

Eshmuno® CMX クロマトグラフィー樹脂

mAb、ADC、および融合タンパク質での困難な精製における選択性の高い
ミックスモードのクロマトグラフィー樹脂

Eshmuno® CMX クロマトグラフィー樹脂は、実績のある Eshmuno® 樹脂技術に基づいて作られたミックスモードのクロマトグラフィー樹脂です。

この革新的な樹脂は、弱陽イオン交換特性と疎水性相互作用を組み合わせ、モノクローナル抗体 (mAb)、融合タンパク質および抗体薬物複合体 (ADC) の精製、ならびに低分子量不純物および宿主細胞タンパク質 (HCP) の分離に高い選択性を提供します。

Eshmuno® CMX クロマトグラフィー樹脂は以下を可能にします。

- クロマトグラフィーのステップ数とバッファー消費量を減らすことにより、**プロセスを強化し、コストを削減**
- より高い回収率、高い選択性、優れた動的結合能力で**パフォーマンスを向上**
- 幅広い操作ウィンドウ、プロセス開発の簡素化、硬質ベースビーズによる簡単なカラムパッキングにより、**ユーザーエクスペリエンスを向上**



実績のある Eshmuno® テクノロジー

Eshmuno® CMX クロマトグラフィー樹脂は、生産性の高いダウンストリーム精製プロセスの要求を満たすように設計された高性能クロマトグラフィー樹脂の Eshmuno® ファミリーの一つです。

Eshmuno® イオン交換樹脂は革新的な表面テンタクル構造を備えており、標的物質をより効果的に結合できます。

樹脂は、この優れたテンタクル技術と硬質の親水性ポリビニルエーテルベースマトリックスの利点を組み合わせ、高流量と処理時間の短縮を可能にします。

アプリケーション： モノクローナル抗体および融合タンパク質の精製

mAb および融合タンパク質のアップストリームプロセス開発の改善により、生産性と力価が向上し、高分子量および低分子量の不純物の数が増加したため、精製プロセスが複雑になりました。

mAb と融合タンパク質の従来のダウンストリームプロセスには、キャプチャー、2次精製、最終ポリッシングステップが含まれます。Eshmuno® CMX クロマトグラフィー樹脂を使用した検討では、樹脂の選択性が高いため、このプロセスを3つから2つのクロマトグラフィーステップに削減できることが示されています（図1）。これにより、純度を維持しながらプロセス時間とコストを削減できます（図2）。

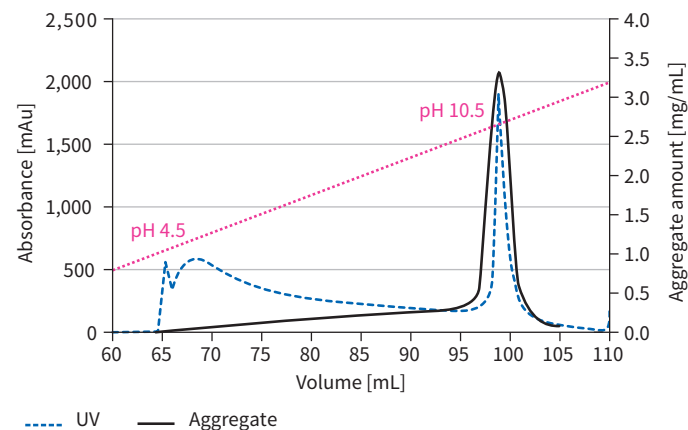


図2 - Eshmuno® CMX クロマトグラフィー樹脂を用いた最大 30%の凝集体を含む Fc 融合タンパク質のリニア pH グラジエント溶出プロファイル

Eshmuno® CMX クロマトグラフィー樹脂は、従来のクロマトグラフィー樹脂（表1）と比較して、製品の純度を維持しながらプロセスの収率を3倍にします。

従来のダウンストリームプロセス

キャプチャー		2次精製ステップ		ポリッシング		プロセス	
純度 [%]	収率 [%]	純度 [%]	収率 [%]	純度 [%]	収率 [%]	純度 [%]	収率 [%]
81.06	96.39	92.54	36.18	97.37	36.56	97.37	12.75

