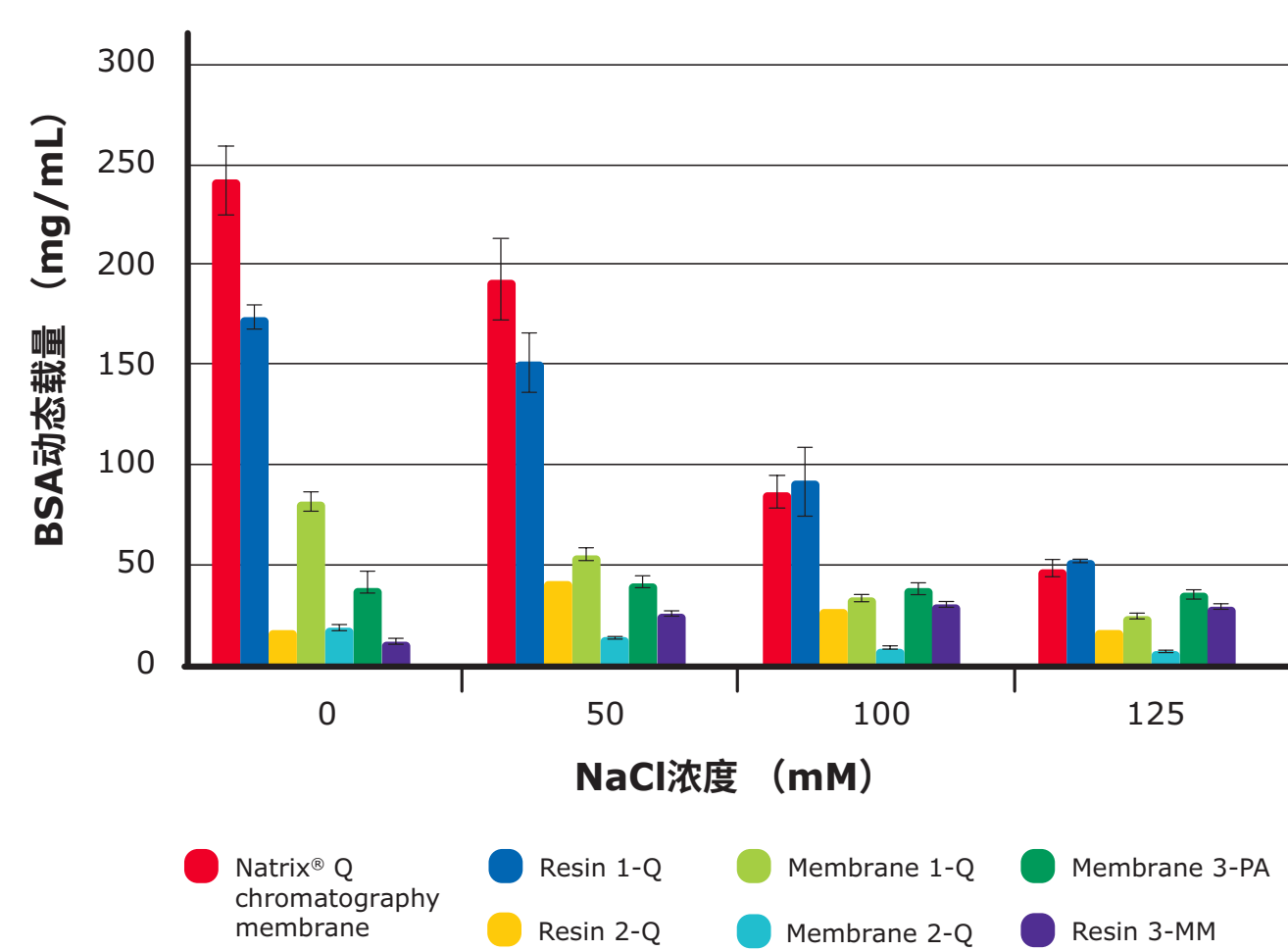
Natrix® Q新一代膜层析由于具有高结合能力和高流速从而克服了这些限制, 以一次性即插即用的形式提供了与同类相比最佳的性能。

