

Sterk verhoogde opbrengst bij mAb productie door wegvallen van Unit-operation.

Platform-process Biopharmaceutics

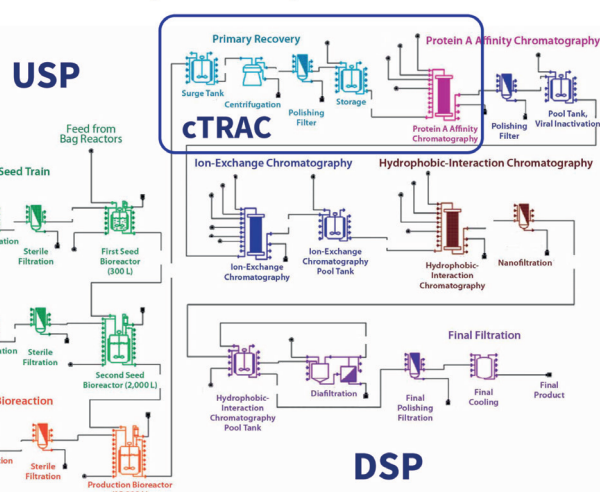


Fig. 1 [BPI-2014 October issue]

Door toepassing van cell Tolerant Radial Affinity Chromatography (cTRAC) als schakel tussen Upstream (USP) en Downstream (DSP), worden clarificatieverliezen voorkomen en stijgt de netto proces-opbrengst van monoclonal Antibody (mAb) met circa 10%. Tien procent lijkt gering, maar door de enorm waardevolle mAb is de invloed op het rendement significant. In Fig. 1. [1] wordt het schema van een algemeen toegepast 'platform-productieproces' voor de batch-productie van therapeutische antilichamen (mAb) uit Chinese Hamster Ovarian (CHO)-cellen getoond. Een beproefde opzet die ook voor andere recombinante producten uit diverse cellijnen wordt ingezet.

Het "hart" van het mAb zuiveringsproces is de uiterst selectieve affiniteitsbinding van mAb aan het ProteïneA, waarmee het mAb in één stap wordt gezuiverd tot >95%. Vervolgstappen verwijderen gastheer-eiwit (Host-Cell-Protein of HCP), virus en IgG-aggregaten tot een zuiverheid >99%. Tijdens de "primary recovery", de clarificatie-stap tussen USP en DSP, treedt een "geaccepteerd" verlies aan mAb op van 10 – 15% [2]. Door de kostbare mAb een enorm rendementsverlies! Het voorkomen van deze verliesgevendende clarificatie maakt het proces niet alleen goedkoper maar ook duurzamer, onder andere door het vervallen van forse "single-use" filterinstallaties (Fig. 2.).



Met de toepassing van cTRAC-ProteïneA vervalt de clarificatie (blauw omkaderd in Fig.1). Met behoud van de selectiviteit van deze affiniteitsmedia wordt de processtap geassimileerd tot één ProteïneA-capture



Fig. 3 Radiale kolom

stap direct vanuit de celweek. Met een zeer hoge celdichtheid, tot 40×10^6 CHO cellen per ml, wassen de CHO-cellen ongehinderd en zonder schade door de cTRAC-ProteïneA kolom terwijl de mAb wordt gebonden. Hydrodynamisch mogelijk gemaakt door de trechter-vormige, radiale kolom (Fig. 3.).

Door deze trechtervorm worden de cellen naar de uitgang geleid zonder gelegenheid tot stagnatie. Deze geleiding is het gevolg van de weerstand-gedreven focus van de flow die kan worden verklaard met behulp van de formule van Kozeny-Carman [formule 1] [3].

$$\Delta P = \frac{150\eta}{Dp^2} * \frac{(1-\epsilon e^2)}{\epsilon e^3} * u * L \quad \text{[formule 1]}$$

In capillaire systemen neemt de weerstand (druk, P) toe onder invloed van de viscositeit (η), de partikeldiameter (Dp), de superficial velocity (u), de bed-porositeit (ϵe) en de buislengte (L). De vorm van de radiale kolom veroorzaakt een graduele versnelling en -weerstandverhoging wat leidt tot flow-focussing waardoor achterblijvende cellen, en dus verstopping, wordt voorkomen.

Met de toegenomen recovery en een reductie van de kosten (filters, buffers, tijd) ontstaat een rendementsverhoging van ca. 40% op de eerste stap van mAb zuivering. Daarbij is de duurzaamheidsbijdrage van cTRAC ten minste 20.000kg CO₂ per kg antilichaam [4].

Lab cTRAC:

De milde- en lagedruk toepassing maakt het mogelijk mAb uit een kleine pilot-celweek zelfs met injectiespuit zeer snel en probleemloos te isoleren (Fig. 4.). Vanzelfsprekend kan dit ook met een kleine slangpomp. Voor meer informatie en de cTRAC starter kit, bezoek www.proxcys.com/ctrac.



Fig. 4

Continuous cTRAC

cTRAC kolommen zijn lineair schaalbaar tot tientallen liters kolomvolume. Omdat cTRAC processing robuust en mild is, blijkt deze ook in BioSMB-modus uitstekend te presteren (Fig. 5). Bij 3 tot 5 in serie geschakelde kolommen, met een totale bedhoogte van 27cm tot 45cm is de flowthrough gelijkmatig en de viability boven de 90% (zeer geringe celschade).

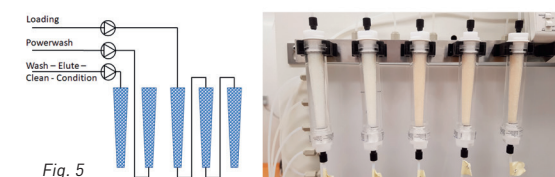
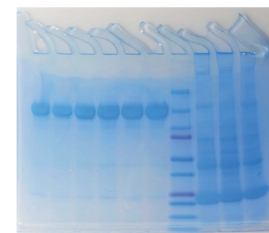


Fig. 5

Fig. 6

Results 8-9-08 4-14% Mini Protean TGX Precast Slab gel			
A1	Elute 2	20µl	~35ml
A2	Elute 3	20µl	~35ml
A3	Elute 4	20µl	~35ml
A4	Elute 5	20µl	~35ml
A5	Elute 6	20µl	~35ml
A6	Elute 7	20µl	~35ml
A7	Marker	7µl	
A8	Flowthru #2	20µl	1ml
A9	Flowthru #5	20µl	1ml
A10	Flowthru #11	20µl	1ml



FT cycle # 2 5 11

- [1] Prof. M. Franzreb et.al, 2014 October-issue, BPI.
- [2] Unverified generally reported data
- [3] Besselink T, et.al. 2013. Journal of Chromatography A 1271:105–114.)
- [4] Proxcys Poster PPB2019 People, Planet, Profit – plasma conference.