Eshmuno® CMX クロマトグラフィー樹脂を用いたダウンストリームプロセス

キャプチャー		ポリッシング		プロセス	
純度 [%]	収率 [%]	純度 [%]	収率 [%]	純度 [%]	収率 [%]
82.94	100	97.15	41.26	97.15	41.26

表1 - 従来のクロマトグラフィー樹脂と Eshmuno® CMX クロマトグラフィー樹脂の収量、融合タンパク質純度の比較。

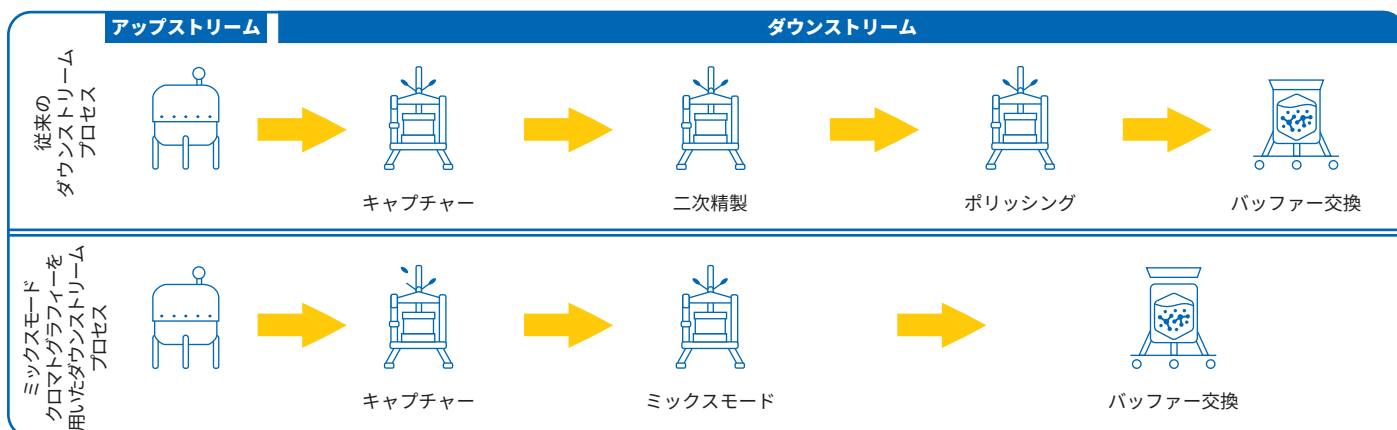


図1 - 融合タンパク質の従来のダウンストリームプロセスとミックスモードクロマトグラフィープロセスの比較。

アプリケーション：ADC ポリッシング

ADC の品質特性には、抗体、低分子コンジュゲートフォーム、および低分子薬物部位に関連するものが含まれます。薬物対抗体比 (DAR) は重要な品質特性です。DAR が高いと ADC の安全性プロファイルに影響を与える可能性があります、DAR が低いとその効果が低下する可能性があります。

Eshmuno® CMX クロマトグラフィー樹脂は、望ましくない低 DAR および高 DAR 種を除去するために使用でき、最良の薬物動態、有効性、安定性、および忍容性を実現します。

ミックスモードの陽イオン交換ステップは、抗体薬物コンジュゲート種を分離するためのコンジュゲーションステップに続き、通常、pH 4 ~ 5、150 ~ 250 mM NaCl の間の条件で吸着および溶出モードで動作します (図 3)。これらの条件下では、ほとんどの抗体薬物コンジュゲートが樹脂に結合し、低すぎるまたは高すぎる DAR / 抗体薬物コンジュゲート種の分離が、最適な溶出条件の選択で達成されます。溶出条件には、ミックスモードの陽イオン交換樹脂の選択性を高める pH の変化や導電率の変化が含まれます。これは、グラジエント溶出またはステップ溶出モードで達成し、このモードでは、pH や導電率が異なるバッファーが適用されます (図 4)。