Natrix® Q膜层析性能

1. 耐盐性

与市面上现有膜层析 (包括耐盐介质) 相比, Natrix® Q膜层析在不同的电导率上均具有出色的动态结合能力 (请参见图1)。典型的层析柱需要花费超过33个小时才能将表达量为10 g/L的进料样品上样至10 kg/L。相比之下, Natrix® Q膜层析仅需1.7小时即可以10 MV/min的流速加载相同量的进料。

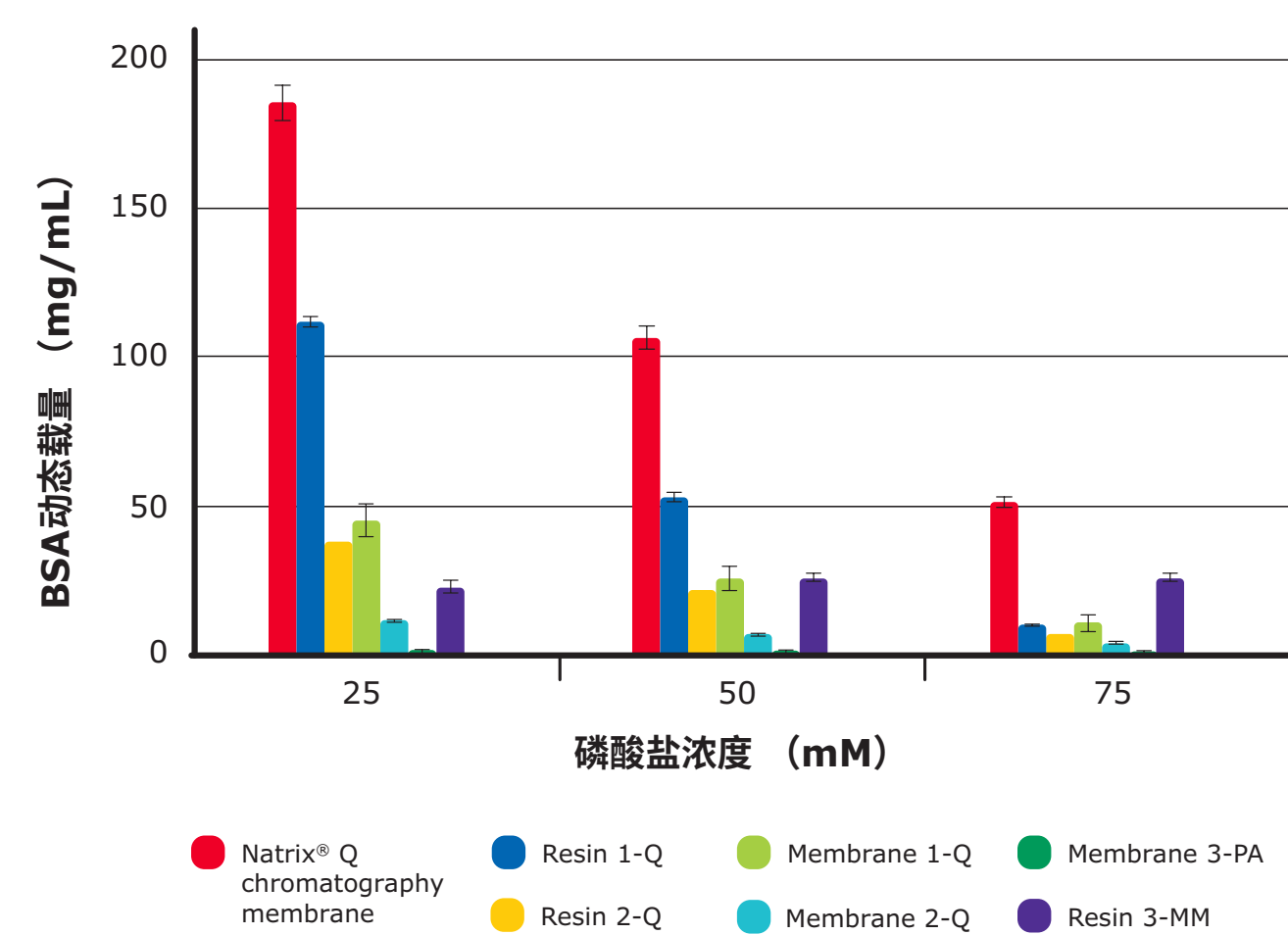
图1 NaCl浓度对于BSA的动态载量研究



2. 磷酸盐耐受性研究

如图2和表4所示, Natrix® Q层析膜的动态结合能力比市面上性能最接近的同类产品的动态结合能力还要高50%以上。在较高的磷酸盐浓度下, 这一优势最为明显。

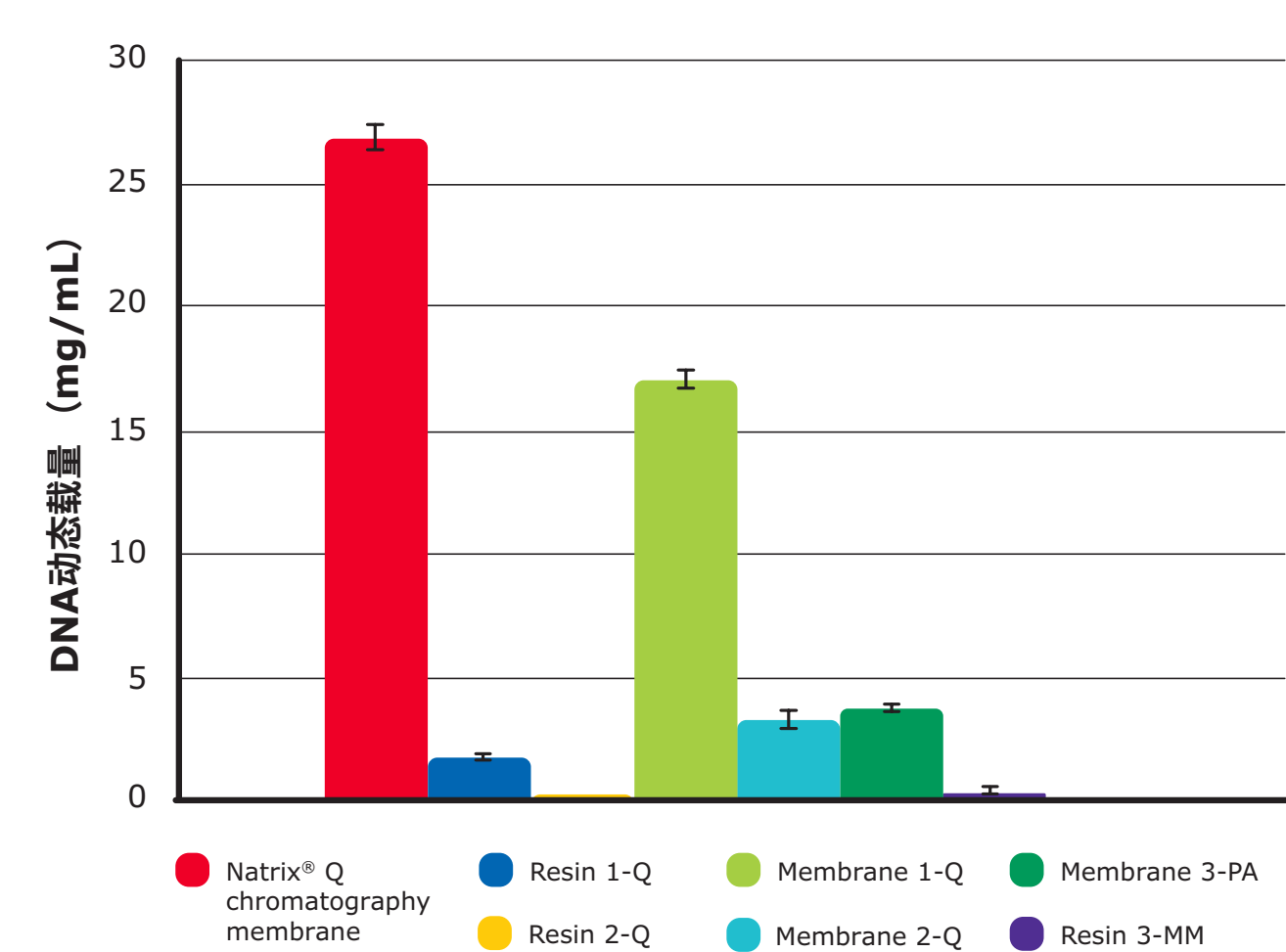
图2 磷酸盐浓度对于BSA的动态载量研究



3. DNA结合能力

