

前処理済みフィード液の清澄化のソリューション

Clarisolve® デプスフィルター Clarisolve® mPAA ポリマー pDADMAC ポリマー

近年、細胞培養の進歩により高い細胞密度で高い発現量のモノクローナル抗体細胞培養液が得られるようになり、従来法ではダウンストリーム側の清澄化や精製操作に大きな負荷がかかるようになってきました。こうした問題を解決するため、清澄ろ過工程をより効率化する様々な種類の前処理が採用されています。

多価陽イオン修飾ポリ（アリルアミン）[mPAA] およびポリ（ジアリルジメチル塩化アンモニウム）[pDADMAC] は非常に効率のよいポリマー凝集剤で、当社の Clarisolve® デプスフィルターと組み合わせて前処理に使用できます。Clarisolve® デプスフィルターは密度勾配を持ったろ材構造の一次清澄化フィルターであり、前処理済みフィード液の粒子径分布に特化した設計がなされています。

現在利用可能なデプスフィルターと比較してろ過容量を上昇させ、濁度を低下させることにより、わずかな設置面積で前処理済みフィード液の清澄ろ過ステップを実施できます。

Clarisolve® mPAA と pDADMAC ポリマー、そして Clarisolve® デプスフィルター処理の併用は、高密度細胞培養における細胞捕集の効果的なソリューションを提供するもので、現行の清澄化プラットフォームに容易に組み入れることができます。



前処理プラットフォームの利点

- 高密度の前処理済みフィード液の清澄処理が効率化
- 必要な洗浄回数が減り、前処理済みフィード液の処理に必要な場所の面積が大幅に削減できる
- 遠心分離が不要となり、シングルユースの清澄化トレインとすることができる
- 自己完結型の着脱式モジュールにより、実験室レベルからプロセススケールまで、容量の異なる需要に対応

前処理の方法

高密度のフィード液を効率よく清澄化する方法

前処理はフィード液を酸による沈殿処理あるいは Clarisolve® mPAA ポリマー、pDADMAC などのカチオンポリマーや PEI、キトサンを添加して行います。これらの処理により小さな浮遊粒子が大きな凝集塊となり、遠心分離の困難な小粒子が減り、ダウンストリームのフィルターが目詰まりしにくくなります（図 1）。凝集させることにより DNA や HCP など可溶性の不純物を減らすことにもなるので、ダウンストリームの工程の負荷も軽減できます。

ポリマー製品情報

Clarisolve® mPAA はリン酸の添加による刺激で自発的に凝集する画期的なポリマーです。この精製の工程は、低レベルのモノマーや反応前駆体などの水溶性の高い産物や残留溶媒を確実に回収できるように設計されています。

pDADMAC は水溶性のポリマーで、廃液処理の凝集剤として広く使われています。このポリマーの市販の溶液にはモノマーや塩化ナトリウムがかなり高濃度で含まれており、バイオバーデンのリスクが高くなるおそれがあります。弊社は低分子量ポリマーの含量を低減し、モノマー濃度を 0.1% 未満とし、同時に塩化ナトリウムを除去する精製方法を開発しております。

いずれのポリマーに対しても 0.2 μm のろ過ステップを実施し、微生物を 10 CFU/mL 未満に低減しています。これら 2 種のポリマーの分子量分布を図 2 に示します。

凝集にポリマーを使用する

Clarisolve® mPAA ポリマーは 0.1% および 0.5% の濃度で最良の凝集効果が得られます。しかし、このポリマーの刺激-応答特性から、用量をさらに多くしても凝集効果があります。凝集はリン酸を 10 ~ 100 mM 加えることにより開始します。

pDADMAC ポリマーは 0.01% および 0.05% の濃度で最良の凝集効果が得られます。

工程内のポリマー除去と安全性

試験の結果、ダウンストリーム側の精製ステップを経た pDADMAC 残留濃度は 1 ppm 未満であることがわかっています。毒性試験によれば、この濃度での細胞毒性、全身毒性は皆無で、刺激性（皮内投与）も溶血性もありません。

ダウンストリームの 3 ステップによる精製後のモノクローナル抗体 (mAb) フィード液における Clarisolve® mPAA の残留濃度は 5 ppm 未満であることが確認されています。限定的に実施した *in vivo* 毒性試験によれば、この濃度における急性全身毒性を示唆する結果は皆無です。また *in vitro* 試験において、この濃度における溶血性・変異原性を示唆する結果も皆無です。