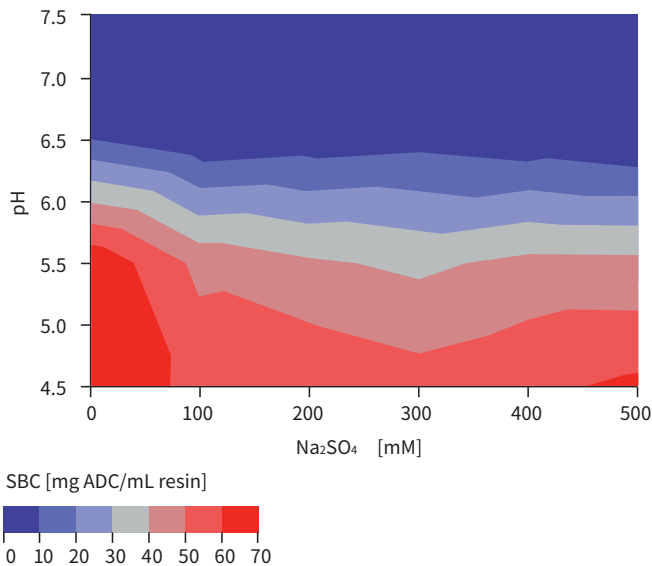


図 3 - 一定範囲の pH および導電率条件下での抗体薬物複合体分子の結合

Na₂SO₄ の量を変え、50 mM アセテートおよび 50 mM リン酸緩衝液を使用して、pH を達成しました。静的インキュベーションは、0.4 mL のサンプル懸濁液中で 120 分間行われました。

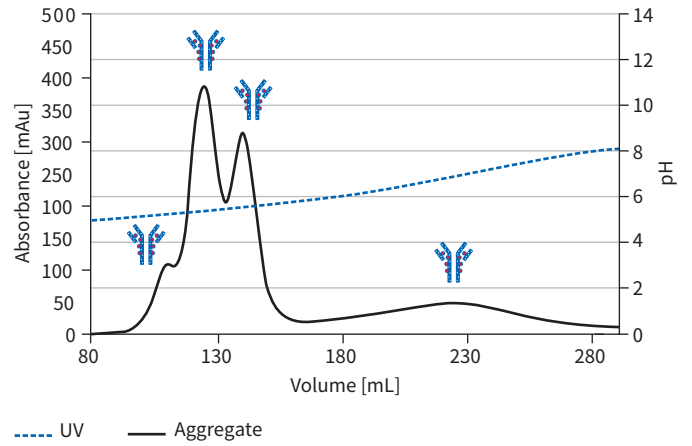


図 4 - Eshmuno® CMX 樹脂カラムに 30 mg タンパク質 / mL を充填カラムへ負荷し、pH グラジエント溶出を使用した ADC 種分離。

実線は UV シグナルを表し、破線は pH (第二軸) を表します。抗体記号は、DAR2 から DAR8 までの DAR 種を表します。

アプリケーション：低分子量不純物および HCP の除去

mAb や融合タンパク質の製造アップストリームプロセスの改善により、生産性と力価が向上し、低分子の不純物と HCP のレベルが上昇したため、ダウンストリームプロセスに課題が生じました。図 5 に示すように、Eshmuno® CMX クロマトグラフィー樹脂はこれらの不純物のレベルを下げるのに効果的です。

図 5a

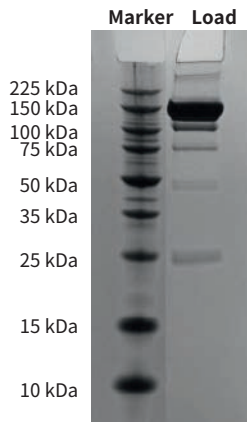
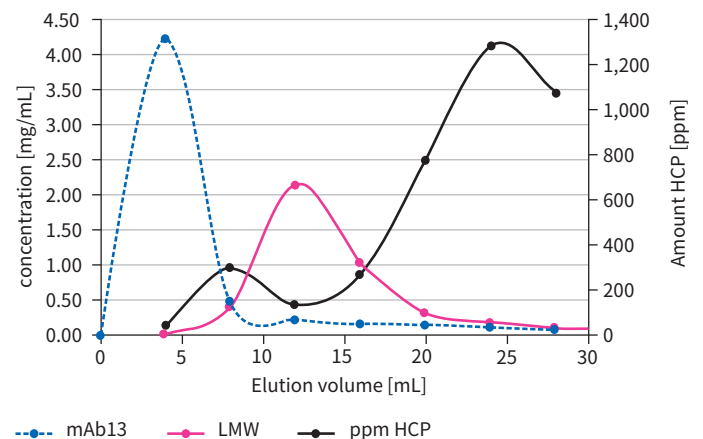