Natrix® Q膜层析的平均DNA动态结合能力达到27 mg/mL, 比市面上性能最接近的同类产品 (膜1-Q)的17 mg/mL) 高59%。其他阴离子均未超过5 mg/mL (请参见表5和图3)。

图3 DNA结合载量研究



Natrix® Q膜层析在抗体中/精纯中的应用

1. 病毒和DNA清除

本研究的目的是使用一次性阴离子交换膜层析将抗体进料流中的DNA含量降低至<10 ppb, 同时提供对于异种鼠白血病病毒 (xMuLV, 逆转录病毒, 包膜病毒, ssRNA, 80-120 nm) 和小鼠微小病毒 (MVM, 细小病毒, 无包膜, ssDNA, 18-26 nm) 大于4 LRV的清除率。阴离子交换步骤的载量通常取决于病毒的穿透能力。为了了解清除病毒的设计需求, 我们在大范围的电导率 (5-15 mS/cm) 和载量 (最大10 kg 抗体/L膜) 范围内进行了研究。将部分纯化的抗体在pH 7.5的25 mM Tris + NaCl缓冲液中浓缩换液。最终样品的浓度为15 g/L, 具有1.3%的聚集体, 84 ppm的HCP和83 ppb的DNA。

病毒和DNA清除摘要

Natrix® Q膜层析在大范围电导率 (5 - 15 mS/cm) 和流速 (10 - 25 MV/min), 以及在10 kg/L的载量范围内 (见图4) 均具有出色的xMuLV清除率 (>4.8 LRV) Natrix® Q膜层析在10 kg载量和10 MV/min流速 (保留时间=6秒) 以及电导率高达10 mS/cm实现了>4 LRV MVM清除 (请参见图5)。

数据显示, 在非常高的抗体载量下, 在很大的电导率范围内以及保留时间约为几秒的条件下, Natrix® Q对于两种病毒都具有出色的清除率。高载量加上出色的流动性和优异的耐盐性, 可在不牺牲工艺稳定性或设计灵活性的情况下提供极大的工艺经济性。

此外, 使用相同的进料, Natrix® Q膜层析在10 kg/L载量下对于DNA的清除率>2.9LRV (通过qPCR分析测定, 从612 ppb到<0.7 ppb)。

