



【vol. 7】 LNP 製剤用脂質 - フラッシュクロマトグラフィーによる精製方法

Mar 9, 2021 2:39:54 PM

Bob Bickler

COVID-19 は、ワクチンの開発研究を加速させた。今回開発されたワクチンの中には、保護されていないと治療効果が発揮される前に人間の体内で容易に分解されてしまう mRNA をベースにしたものもあります。

mRNA を保護し、その有効性を高めるために、製薬会社はバイオテクノロジー企業と協力して、より現実的な細胞送達方法を開発しました。最も広く使用されているのは、脂質ナノ粒子（LNP）によるカプセル化です。この技術は、マイクロフルイディクスを用いて、ワクチン、脂質、その他の賦形剤、アジュバントを LNP と呼ばれる小さな球状の粒子にまとめるものです。

脂質の混合物には、通常、カチオン性のもの、PEG ベースのリン脂質、コレステロールのような中性のものが含まれています。このような分子の性質上、蒸留や結晶化などの多くの精製技術は非常に困難であるか、実用的ではないため、業界はスケールアップという新たな課題に直面している。幸いなことに、脂質分子は既製の精製方法やプラットフォームに適している傾向があります。例えば、バイオタージの自動フラッシュクロマトグラフィー開発システム（Biotage® Selekt）やスケールアップのためのプラットフォーム（Biotage® Flash 400）では、順相と逆相の両方の方法で迅速なスケールアップが可能です。

歴史的には、これらの化合物はほとんど紫外線を吸収しないため、紫外線による検出が妨げられていた。この問題を解決するためには、別の検出技術（ELS）を用いるか、あるいは単に容量で回収して TLC で精製後に染色や炭化を行う必要があった。最新のフラッシュクロマトグラフィーシステムでは、フォトダイオードアレイ方式の UV 検出器が採用されており、対象となる分子の吸収範囲に焦点を合わせることで、検出性を高めることができる。

逆相フラッシュクロマトグラフィーでは、疎水性の違いを利用して化合物を分離するパーティションングメカニズムが働いており、下図の脂質のクロマトグラムでは、分子内の炭素数が多いほど化合物の保持力が高くなっています（図 1 参照）。

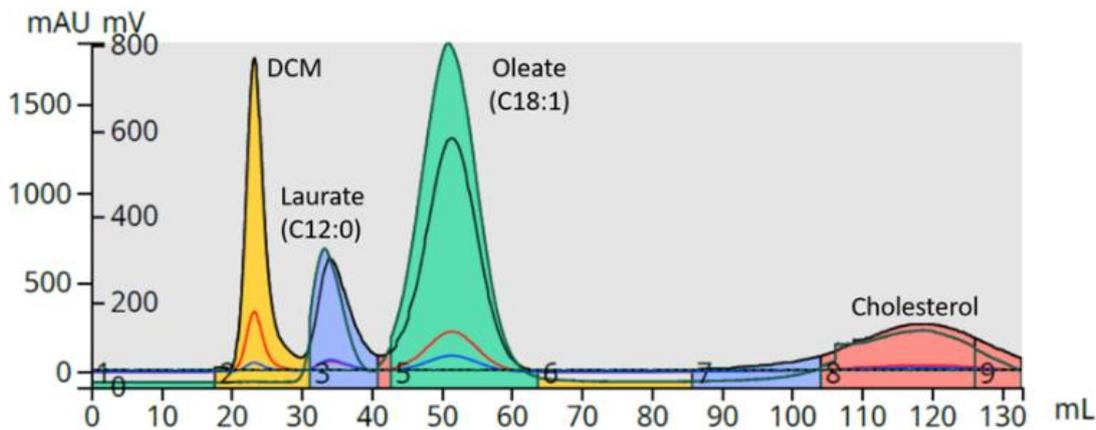


図 1.100%メタノール中のラウリン酸メチル、オレイン酸メチル、コレステロールを逆相フラッシュクロマトグラフィーで精製し、UV (198-210 nm) および ELS で検出したもの。完全に飽和したラウリン酸メチルを含め、すべての脂質が UV と ELS の両方で容易に検出される。

一方、順相クロマトグラフィーは、[吸着-脱着のメカニズム](#)を用いて、極性の違いにより化合物を分離する。親油性の化合物は早く溶出し、極性の高い化合物は後から溶出する。脂質の精製では、脂肪酸タイプの化合物はわずかしが保持されず、コレステロールやその他の極性の高い化合物はよりよく保持されるため、この方法は有益である (図 2)。

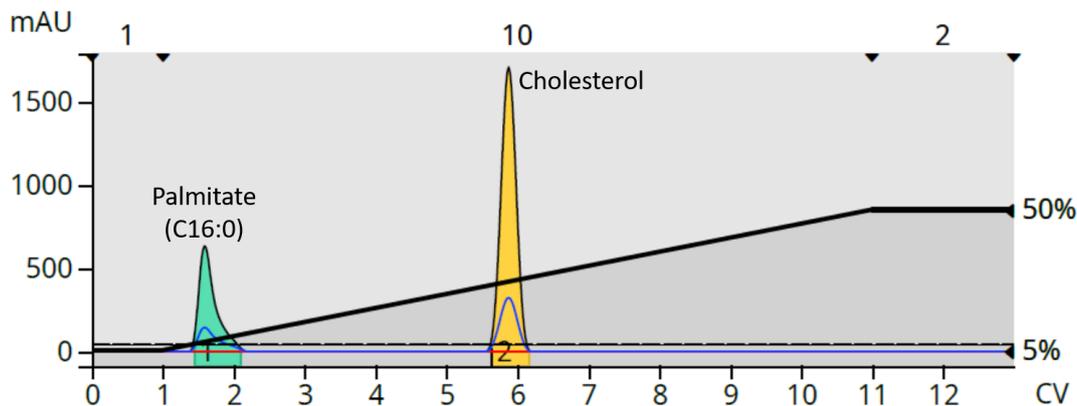


図 2.パルミチン酸メチルとコレステロールの順相フラッシュクロマトグラフィー精製。完全に飽和したパルミチン酸は親油性が高すぎて保持されないが、水酸基を持つコレステロールはよく保持される。

これらの例は、小型のフラッシュカラム (10g) を用いて低スケール (100mg 以下) で行われましたが、Biotage 社の 50kg までの大型カラム ([Biotage® Flash 400L](#)) を用いれば、精製方法は数百グラムからキログラムスケールまで容易にスケールアップできます。

脂質の生産に携わっていて、脂質を精製する必要がある場合は、選択肢を検討してみてください。目的に応じて、順相または逆相のフラッシュクロマトグラフィーが役立つ可能性が高いです。

精製を早めることについて、もっと知りたいと思いませんか？
以下のリンクをご覧ください。

[Learn More](#)

元の記事 ; <https://scaleup.biotage.com/4s-blog/lipid-nanoparticles-chromatographic-purification-options>

※後継記事

<https://www.biotage.com/blog/lipids-for-lnp-formulations-flash-chromatography-purification-options>