図 5 - 大量の低分子量不純物 (100 kDa) と HCP (5a) を含むモノクローナル抗体含有サンプル (165 kDa)。

pH グラジエントを用いた低分子量不純物および HCP からのモノクローナル抗体含有サンプルの分離 (5b)。

図 5b



使いやすさの向上

Eshmuno® CMX クロマトグラフィー樹脂は幅広い操作ウィンドウを備えているため、さまざまな pH レベルと導電率を使用して高い製品回収率を実現できます (図 6)。また、疎水性 mAb の溶出を可能にする唯一のミックスモード樹脂です (図 7)。

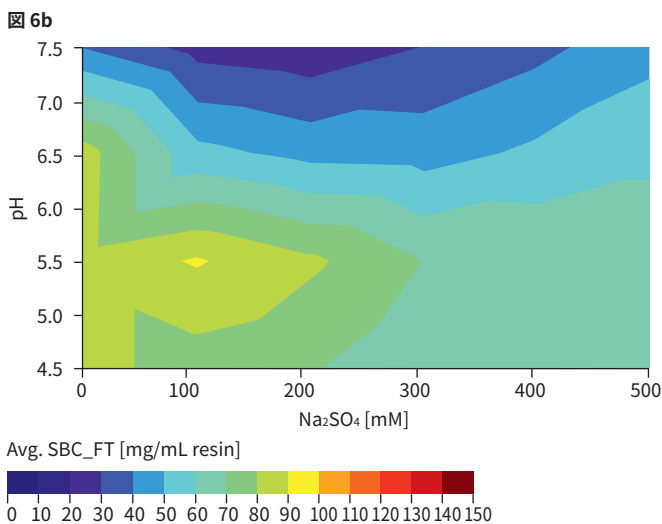
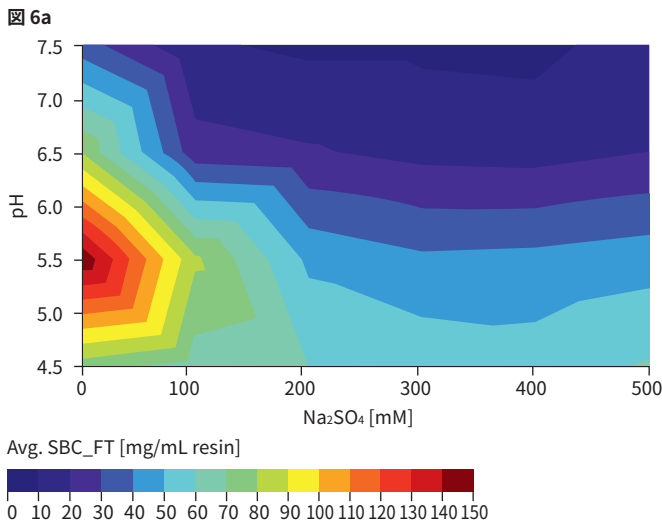