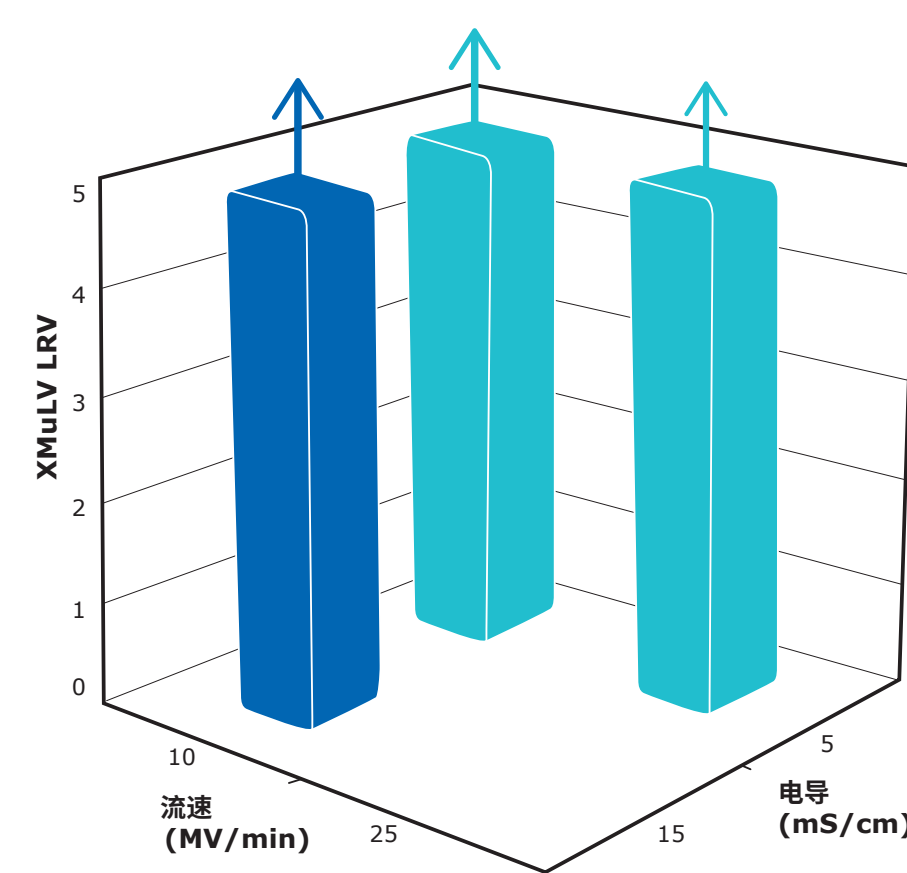


图4 10 Kg/L载量下的xMuLV去除

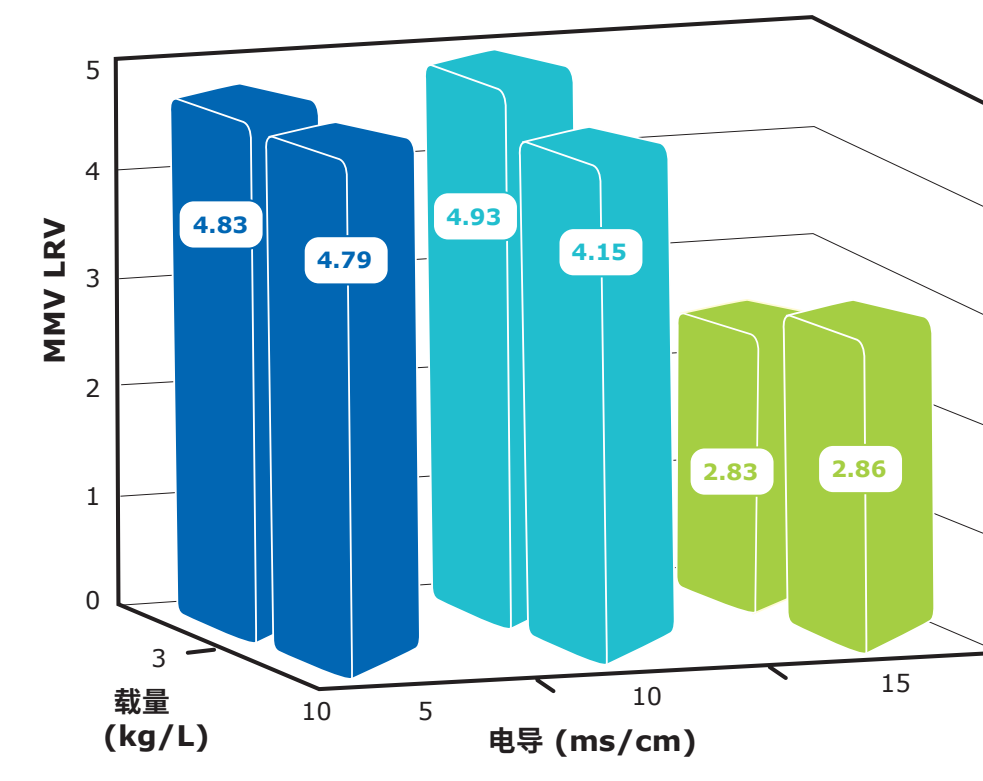


图5 10 MV/min流速下的MVM清除

2. HCP清除和放大性

这项研究的目的是评估Natrix® Q膜层析在高载量 (高达10 kg/L) 下的HCP去除以及对中试和可放大性。

将含有120 ppm HCP的样品进料 (在20 mM磷酸盐+100 mM NaCl中, pH 7的8 g/L蛋白A纯化的抗体) 以10 MV/min (保留时间=6秒) 加载到10 kg/L的膜上。图6说明了Natrix® Q膜层析实现了出色的HCP清除率。

我们还评估了使用Pilot (膜体积=15 mL) 和Process 150 (膜体积=115 mL) 装置去除HCP的情况。尽管我们对实验室规模的设备进行了高达10 kg/L的测试 (参见图6), 但由于蛋白质A纯化抗体有限的供应量, 我们对Pilot and Process 150设备仅对高达3 kg/L的载量进行了测试。如图7所示, 从实验室到工艺规模, HCP的清除率始终保持一致。

