Lil' Tunaのご紹介：プレートベースの自動ベンチトップバッファー交換装置

はじめに

タンパク質の研究においては、候補物質を発見および開発するプロセスのすべての段階でバッファー交換（BX）と濃縮が必須です。精製から機能アッセイ、そして製剤スクリーニングに至るまで、BXは常にワークフローの一部です。従来の手法は、ばらつきが生じたり、膨大な準備や手作業が必要であったり、1度に1個のサンプルしか処理できないなどの問題がありました。すなわち、特に多数の候補物質や条件を処理する必要がある場合、サンプル調製のルーチン作業が大きな障壁となる可能性があります。

Lil' Tunaは、ベンチトップ上でプレートベースの消耗品により96%を超えるタンパク質回収率でBXと濃縮を自動で行えますので、人手を介することなく1～96個のサンプルの処理を実現します(Figure 1)。ハイスループットの同時処理により、より多くのサンプルをより短時間で処理できますので、前処方化研究または処方スクリーニング、安定性試験や開発可能性の検討、分析前のサンプル調製時のばらつきの低減に理想的です。小型の装置本体と使いやすいソフトウェアによって、単体での簡便に使用でき、もまた、APIとアクセスしやすいプレートベースの消耗品によって、他の自動化ソリューションとの統合も容易です。

BXプロセスを高速化し、手作業を減らし、一貫性を向上させるために、Lil' Tunaは圧力駆動型の限外ろ過／ダイアフィルトレーション（UF/DF）法を利用しています（Figure 2）[1–3]。まず、超音波センサーを用いて、各ウェル内の容量を測定します。次に、サンプルをチャンバーへと降下させ、振とうしながらガスで加圧してろ過を行うことで、膜界面でのビルドアップ（膜ファウリングとも呼ばれます）を防ぎながら高速かつ一様なろ過流速を保つことができます。この加圧と振とうの組み合せにより、UF/DF工程に起因する凝集のリスクが抑えられます。その後、容量を再びチェックして、除かれた分、新しいバッファーを追加します。この間に除かれた液量に基づいて、次のサイクル時間が自動的に調節されます。各サイクルでの保持液の量は測定により求められているので、リアルタイムでサイクル時間を調整する、プロセス最適化・を実現しています。サンプルが目標交換率および容量に達するまでこのサイクルを繰り返し、最後にオプションで濃縮を実行します。システムの操作はシンプルで、目標交換率、最終容量、



Figure 1: Lil' Tunaは、自動化にも対応できる、また単独でも使用できるプレートベースのベンチトップバッファー交換システムです。

サンプルフォーマットを設定するだけで済みます。後はLil' Tunaにお任せください。

フィルターデバイスの種類にかかわらずこの自動UF/DFによる方法は同じなので、ニーズに合わせてLil' Tunaのスケールを調節できます。大規模スクリーニングの場合、SBSフォーマットプレートのUnfilter 96によって1ウェルあたり100～450 µLの容量で、96個のサンプルを処理できます（Figure 3A）。Unfilter 24では、SBSフォーマットプレートに0.45～8 mLで24サンプルまで処理できます（Figure 3B）。もっと小規模の場合は、1本あたり0.45～8 mLの処理が行えるUnaを用いて1～6サンプルを一度に処理できます（Figure 3C）。

UnaおよびUnfilterは、膜の分画分子量（MWCO）が10、30および100 kDaのオプションがあります。Unfilter 96には3 kDaの膜もあります。膜は再生セルロース（RC）製で、タンパク質との相互作用が最小限に抑えられ、高い交換後回収率を維持できます。ポリエーテルスルホン（PES）との適合性が高いサンプルの場合、UnaでMWCOが30および100 kDaのPES膜も選択できます。この幅広い消耗品オプションにより、サンプルの容量、スループット、サイズ、化学的要件に応じて最適なものを見つけ、同時に96%以上のサンプル回収率を実現することができます。