図 6 - さまざまな pH および Na₂SO₄ 濃度ウィンドウでの 2 時間のインキュベーション後の抗体の静的結合容量 2 次元マップ。

値は、フロースルー画分から計算された沈降樹脂の mg タンパク質 / mL 平均値。

- 6a) Eshmuno® CMX 樹脂、
- 6b) 競合他社のミックスモード樹脂。

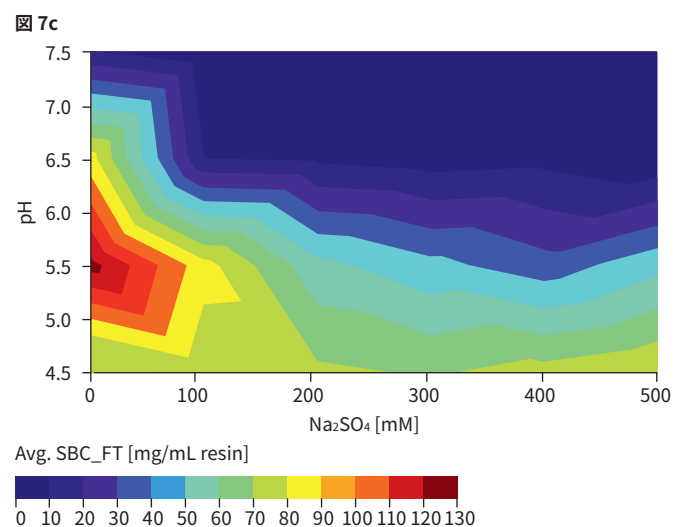
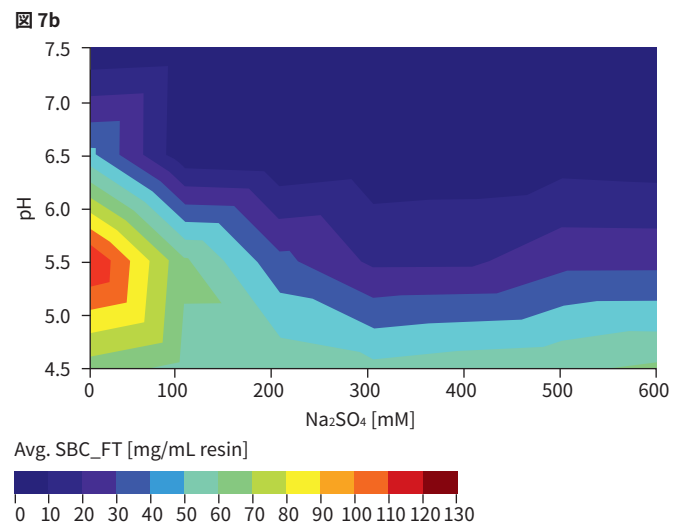
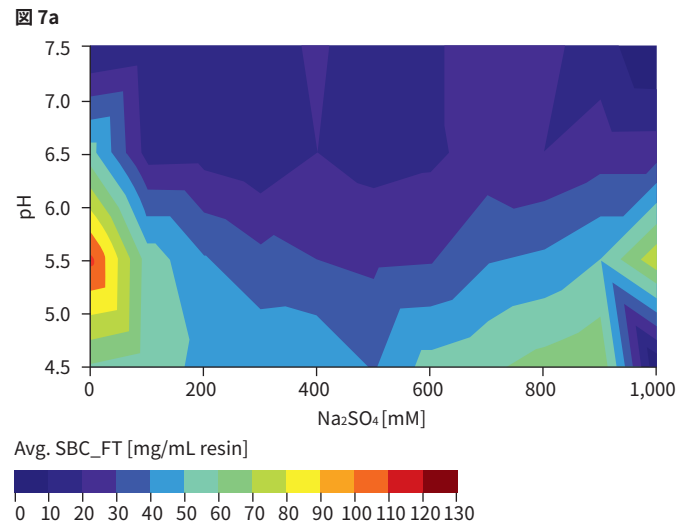
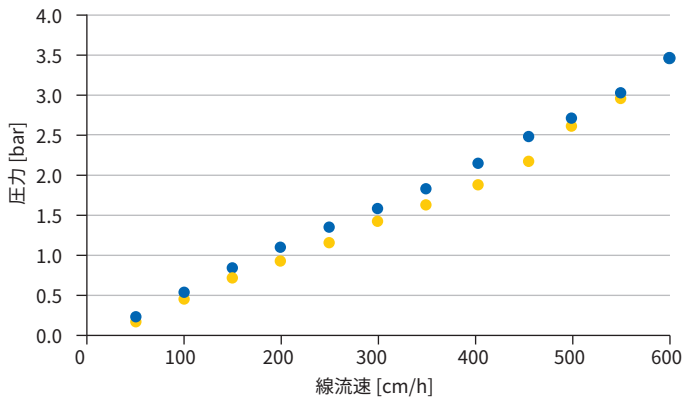