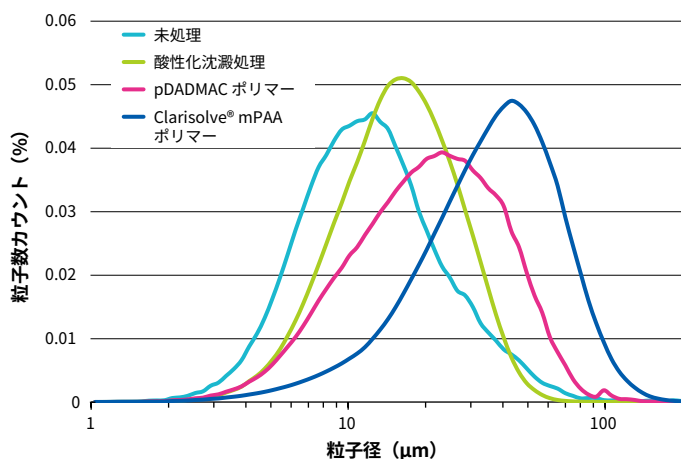


図 1. 各種の前処理法における粒子径分布

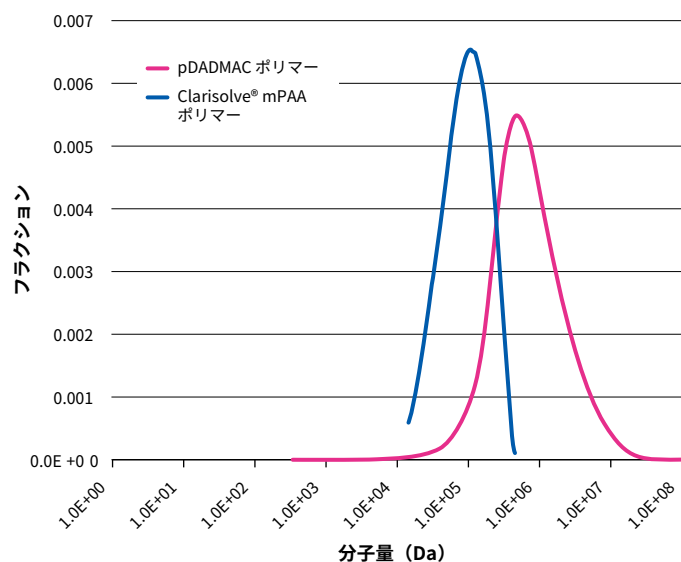


図 2. 精製後の Clarisolve® mPAA および pDADMAC ポリマーの分子量分布

残留ポリマー量の定量

細胞培養培地および精製ステップの前後におけるサンプル液の Clarisolve® mPAA および pDADMAC ポリマー残留レベルの定量測定サービスを提供しております。

ご提供試料の概要、残留ポリマーの定量値、標準試料を含むクロマトグラムのオーバーレイなどを記載した報告書を発行します。最終報告書は規制官庁への提出に適したフォーマットの PDF ファイルで発行します。

Clarisolve® デプスフィルター

各種の mAb、ワクチンおよび菌体ライセートのフィード液で成果を挙げています

前処理法による場合、フィード液中の凝集物の粒子径分布がシフトするため、通常の遠心分離やデプスろ過の効率が落ちることがあります。このため、大型のデプスろ過機器を設置することになり、設置面積の限られた既存施設や新規施設への適合が困難となることがあります。Clarisolve® デプスフィルターは、一般的な前処理済みフィード液の粒子径分布に適合するよう最適化されているため、従来の一次清澄ろ過デプスフィルターでは得られないろ過性能の向上を達成しました。

ろ過性能

この技術により確実に清澄化できることは、高密度細胞培地でさまざまな凝集技術について細胞密度や細胞生存率の異なる各種の mAb 細胞培養液で立証されています。Clarisolve® デプスフィルターはマクロキャリアの除去、細胞溶解液の清澄化、またウィルスを用いたワクチン製造工程においても使用されて成果を挙げています。

フラッシング

20MS、40MS、60HX の各メディア製品は、製造プロセスと設備能力に応じた流速 100 LMH ~ 600 LMH でフラッシングできます。60HX メディアは Clarisolve® フィルターメディアの製品ファミリーのうちで所要洗浄量が最も少ない製品です。