本アプリケーションノートでは、Unfilter 24とUnfilter 96を用いて、Lil' Tunaが正確な目標交換率、濃度および容

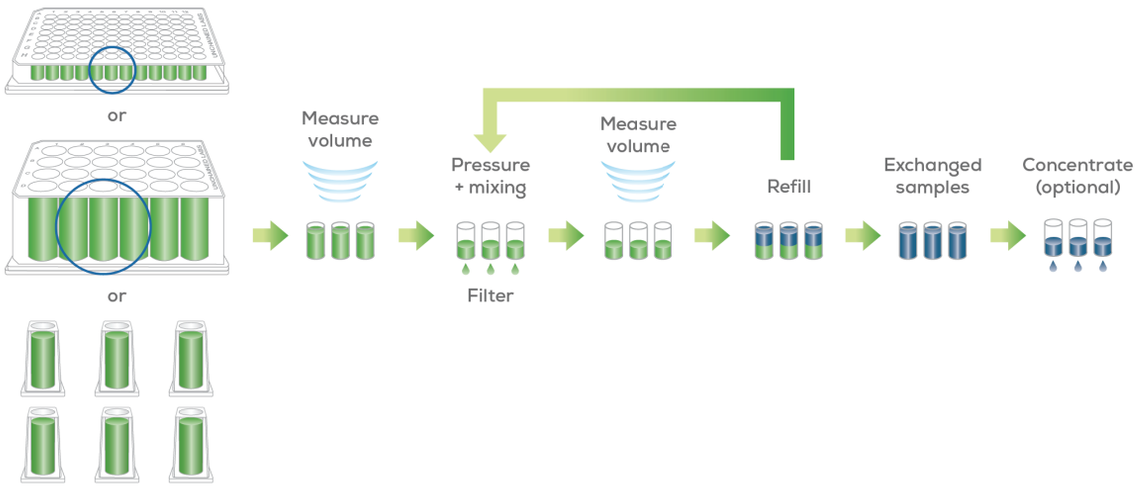


Figure 2: Lil' Tunaは、これまでの装置で実績ある圧力駆動型のUF/DFアプローチを使用しています。各サイクルでは、まず、超音波センサーを用いてサンプル容量をチェックします。次に、穏やかに振とうされながら加圧されることで、デッドエンドろ過になってしまったり、膜ファウリングが生じてしまうのを抑制しながらろ過を行います。その後、容量を再びチェックし、Lil' Tunaは各ウェルに交換バッファーを補充します。サンプルが目標交換率と容量に達するまで、このサイクルが繰り返されます。

量でタンパク質や抗体をバッファー交換でき、高い回収率を実現し、同時にサンプルの品質も維持できることを示します。

方法

ヒトIgG（hIgG）を計算上濃度が0.1、1および10 mg/mLとなるように0.9% NaCl水溶液に溶解しました。ウシ血清アルブミン（BSA）をリン酸緩衝生理食塩水（PBS）で10 mg/mLとなるように溶解しました。各実験の指定したタンパク質種と容量を、予め湿潤させた再生セルロースの30 kDa MWCO Unfilter 24、10 kDa MWCO Unfilter 96または30 kDa MWCO Unfilter 96のいずれかに加え、PBSへのバッファー交換を行いました。

バッファー交換の実験条件には、濃度0.5～50 mg/mLのタンパク質をバッファー交換する場合のデフォルトパラメータを使用しました。700 rpmでの振とう、サイクルごとに66%の容量をろ別するものとし、目標交換率は96%としました。E1%はIgGで13.7、BSAで6.67とし、バッファーブランクを用いて、Stunnerで初期および最終タンパク質濃度とサイズを確認しました。総処理時間、初期容量および最終容量、」バッファー交換率はLil' Tunaで測定および算出しました。

粒子サイズのすべての結果は、Stunnerの動的光散乱（DLS）測定により得ました。PBSおよび0.9% NaClのバッファー粘度はStunnerのデフォルト値である0.92および0.905 cPをそれぞれ使用し、25℃での屈折率はいずれも1.334としました。散乱角144° におけるZ平均粒子径を求めました。回収率は、Lil' Tunaで測定した初期容量および最終容量、ならびにStunnerで測定した初期濃度および最終濃度から、次式を用いて算出しました。

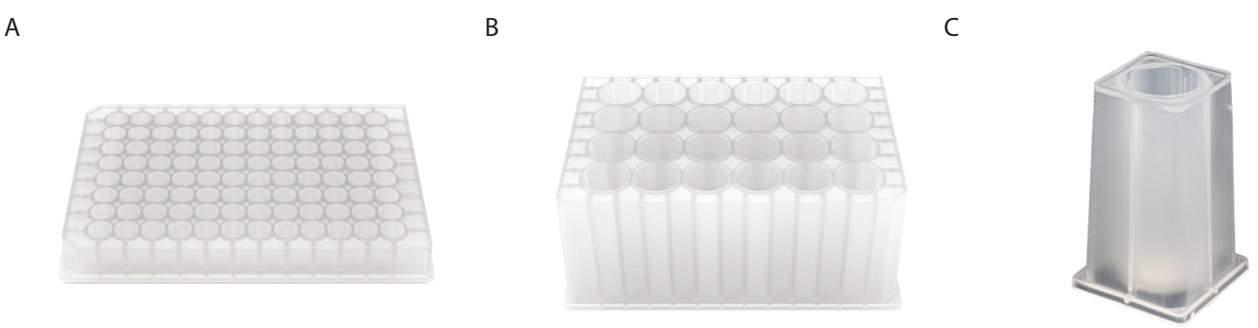


Figure 3: Lil' Tunaの消耗品は、お客様のニーズに合わせて設計されています。Unfilter 96（A）は、100～450 µLの、最大96サンプルを処理できます。Unfilter 24（B）は、0.45～8 mLの最大24サンプルを処理できます。Una（C）は、Unfilter 24と同じ容量範囲で一度に1～6サンプルを処理できますので、小規模の処理に最適です。