図 7 - さまざまな pH および Na₂SO₄ 濃度ウィンドウでの 2 時間のインキュベーション後の抗体の静的結合容量 2 次元マップ。

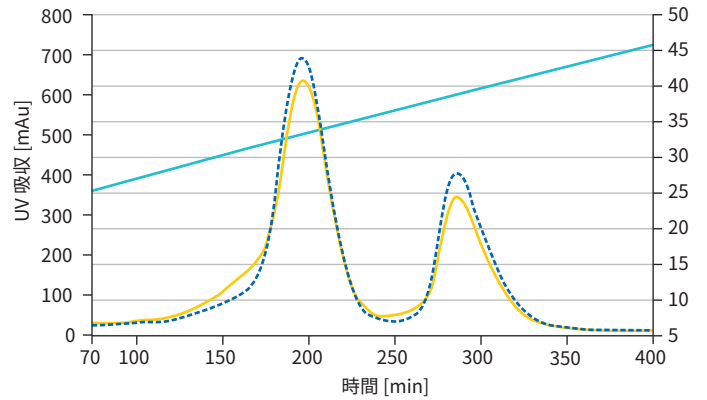
値は mg タンパク質 / mL の平均値。Eshmuno® CMX 沈降樹脂は、フロースルー画分疎水性抗体 7a、抗体 7b、および疎水性抗体 7c から計算された。

図 8 と 9 に示すように、Eshmuno® CMX クロマトグラフィー樹脂は、硬いビーズの性質により充填が容易で、簡単にサニテーションでき、堅牢な Clean In Place (CIP) の安定性を提供します。



- パッキング条件1：エタノール 20% - 12% 圧縮
- パッキング条件2：NaOH 0.1M - 14.5% 圧縮

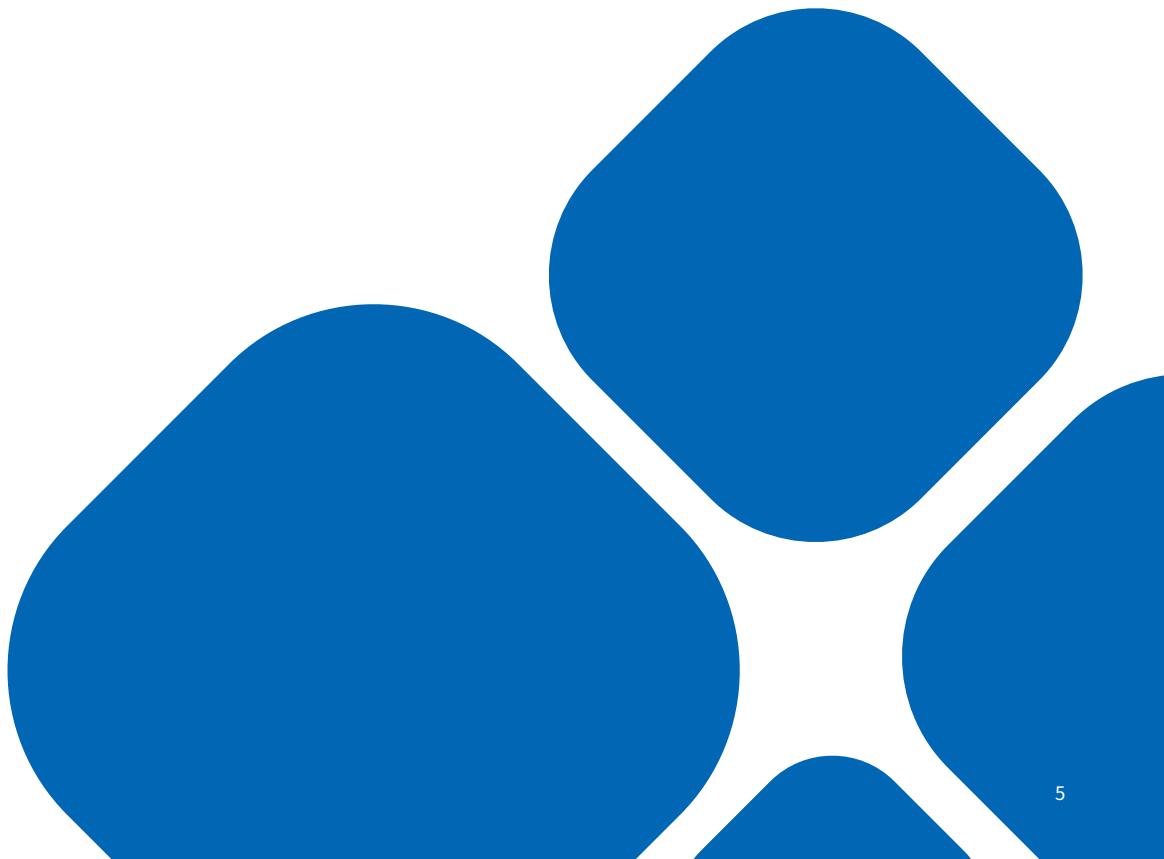
図 8 - エタノールまたは NaOH を使用して 20 cm ID カラムに充填された Eshmuno® CMX 樹脂の圧力対流量曲線。