フィルターデバイスの湿潤およびホールドアップ量

メディアグレード 20MS、40MS、および 60HX には、フラッシュ流速 100 LMH ~ 600 LMH で優れたウェットニング特性が認められます。さらに、ブローダウン後のホールドアップ量が少ないため、従来のデプスフィルターよりも製品回収性が優れています。

セレクションガイド

前処理のオプション	Clarisolve® デプスフィルター
酸沈澱処理	
粒子径 10 ~ 20 μm	20MS
陽イオン系ポリマー凝集処理	
粒子径 30 ~ 40 μm	40MS
粒子径 50 ~ 60 μm	60HX

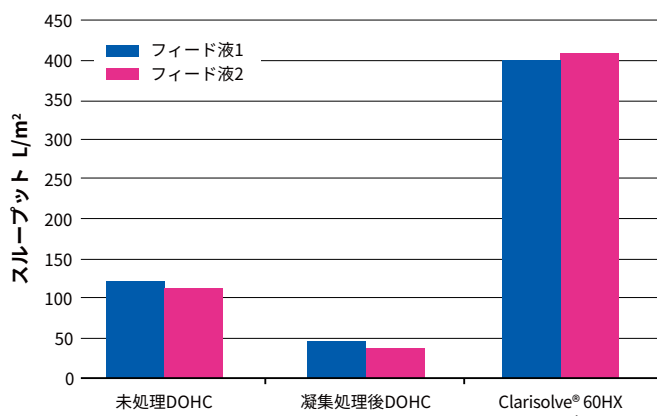


図 3. 前処理および Clarisolve® デプスフィルターを用いたデプスフィルター処理能力の向上にハイライトを当てた 2 種の mAb フィード液のろ過性能

Clarisolve® デプスフィルターフォーマット仕様

	μPod® のデバイス フォーマット	ラボスケール		プロセススケール		
表面積	23 cm ²	0.014 m ²	0.027 m ²	0.11 m ²	0.33 m ²	0.55 m ²
構成材料						
フィルターメディア	ポリプロピレンおよび無機ろ過助剤を含むセルロース系メディア（60HX はポリプロピレンメディアのみを含有）					
ハウジング	グラスファイバー混入ポリプロピレン					
アダプター	N/A	N/A	グラスファイバー混入ポリプロピレン			
ガスケットとプラグ	N/A	N/A	熱可塑性エラストマー（TPE）			
インレット、ベント、アウトレットの 接続	メスルアー接続	1/4 インチホース口		フラットシール		
ポッド寸法						
	全長：3.57 in (9.07 cm)	8.5 in (22 cm)		24.2 in (62 cm)		
	高さ：2.75 in (6.99 cm)	5.3 in (14 cm)		12.5 in (32 cm)		
	厚さ（20MS および 40MS）：1.96 in (4.98 cm)	2.9 in (7.40 cm)	3.7 in (9.40 cm)	2.0 in (5.08 cm)	4.4 in (11.18 cm)	6.8 in (17.27 cm)
	厚さ（60HX）：1.81 in (4.60 cm)					
最大操作圧	50 psig (3.5 bar) @ ≤ 40 °C	30 psig (2.1 bar) @ ≤ 37 °C		50 psig (3.5 bar) @ ≤ 25 °C 15 psig (1.0 bar) @ ≤ 80 °C		
最大差圧						
	正方向：30 psid (2.1 bar) @ ≤ 40 °C	30 psid (2.1 bar) @ ≤ 37 °C		30 psid (2.1 bar) @ ≤ 25 °C		
	逆方向：15 psid (1.0 bar) @ ≤ 40 °C	30 psid (2.1 bar) @ ≤ 37 °C		30 psid (2.1 bar) @ ≤ 25 °C		
滅菌	123°Cにて 60 分間のオートクレーブ滅菌 2 回			123°Cにて 60 分間のオートクレーブ滅菌 1 回		
間接食品添加物	構成材料は全て、21 CFR 177-182 に記述された FDA 間接食品添加物の要求事項を満たしている。					
毒性	構成材料は全て、クラス VI プラスチック向け USP <88> 生物学的反応試験の要求事項を遵守している。					
USP 細菌性エンドトキシン (発熱性)	水溶性抽出物の含有量は Limulus Amebocyte Lysate (LAL) 凝固試験法（フィルターメディアのみ）による測定で 0.25 EU/mL 未満であった。					
欧州圧力機器指令 2014/68/EU	各機器およびそのホルダーは 2014/68/EU 第 4 (3) 条記載の健全なエンジニアリングの実践 (SEP) に準拠して設計、製造されている。					