图6 10 Kg/L载量下的HCP去除

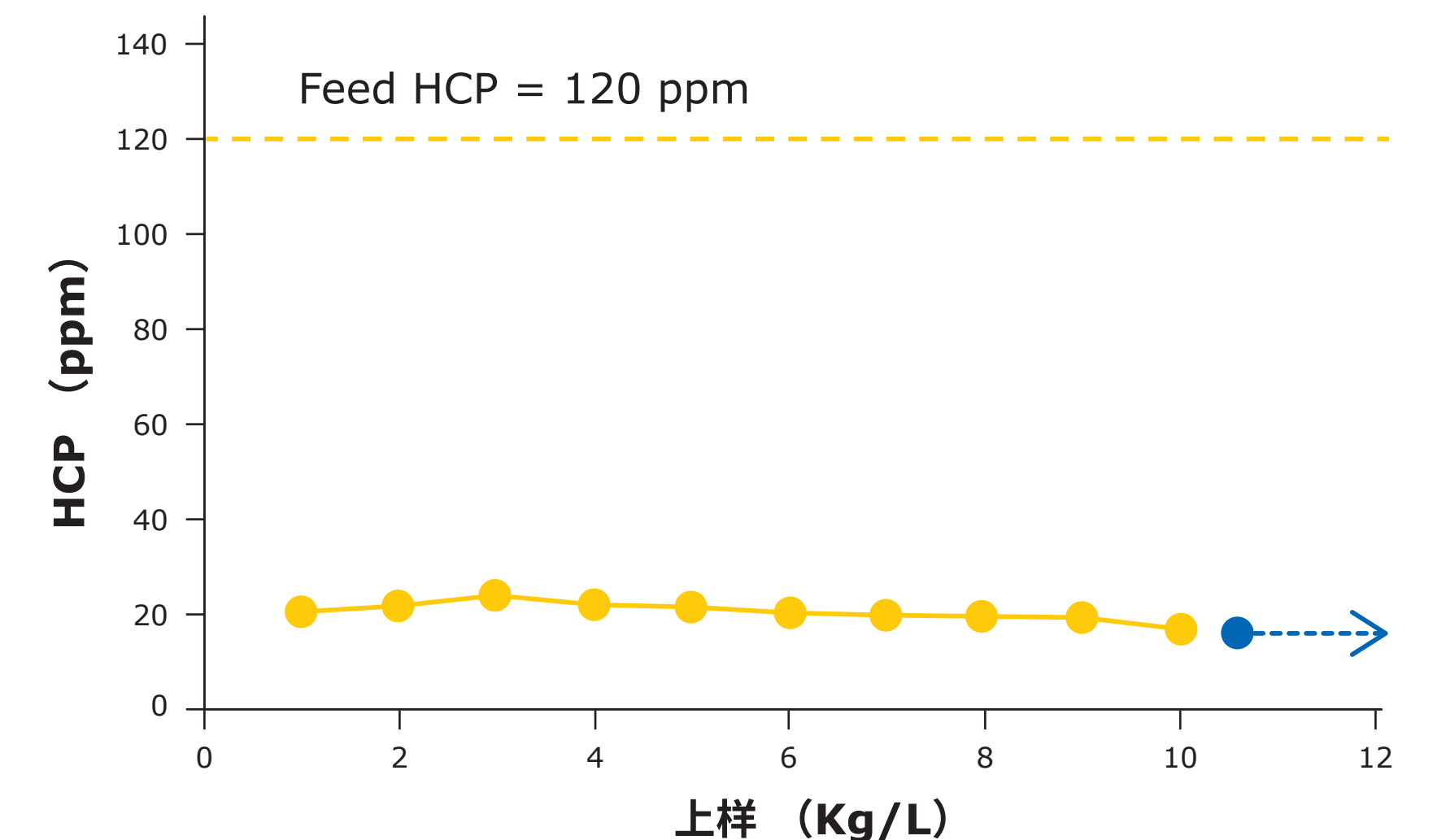