- conductivity (mS/cm) trace - cycle 1
- conductivity (mS/cm) trace - cycle 106
- - - UV signal trace - cycle 1
- UV signal trace - cycle 106

図 9 - 1 回目と 106 回目のサイクル後におけるキモトリプシンノーゲン A とチトクローム C のクロマトグラフィーの分離パターン

各サイクルは、それぞれ平衡化、サンプルのロード、カラムの洗浄、導電率勾配溶出、1 M NaOH の洗浄、およびカラムの再生ステップを含む。



テクニカルインフォメーション

クロマトグラフィータイプ	ミックスモード
官能基	COO- 弱陽イオン交換体とアルキル基
基材	表面修飾した硬質親水性ポリビニルエーテルポリマー
平均粒子径 (d ₅₀)	50 µm
動的タンパク結合容量 (4 分の滞留時間、5% BT 時)	60 mg plgG/mL
イオン容量	120 µMol/mL
pK 値	< 1
操作時の pH 安定性	操作時 (タンパク質 / 汚染物質の結合と溶出) : pH 2-12 洗浄、殺菌時 : pH 0-14
物理的圧力安定性	8 bar
線流速	300 cm/h まで 20 × 10 cm i.d. カラム、 12%–14% 圧縮比 または 1.14 - 1.16 のコンプレッションファクター、 移動相 150 mM NaCl
保管条件	20% エタノール /150 mM NaCl 溶液、温度 +2°C から +30°C
出荷時の保存液	20% エタノール /150 mM NaCl 溶液

ご注文情報

Eshmuno® CMX resin, 10 mL	1.20650.0010
Eshmuno® CMX resin, 100 mL	1.20650.0100
Eshmuno® CMX resin, 500 mL	1.20650.0500
Eshmuno® CMX resin, 5 L	1.20650.5000
MiniChrom prepacked column with Eshmuno® CMX resin, 1 mL 8 × 20 mm	1.25185.0001
MiniChrom prepacked column with Eshmuno® CMX resin, 5 mL 8 × 100 mm	1.25186.0001
RoboColumn® prepacked column with Eshmuno® CMX resin, 0.2 mL 8PC 5 × 10 mm	1.25187.0001
RoboColumn® prepacked column with Eshmuno® CMX resin, 0.6 mL 8PC 5 × 30 mm	1.25188.0001

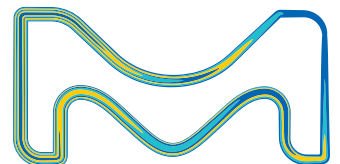
バッファー調製

Citric acid anhydrous powder EMPROVE® ESSENTIAL Ph Eur, BP, JP, USP, E 330, FCC	100241
Sodium dihydrogen phosphate monohydrate EMPROVE® EXPERT BP, USP	137093
Glycine cryst. EMPROVE® EXPERT Ph Eur, BP, JP, USP	100590
N-[Tris(hydroxymethyl)methyl]-3-aminopropanesulfonic acid buffer substance TAPS	108320
DI-SODIUM SUCCINATE ANHYDROUS FOR SYNTHESIS	818601
Sodium hydroxide pellets EMPROVE® EXPERT Ph Eur, BP, JP, NF	137020
Sodium hydroxide solution 32% EMPROVE® EXPERT	137023
Sodium chloride EMPROVE® EXPERT Ph Eur, BP, JP, USP	137017
Potassium dihydrogen phosphate cryst., EMPROVE® ESSENTIAL Ph Eur, BP, JPC, NF, E 340	104871
di-Potassium hydrogen phosphate anhydrous, EMPROVE® ESSENTIAL Ph Eur, BP, E 340	105101

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 2021 年 1 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. ©2021 Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved. Original Lit. No. MK_DS5443EN Ver 1.0

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

PSM217-2101-PDF-H