



バイオ高速精製カラム「CIM[®]モノリス」 ～モノリス型担体の進化と未来～

(昭和電気株式会社 事業開発センター 融合製品開発研究所) 青木 裕史

はじめに

長年、多孔質ゲル状担体充填カラムが主流を占めるバイオクロマトグラフィ分野において、その技術的限界を克服するための技術の一つとして、「モノリス型」すなわち固形一体成型クロマトグラフィ担体に長らく期待が寄せられているが、その普及は道半ばである。

昭和電気(株)は、「化学」をベースに多様な素材を提供している総合化学会社である。その事業の一つとして手掛けているポリマー系担体を主力とする「Shodex[®]」HPLCカラムは、分析の現場で広く利用されている。本稿では、昭和電気(株)がポリマーカラムのエキスパートとして、同じくポリマーで構築される独自のモノリスカラムを手掛けてきた「BIA セパレーションズ社(以下BIA社)」との提携により展開するバイオ高速精製カラム「CIM[®]モノリス」の技術、直近の進歩、その可能性について、バイオクロマトグラフィ担体市場の変化との関係からご紹介したい。

「CIM[®]モノリス」について

BIA社は、創業1998年、欧州スロベニアに製造・開発拠点を構え、独自開発のポリマーモノリスカラム「CIM[®]モノリス」シリーズで知られる。「CIM[®]」とは、「Convective Interaction Media[™]」の略称であり、担体と対象分子との相互作用において独自の機構を備え、特に、バイオ精製のターゲットとされる高分子量域において、高容量・高分解能かつきわめて高速な分離精製を実現する。その特徴は、クロマト分離速度を「自然拡散」の律速から解放する、メソポア(細孔)のない「ノンポーラス構造」と「表面相互作用」である(図1)。またこの機構は、実用性の観点から、その高速性と同等に重要な以下のような利点ももたらす。

スケール再現性 従来の「自然拡散型」多孔質ゲル担体のスケールアップには、「線速度(カラム中の移動相の移動速度)」「レジデンスタイム(カラム内での移動相の滞留時間)」などに基づく複雑な予測が必要となる。しかし、カラム内を移動中も刻々と変化するターゲットの濃度、担体の残存結合容量などを考慮すれば、カラム

寸法・形状の大きな変化を伴う数千倍、数万倍のスケールアップの過程で、小スケールでの分離条件をこれらの管理値のみで再現するのは容易ではない。さらに、大容量カラムのパッキング操作による充填のばらつき、pHなど移動相の液性変動によるゲルの膨潤収縮などは、さまざまな理論上の予測の誤差範囲を超えて、分離結果に影響を及ぼす。

他方、CIM[®]モノリスではそもそも分離プロセスに自然拡散工程が存在しないため「線速度」「レジデンスタ

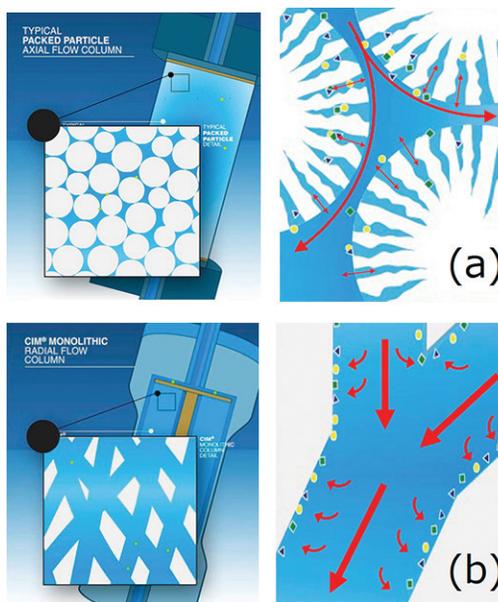


図1. a) 従来型多孔質ビーズ担体。主要な相互作用点はナノメートルスケールの「メソポア(細孔)」内部である。メソポア内の液置換は、比較的大きな粒子間隙に比べ遅いため、ターゲット分子はメソポア内を「自然拡散」で移動する。特に高分子量域では、分子の自然拡散速度が遅いため、過大な流速は分離の悪化や、担体への結合不良(リーク)をもたらす。b) CIM[®]モノリス。メソポアを排し、すべての作用点を流路表面に置く。溶質分子は送液により流路に導入されると「自然拡散」の律速を受けることなく、直ちに担体と相互作用する。分離能や結合容量が、流速による影響を受けない。またこの多孔質担体を強固な一体成型(モノリス)とする独自技術により、大流速を与えてもゲル変形、閉塞を来すことなく、設計上の構造が実際の大流速運用時にも安定に維持される。