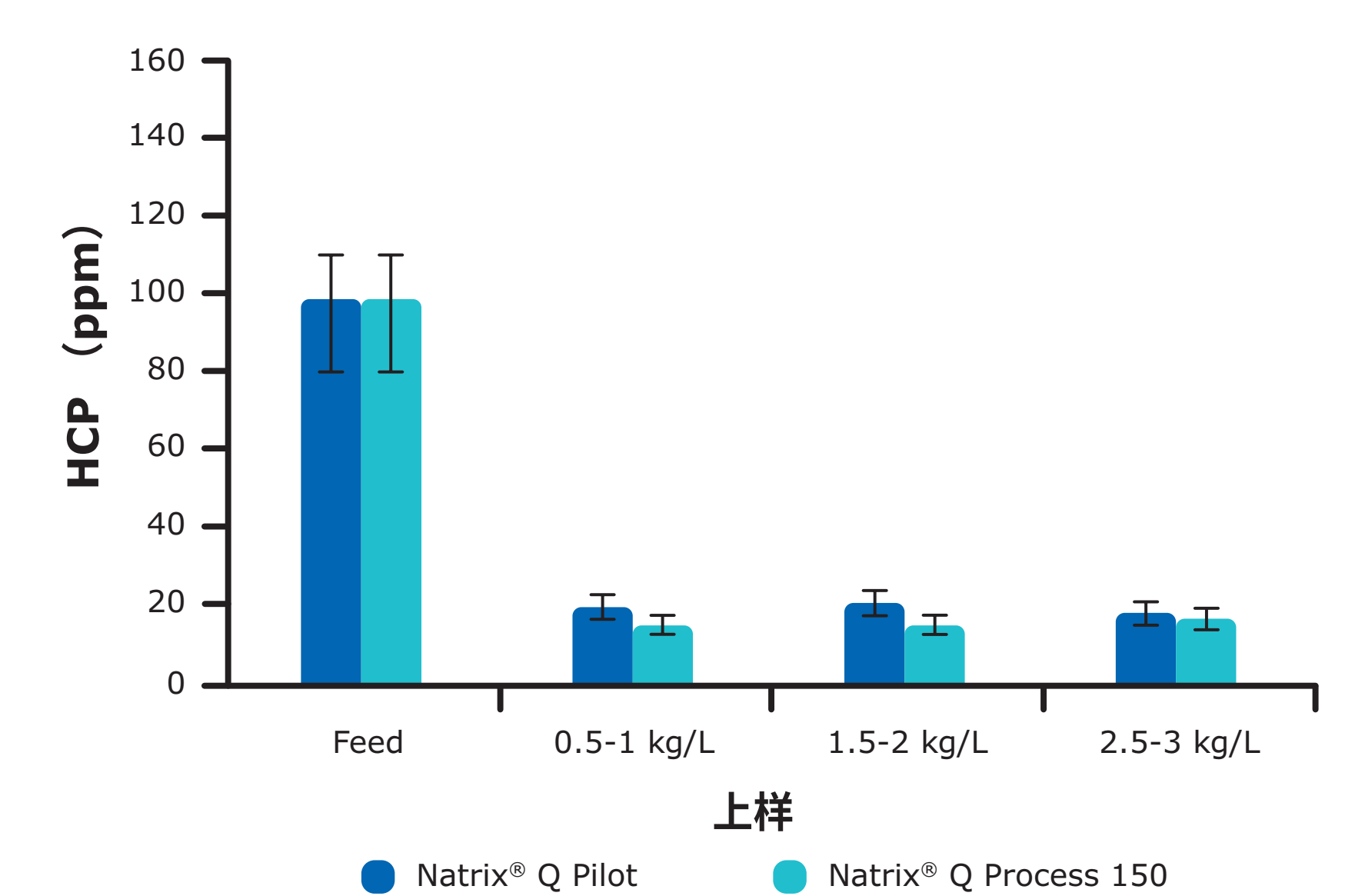


