

# Vissen naar therapeutische eiwitten

Opkomende techniek *radial flow chromatography* verlegt grenzen in eiwitpurificatie

Hoe isoleer je therapeutische antilichamen, weesgeneesmiddelen en plasmufactoren uit complexe mengsels terwijl je ook nog eens bespaart op milieu, tijd en kosten? Als het aan het Drentse bedrijf [Proxcys](#) ligt, is het antwoord: met *radial flow chromatography*.

Tekst: [David Redeker](#)

De zuiveringswereld begint langzaam te wennen aan *radial flow chromatography*. De techniek is compact, opschaalbaar en gevalideerd.

Eerst maar even de basis. Radial flow chromatography: wat is dat? Kort gezegd, is het is een manier om een specifiek eiwit te isoleren uit een celkweek of een fermentatie. Het eiwit wordt uit het mengsel gevist door microscopisch kleine bolletjes.

'Radial' is de nieuwe tegenhanger van de conventionele axiale kolom. De axiale kolom is breed en plat. De radiale kolom is slank en hoog. Bij een axiale kolom stroomt de vloeistof verticaal, van boven naar beneden. Bij een radiale kolom stroomt de vloeistof horizontaal, van buiten naar binnen.

Een van de voordelen van de radiale kolom is dat hij een stuk minder ruimte inneemt en een stuk lichter is dan een axiale kolom. Daardoor kunnen bedrijven met een kleinere en dus goedkopere cleanroom toe.

## Proxcys: wereldspeler uit Drenthe

Het Nederlandse Proxcys is een opkomende speler in de wereld van de *down stream processing*. Het bedrijf uit het Drentse Nieuw-Amsterdam werd in 2003 opgericht door Marcel Raedts. In 2004 verkocht het bedrijf zijn eerste industriële kolom. Dat was een 20-litermodel waarmee het Russische instituut voor biotechnologie insuline ging produceren. Inmiddels heeft de Proxcys twintig medewerkers en levert het wereldwijd kolommen van enkele milliliters tot exemplaren van 1200 liter. Klanten zijn onder andere Synthon, GSK, Roche, HLR, Merk-Serono, EMD, Lonza, Boehringer Ingelheim, DSM, Patheon, Pfizer, Sanofi-Aventis. Proxcys verzorgt ook de bijbehorende randapparatuur om de kolom te vullen en het proces aan te sturen.

Thijs Groenewegen, technisch verkoper bij Proxcys, somt de voordelen van de radiale kolom nog even op: "Er zitten wieltjes onder, dus je kunt hem in en uit de cleanroom rijden. Hij is lineair op te schalen. Het 'pakken' van de kolom kan automatisch, is reproduceerbaar en dus gedocumenteerd. We kunnen in 10 tot 30 minuten een kolom pakken. De kolommen worden specifiek per klant ontworpen. We passen de kolom in in het proces van de klant."

## Eiwitten vissen uit bloedplasma

De Russen, de eerste afnemers van een kolom van Proxcys, gebruiken de scheidingsmethode om insuline te produceren. Een ander voorbeeld waarbij de radiale flow chromatography goed werkt, is bij het isoleren van eiwitten uit bloedplasma.

Het conventionele fractioneringsproces, dus zonder radiale kolommen, stamt uit de Tweede Wereldoorlog. Het is bedacht door Edwin J. Cohn, bestaat uit veel stappen, kost een berg energie en levert uiteindelijk per donor slechts twee plasmufactoren op. De bekendste plasmufactoren zijn de stollingsmiddelen fibrinogeen en trombine, het anti-shockmiddel albumine en de onder andere voor kankertherapie gebruikte IgG's.

[ZIE VOLGENDE PAGINA]

De farmaceutische industrie gebruikt tot nu toe nog steeds de principes uit het bewerkelijke, energieverslindende, conventionele fractioneringsproces van Cohn. Tot nu toe, want sinds de zomer van 2015 is er bij het Canadese bedrijf Proxcys een nieuw fractioneringsproces in bedrijf. De basis vormt een serie radiale kolommen van Proxcys. Elke kolom vist een soort plasma-eiwit uit het plasma. Het levert per donor niet twee maar zes of meer therapeutische producten op. En ook nog eens met een flink hogere opbrengst. Omdat het proces ook de voorheen onrendabele fracties uit het plasma kan isoleren, vormt het ook een oplossing om weesgeneesmiddelen te produceren.

### **Hamstercellen wassen**

En hoe zit het met de robuustheid van de kolommen? Hoe 'ruw' kan het te scheiden mengsel zijn voordat de kolom dichtslibt? Dat is een goede vraag waarop Proxcys ook zelf wel eens het antwoord wilde weten. Dankzij een EU-project kon het bedrijf hun kolommen onlangs tot het uiterste testen. Proxcys gebruikte daarvoor een celkweek op basis van eicellen van Chinese hamsters. De hamstercellen groeien in een bioreactor en scheiden menselijke antilichamen af. Deze IgG's komen tussen de hamstercellen terecht. Vervolgens is het de kunst om de IgG's te isoleren. En dat is Proxcys nu gelukt direct vanuit de kweek suspensie, dus zonder vooraf te filteren. Het onderzoek bestond uit twee delen.

Eerst was het de vraag of de cellen door de kolom konden komen zonder de kolom te verstoppen. Bij een normale kweekconcentratie van twintig miljoen cellen per milliliter gingen de cellen als een zonnetje door de kolom. Er was geen sprake van een, door procestechnologen verafschuwde, drukverhoging. Ook bij veertig miljoen cellen liep het gesmeerd. Bij zestig miljoen cellen ontstond er een lichte verhoging in de drukval. En pas bij tachtig miljoen cellen per milliliter blokkeerde de kolom. Het experiment verliep goed met kleine volumes van 25 milliliter en ook met de grotere 1-literkolom.

Het tweede onderdeel van het experiment was de vraag of het IgG uit het mengsel kon worden gehaald en of er geen hamstercellen worden beschadigd. Wat bleek? Maar liefst 98 procent van het IgG wordt door de radiale kolom uit het mengsel gevist. En er waren geen cellen beschadigd geraakt.

### **Besparen op milieu, tijd en kosten**

De voorbeelden van het vissen van eiwitten uit bloedplasma en het wassen van hamstercellen laten zien dat *radial flow chromatography* een veelbelovende techniek is. Het proces is niet alleen efficiënter, maar het bespaart ook op milieu, tijd en kosten. De komende jaren zal *radial flow chromatography* waarschijnlijk behoorlijk wat grenzen gaan verleggen op het gebied van eiwitpurificatie.

*Dit artikel komt van [www.processinnovation.nl](http://www.processinnovation.nl) en is gebaseerd op de presentatie die Thijs Groenewegen (Proxcys) op 15 september 2015 gaf bij de bijeenkomst van het procestechnologische kennisnetwerk NL GUTS. Meer informatie over NL GUTS en over de andere procestechnologische kennisnetwerken is te verkrijgen via [www.processinnovation.nl](http://www.processinnovation.nl).*