イム」の概念がない。単純な担体容量アップにより、ラボから製造プロセスまで、処理時間も分解能も犠牲にすることなく、スケールアップが可能である。ラボ用1 mLカラムで5分なら、プロセス用8000 mLカラムでも5分。そのスピードのみならず、再現性・スケールアップの容易さにも比類のない特性を持つ。さらに、固体メディアとしての構造・機能の安定性は、パッキングの手法や、液性変化・送液抵抗などの外力による挙動変化の懸念を払拭する。

ターゲットの安定性への寄与 容量当たり従来担体の10倍もの大流速を適用可能な一方、対象分子に与える物理ストレスはむしろ小さく、特にウイルス精製において、高タイターでの回収に寄与することが知られている。これは、従来の多孔質担体における流動抵抗の大きな粒子表面・粒子間接点付近と抵抗の少ない粒子間空隙との間のマイクロ・局所的な流速差、および、それに伴う渦流・せん断力の発生が、CIM[®]モノリス構造下では緩和されることによるとの仮説が提唱されている¹⁾。また、高速処理によりカラム内でのターゲットの高濃度での滞留時間が低減できる点も、分子間相互作用に起因する変性や凝集などの低減に寄与すると期待される。

バイオ精製市場のニーズの変化

このように「CIM[®]モノリス」を含め、モノリス型担体には優れた特徴がありながら、市場において大きなシェアを占めるに至っていない。その要因について、ポリマーHPLC担体に長年の経験を持つ我々の認識は以下のとおりである。

需要がなかった 今日のバイオ医薬品隆盛に至る多くの研究開発成功の一端を担ってきたクロマトグラフィメディアが、旧ファルマシア社の技術に端を発するゲル製品群であることには疑う余地がなく、筆者もまた研究者としてこれらの製品に育てていただいたと自認している。生命現象の解明を主目的としてきた生化学の研究分野において、通常、その評価・解析に必要なバイオ分子の必要量は多くともせいぜいグラム単位である。そしてその下流の分析手法・装置もまた、微量・多品種分析の方向に進歩し、クロマト担体側に「大量調製」への速度やスケールアップ性、経済性が求められることはあまりなかった。しかし、近年の抗体医薬品に代表される、産業としての「バイオ医薬品」の出現により、状況は一変した。高純度なバイオプロダクトの、キログラムオーダー大量調製のニーズが急速に立ち上がる中で、研究室での微量精密調製向けに最適化されてきたバイオ精製担体が、ラボから工場への数万倍のスケールアップの過程でさまざまな支障をきたすことはやむを得ない。さらに、こうした新市場の創生にとともなう開発競争が逆に、ラボ

での小スケール調製のハイスループット化をも求め始めている。精製メディアという点、その生産プロセス用消耗品としての生産性・コストパフォーマンスのみに目が向かいがちであるが、今後は「研究開発の生産性」、すなわち条件検討の速さ・クオリティ、少量調製の段階から将来の大量生産が見通せる良好なスケール再現性などによる開発加速・成功への貢献もまた、新しい精製メディアが備えるべき性能の一つとなるであろう。こうして、ラボから生産まで、幅広いスケールで高速かつ一貫した分離特性を持つ、非拡散・ノンポーラス型のCIM[®]モノリス担体の真価が発揮される環境が整いつつある。

アルカリ耐性 従来の多くのモノリス担体は無機系、特にシリカを基材とするものであった。これは成形工程における微細構造の制御性やサイズ安定性に優れた素材であることによると推察する。他方、バイオ医薬品のCIP (cleaning-in-place; 定置洗浄、プロセスラインを構成するパーツを分解・取り外しなどせず、洗液を通じて洗浄する手法、自動化が容易で、人的ミス・汚染のリスクが低い。安全・効果的な洗浄剤の種類は限られる。近年のバイオプロセスで多用。)においては、高濃度の「水酸化ナトリウム溶液」による洗浄が不可欠となっている。バイオ医薬品プロセスの不純物プロファイル、抗体医薬の高レベルな要求純度から、安全・確実にプロセスをリフレッシュする方法は、タンパク質を変性させるレベルの高濃度アルカリ洗浄しかないのが現状である。ポリマー担体は一般に、シリカ担体よりも高いアルカリ耐性を備えているとされており、この問題をクリアする。しかし、細孔が高度に均一分散され、なおかつ寸法安定性の高い大容量のモノリス担体をポリマーで構築することは困難であった。そもそも、バイオ分子の大量生産ニーズがない中で、あえてこれに取り組み、成功させた事例は少ない。こうした過酷なニーズに耐えるアルカリ耐性の高い「ポリマーモノリス」なくしては、モノリス型カラムは今後も引き続きニッチな商品であり続けたかもしれない。

