

## › Neues Trägermaterial aus Borosilikatglas

# Affinitätschromatografie

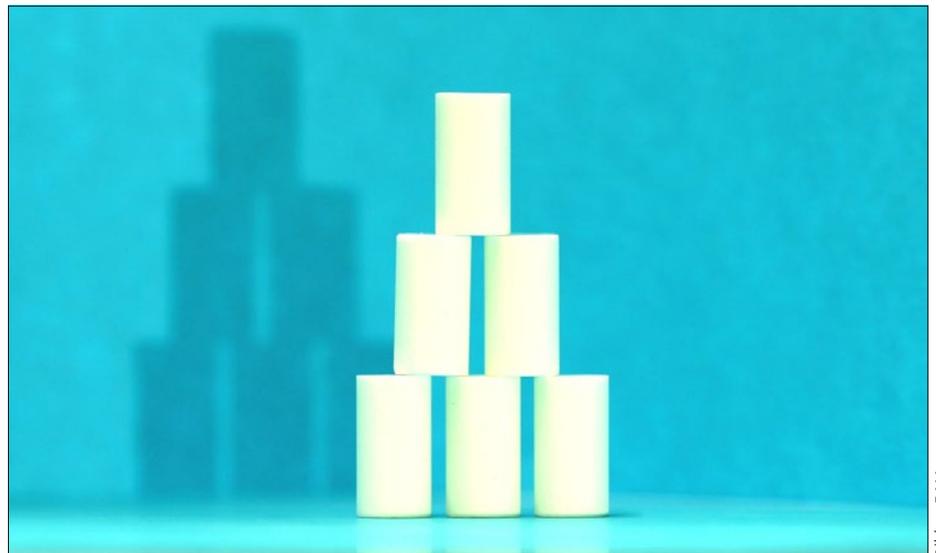
Therapeutische Antikörper sind innerhalb weniger Jahre zur wichtigsten pharmazeutischen Produktklasse aufgestiegen. Für 2023 werden weltweite Umsätze von über 200 Milliarden USD erwartet [Zion Market Research]. Auch diagnostische Antikörper sind mittlerweile unverzichtbare Produkte, auf deren Basis zahllose Immunoassays und andere Schnelltests entwickelt wurden. Neben der bereits sehr aufwendigen Herstellung von Antikörpern ist deren Aufreinigung aus komplexen Zellkulturmedien oder Blutseren und -plasmen zu einem Engpass in der Produktion und Nutzung dieser komplexen Proteine geworden. Schnelle und einfache Reinigungsmethoden für Antikörper sind daher sehr gefragt.

## › Marco Wilke<sup>1</sup> und Michael G. Weller<sup>1</sup>

Bisher werden die meisten Antikörpertrennungen mittels Gel- oder Polymerphasen durchgeführt, die in Niederdrucksäulen aller Art gefüllt werden. Diese Vorgehensweise hat jedoch einige Nachteile. So sind die meisten Phasen nicht sehr druckstabil und lassen daher nur geringe Flussraten zu. Dies führt zu sehr langen Trennzeiten, was unter Umständen sogar zu unerwünschten Abbaureaktionen (z. B. Proteolyse) führen kann. Zudem zeigen diese Säulen auch aufgrund von Inhomogenitäten des Säulenbetts, grossen Partikeldurchmessern und schlechter Diffusionskinetik breite Elutionspeaks mit ausgeprägtem Tailing, was zur Verdünnung der aufgereinigten Produkte führt, die dann anschliessend wieder aufkonzentriert werden müssen. Auch können solche Säulen typischerweise nur in einer Richtung betrieben werden, was sowohl die Reinigung erschwert, als auch besonders vorteilhafte Säulenschaltungen nicht zulässt.

### Innovative Monolithen

Um die Nachteile herkömmlicher Säulen zu umgehen, wurde an der Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM) in Berlin in Kooperation mit der Knauer Wissenschaftlichen Geräte GmbH ein neuartiges Monolith-Material entwickelt, das sich als universelles Trägermaterial für die

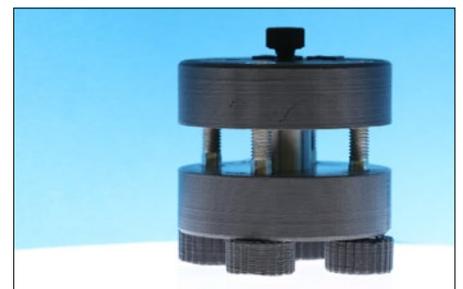


Bilder: BAM

Gestapelte Roh-Monolithen aus gesintertem Borosilikatglas mit einer Höhe von jeweils 15 mm. Das Material ist mechanisch robust und chemisch stabil.

Affinitätschromatografie und viele weitere Anwendungen anbietet.

Inzwischen wurden einige Modellanwendungen mit vielversprechenden Ergebnissen realisiert. Auch steht ein biokompatibles Halterungssystem auf der Basis eines Titan-/Polymer-Gehäuses zur Verfügung. Abbildung rechts oben zeigt eine Rasterelektronenmikroskop-Aufnahme des gesinterten Borosilikat-Monolithen mit seiner genormten Körnung, die ihm eine hohe Druckstabilität verleiht und dadurch hohe Flussraten zulässt. Der Monolithkern kann durch ein Kartuschensystem in wenigen Minuten ausgetauscht werden. Aufgrund der robusten physikalischen Eigenschaften und der chemisch stabilen Oberfläche, können die Säulen sehr oft regeneriert und so wiederverwendet werden, was ei-

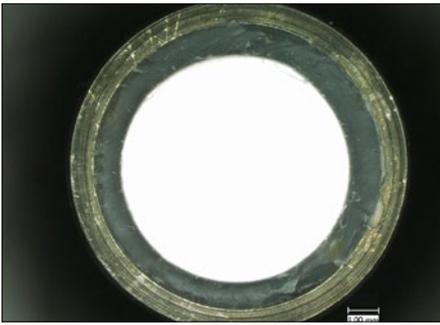


Durch Additive Fertigung (3D-Druck) hergestellte Säulenhalterung, die einen schnellen Austausch des Titan-ummantelten Glasmonolithen ermöglicht.