图7 不同规格的HCP去除



结论

Natrix® Q膜层析具有更高的经济性和更大的工艺设计灵活性如之前的数据和讨论所述, Natrix® Q膜层析作为一种新型色谱工具, 可提供增强的过程灵活性和耐用性 (请参见表6), 并且该一次性使用技术具有降低成本和降低风险的优势。

1. 提高耐盐性和更广泛的缓冲液相容性
即使在高盐或磷酸盐浓度下也具有出色的结合能力
2. 高载量, 不影响工艺稳定性
出色的病毒 (xMuLV和MVM) 和DNA清除能力, 可在广阔的设计空间中载量高达10 kg/L出色的HCP清除率, 即使在10 kg/L的载量下HCP去除没有发生变化
3. 放大容易
从实验室规模到生产过程均具有出色且一致的HCP清除
4. 真正的一次性使用, 即插即用的格式
没有色谱柱的填充, 鉴定, 清洁, 存储和相关验证的过程, 大大缩短工艺时间, 无交叉污染, 降低工艺风险

表6 性能对比: Natrix® Q膜层析 vs. 现有层析技术

项目	Natrix® Q膜层析	填料	传统膜层析	耐盐膜层析
高通量	+	-	+	+
高结合载量	+	+	-	-
工艺灵活性*	+	+	-	-
硬件占地	+	-	+	+
一次性即插即用	+	-	+	+
耐盐	+	+	-	+
工艺设计灵活性**	+	+	-	-

*此处的工艺灵活性是指工艺区间可以在一定范围内适应操作参数的变化, 如pH, 电导, 缓冲盐类型和浓度, 上样的杂质量

**工艺设计灵活性是指在一定空间内允许各操作单元顺序的变化