CIM マルタスTM：新世代CIM[®]モノリスカラム

こうして、非拡散・ノンポーラス型ポリマーモノリス担体を用いるCIM[®]モノリスカラムが、バイオ精製プロセスに貢献する土壌は整った。一方、CIM[®]モノリス製品自体も、単にこの時を待っていたわけではない。BIA社は、実需の立ち上がらない苦節の中にも、このような市場の変化の兆候を見いだし、トレンドを先取りした改良を加えてきた。その一つの完成型が、「CIMマルタス (CIMmultus)TM」シリーズ (図2) である。

CIM[®]担体の分子との高速な相互作用により、ベッド高、すなわち流路長を従来メディアに比べ、圧倒的に短



図2. CIM マルタス (CIMmultus) ディスポーザブルモノリスカラム (上) と、内装される CIM モノリス担体 (左)

縮することが CIM[®] の低背圧・高流速メディアとしての設計上のポイントである。しかし、その特性を生かして容量アップを図るとすれば、断面積を増大するしかなく、メディアはどんどん大きく薄い平板状になっていく。これでは良好なクロマトグラフィの基本である送液の均一分布が困難になるほか、安定製造や運搬、現場でのスペース活用などの実用面からも好ましくない。そこで、CIM[®] 担体を「円筒状」に成形し(図2左)、専用プラスチック製ハウジングに収めラジアルフローとすることにより(図3)、大流量における低背圧と安定した液分布、製造・運用上の高度なロバストネスと利便性を両立することに成功した。さらにこの構造、および担体・ハウジングの材質を、ラボ実験向け容量 1 mL タイプから、一回 100 g オーダー (タンパク質として) の処理能力を持つプロセス用 8000 mL タイプまで共通とすることにより、バイオ医薬品の開発過程で求められる材料・手法の一貫性に配慮した。また完全プレパックでの提供とすることで、充填手技によるばらつきや性能管理の負担をなくし、LC 装置に接続後直ちに使用を開始できるほか、使用後にはハウジングごと廃棄できる利便性を付与した。さらに内装されるモノリス担体からハウジング・フィッティングに至るまでのフルポリマー構成は高度なアルカリ耐性を備え、CIP による繰り返し使用をサポートするほか、昨今のトレンドであるディスポーザブルユースにも対応している。小スケールのラボ実験調製から大量生産まで、バイオ精製の「複雑」「不安定」「長時間」といったこれまでのイメージを一掃し、バイオ研究者・技術者の開発を加速するツールとなっている。

おわりに

筆者は長年バイオ分野の研究に携わり、従来カラムで

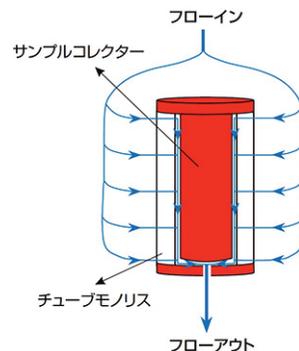


図3. CIM[®] モノリスのラジアルフロー構造。移動相は円筒状のモノリス担体の外側から内側に向け送液される。

のバイオプロダクトの精製を多数経験してきた。多くの場合、精製作業自体は、率直に言ってしまえば研究の本質とはあまり関係がないにもかかわらず、所要時間や労力は多大なうえ、その仕上がりの研究結果への影響は大きく、しかも不安定・不確実な(さらに言えば、寒い)「苦行」というのがこれまでのバイオ精製に対する筆者の率直な印象である。精製は研究の目的ではなく、あくまで手段であり、クロマトグラフィの専門家でもなく多忙な個々のバイオ研究者がそこに光を当て、見慣れない新しい技術・製品を導入するに至らないのも、実務経験者として大いに理解できる。バイオ医薬品という突然のバイオ高度大量精製の時代の到来に直面し、これを伝統的メディアでねじ伏せ、今日を築いて来られた研究者・技術者の皆様の努力と忍耐には、経験者の一人として率直に、畏敬の念を禁じ得ない。しかし、今後はぜひこの苦行から解放され、もっともっと研究の本質に多くの皆様の貴重な時間と労力を振り向けていただけたら…、そのような思いで今回、非拡散型高速ポリマーモノリスカラム「CIM[®]モノリス」を巡る市場の変化、そしてバイオ産業の将来への貢献の可能性について、その一端をご紹介した次第である。

昭和電工(株)は、BIA社CIM[®]モノリスのグローバル展開を担うにとどまらず、長年のポリマー担体開発の技術蓄積を生かして同社と連携し、その更なる応用分野の拡大、および性能向上を目指している。この場でご紹介できなかった具体的な個別のバイオ精製分野(タンパク質、抗体、ウイルス、核酸など)への応用データについても昭和電工(株)のwebページ(<http://www.sdk.co.jp/>)にて公開している。今後のバイオクロマトグラフィの効率向上の一助となれば幸いである。

文 献

- 1) Gagnon, P.: *BioProcess Int.*, **6**, 24 (2008).