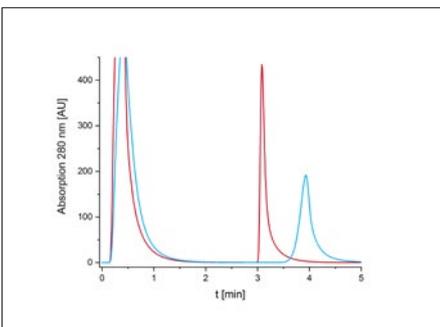
nen solchen Austausch daher nur selten notwendig macht.

Auch aus ökonomischer Sicht ist die häufige Wiederverwendbarkeit ein grosser Vorteil, da die meisten Bindeproteine sehr

<sup>1</sup> Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM)

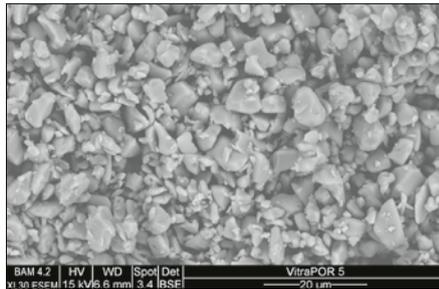


Stirfläche des Glasmonolithen (weiss) mit Silikonkautschukverklebung in druck- und korrosionsfestem, biokompatiblem Titanrohr.



Reinigung von Human-IgG aus Plasma mittels konventioneller Gel-Säule (blau) und Monolith (rot). Es wurden gleiche Mengen und Volumen aufgegeben. Der Peak bei 0,5 min zeigt die durchlaufenden Verunreinigungen. Der Peak bei etwa 3,2 bzw. 4 min zeigt das reine Immunglobulin (IgG).

teuer sind und eine hohe Regenerationsrate somit zu bemerkbaren Kosteneinsparungen führt. Durch die sehr schmale und hohe Peakform, die sich bei der Anwen-



Monolith-Rohmaterial (VitraPOR 5) unter dem Rasterelektronenmikroskop. Obwohl die Partikel unregelmässig geformt sind, ist der Rückdruck der Säule aufgrund der grossen Zwischenräume erstaunlich gering. Die Borosilikatglas-Partikel sind sehr hart und daher, im Gegensatz zu weichen Gelmaterialien, äusserst druckstabil.

derung der Monolithen ergeben, werden Aufkonzentrierungsschritte oft überflüssig und bringen so einen weiteren ökonomischen Vorteil mit sich.

### Anwendungen in der Praxis

In der heute realisierten Form eines Monolithen (15 mm, Ø 8 mm, 750 µL Volumen) können insbesondere Antikörper für analytische beziehungsweise diagnostische Zwecke aufgereinigt werden. So können polyklonale Antiseren, monoklonale Antikörper in Zellkulturmedien oder rekombinante Antikörper auf einer monolithischen Protein-A-Säule in einem Schritt aufgereinigt werden. Um eine geeignete Viskosität und optimale Pufferbedingun-

gen zu schaffen, sowie etwaige Adsorption zu minimieren, werden die Rohprodukte in einem geeigneten Bindepuffer verdünnt und filtriert. Nach einem kurzen Waschschrift wird mittels eines sauren Puffers die Elution des Reinprodukts eingeleitet. Der reine Antikörper verlässt die Säule in einem scharfen Peak. Zur Stabilisierung wird das Produkt üblicherweise auf einen neutralen pH eingestellt. In der Abbildung unten links ist deutlich zu sehen, dass konventionelle Säulen bei gleichem Injektionsvolumen breitere Peaks mit niedrigeren Konzentrationen liefern. Die Methode kann sowohl an Niederdruckanlagen (FPLC), aber dank der hohen Druckstabilität der Monolithen problemlos auch an HPLC-Geräten durchgeführt werden. Wird ein Autosampler und ein Fraktionssammler zur Hilfe genommen, können viele verschiedene Proben im Minutentakt schnell hintereinander aufgereinigt werden.

#### Kontakt

Dr. Michael G. Weller  
 Fachbereich 1.5 Proteinanalytik  
 Bundesanstalt für Materialforschung  
 und -prüfung (BAM)  
 Richard-Willstätter-Strasse 11  
 D-12489 Berlin  
 +49 30 8104 1150  
 michael.weller@bam.de  
 www.bam.de

## Was sagt der Wein mit seinen Tränen?



Visualisierung der Strahlinstabilität aufgrund einer räumlich variierenden Oberflächenspannung in vier Zeitschritten.

Giessen Sie Wein mit einem hinreichend grossen Alkoholgehalt ein, können Sie die bekannten Weintränen oder Kirchenfenster beobachten, welche innen am Glas auf und ab laufen. Ursache dieses Effekts ist der sogenannte Marangoni-Effekt, dessen Wirkung Sie auch mit Simulation verstehen können.

Die Software COMSOL Multiphysics® wird zur Simulation von Designs, Geräten und Prozessen in allen Ingenieurdisziplinen, der Fertigung und der wissenschaftlichen Forschung eingesetzt. Erfahren Sie, wie Sie mit COMSOL effizient den Marangoni-Effekt modellieren können.

[comsol.blog/tears-of-wine](https://comsol.blog/tears-of-wine)