ご注文情報

メディア種類	数量 / 箱	カタログ番号
μPod® フォーマットの Clarisolve® デプスフィルター		表面積 23 cm²
20MS メディア	3	CS20MS01L3
40MS メディア	3	CS40MS01L3
60HX メディア	3	CS60HX01L3
μPod® フィルターアクセサリ		
μPod® チューブキット	1	MTUBEKITL1
ゲージ 0 ~ 60 psi および接続用付属品	1	XXPXLGAGE

ラボスケール用 Clarisolve® デプスフィルター	表面積		
	0.014 m ²	0.027 m ²	
20MS メディア	1	CS20MS01H1	CS20MS02H1
40MS メディア	1	CS40MS01H1	CS40MS02H1
60HX メディア	1	CS60HX01H1	CS60HX02H1

プロセススケール用 Clarisolve® デプスフィルター	表面積			
	0.11 m ²	0.33 m ²	0.55 m ²	
20MS メディア	1	CS20MS01F1-X	CS20MS03F1-X	CS20MS05F1-X
40MS メディア	1	CS40MS01F1-X	CS40MS03F1-X	CS40MS05F1-X
60HX メディア	1	CS60HX01F1-X	CS60HX03F1-X	CS60HX05F1-X
ディスプレイアダプターキット				
開放型アダプター× 3、閉鎖型アダプター× 3	1	MP0DADAPT		
開放型アダプター× 6、MP0DDIVERTR の使用時に必要	1	MP0DADPTF		

注：ポッドフィルターには別売のフローアダプター（MP0DADAPT または MP0DADPTF）を使用する必要があります。ポッドフィルターホルダーに関する情報は、Millistak +® Pod ディスポーザブルデプスフィルター用ハードウェアのデータシート（DS3388EN00）をご参照ください。

Pod のパイロットスケールおよびプロセススケールに Clarisolve® デプスフィルターを適合させるため改造用キットが必要になることがあります。詳細については営業担当者にお問い合わせください。

凝集ポリマー剤			
pDADMAC 10% 溶液 凝集ポリマー剤	100 mL	1.37069.0100	
	1 L	1.37069.1000	
	10 L	1.37069.9010	
Clarisolve® mPAA 10% 溶液 凝集ポリマー剤	100 mL	1.37099.0100	
	1 L	1.37099.1000	

注：Clarisolve® mPAA 溶液は暗所にて 2 ~ 8°C で保管してください。

Provantage® サービス	
残留 pDADMAC の定量	VSPDADMAC

追加情報については [MerckMillipore.com/FlocculationPolymers](https://www.merckmillipore.com/FlocculationPolymers) をご覧ください。

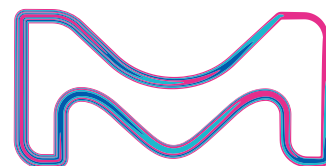
【ご注意】 本データシートに掲載されている製品は、食品衛生法への適合を確認していないため、食品製造用途には使用できません。

Facebookもチェック 

最新の技術情報やWebinar・イベント情報を配信!

メルク プロセスソリューションズ 





本紙記載の製品構成は諸般の事情により予告なく変更となる場合がありますのでご了承ください。本文中のすべてのブランド名または製品名は特記なき場合、Merck KGaA の登録商標もしくは商標です。本紙記載の内容は 2017 年 11 月時点の情報です。Merck, the vibrant M, and Millipore are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources. ©2020 Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved. Original is Lit. No. DS5221EN00 Ver. 9.0

メルク株式会社

ライフサイエンス プロセスソリューションズ事業本部

〒153-8927 東京都目黒区下目黒 1-8-1 アルコタワー 5F

製品の最新情報はこちら www.merckmillipore.jp

製品・技術に関するお問合せ：PStechservice_JP@merckgroup.com

注文に関するお問合せ：PScommercialservice_JP@merckgroup.com

Tel: 03-4531-1143