	Initial	Target	Final
Fill Volume (µL)	428 ± 9.7	450	441 ± 15
% exchange	–	96	99.7 ± 0.3
% recovery	–	≥96	100 ± 2
Z-average diameter (nm)	7.1	–	7.2 ± .3

Table 1: Unfilter 96（10 kDa MWCO）を用いてBSAのPBS溶液からPBSに交換した際の初期、目標および最終充填量、交換率、回収率、BSAのZ平均粒子径。最終値および初期充填量は96ウェルの平均値±1標準偏差。

結果

最新のハイスループットのタンパク質生産ワークフローから溶出バッファーを手作業で除去する、あるいは製剤安定性試験を設計し、実行することは、生産性の面で大きなボトルネックとなっています。Lil' Tunaでは、Unfilter 96により100～450 µLの96サンプルまでを一度に交換・濃縮することで、この問題を解決します。10 mg/mLのBSA原液を、Unfilter 96のすべてのウェルを用いて、PBSにバッファー交換しました。最終容量および交換率は目標値の4%以内と極めて正確で、さらに回収率は目標値を上回っており（Table 1）、96ウェル中95ウェルで回収率が96%以上でした。BSAサンプルのZ平均粒子径は交換前後で同等でした。

$$\%\ recovery = \frac{final\ volume \times final\ concentration}{initial\ volume \times initial\ concentration} \times 100$$

初回の候補物質または製剤スクリーニングの後、タンパク質サンプルの数は通常減少しますが、その量は増える傾向があります。Unfilter 24プレートをご使用いただくことで、通常行われるのと同様に、Lil' Tunaを低容量のハイスループットから中容量のサンプル処理へと移行できます。Unfilter 24を用いて10 mg/mL IgGを0.9% NaClからPBSにバッファー交換した際の最終容量と交換率は目標どおりでした（Table 2）。交換前後のZ平均粒子径は一貫しており、タンパク質回収率はすべてのウェルで96%を超えていました。サンプルに合ったMWCOの膜をご使用いただくことで、Lil' Tunaはサンプル分子量の大小を問わず、タンパク質や抗体を最適に処理できます。

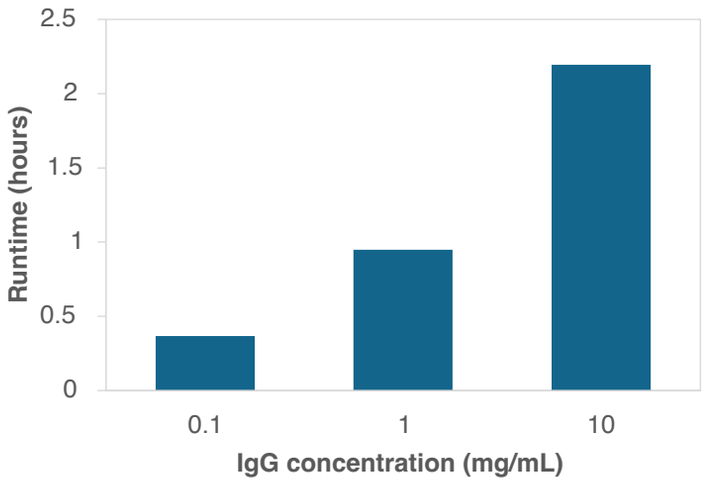
Lil' Tunaでのバッファー交換をするには、約15分の手作業での準備が必要です。処理中、超音波センサーが各ウェル内の容量変化を追跡し、リアルタイムでサイクル時間を調節してプロセスを高速化し、すべてを目標通りに進行するよう調整します。ろ過速度は初期タンパク質濃度などの要因によって変化しますので、この高レベルのシステムコントロールにより、Lil' Tunaは初期研究段階から製剤化に至るまで、幅広い濃度のサンプルを取り扱うことができます。30 kDa MWCOのUnfilter 96を用いて、0.1、1および10 mg/mL hIgGの8ウェルのバッファー交換を2.2時間未満で終わらせることができました。検討したすべての濃度が初期濃度に近い値で保たれ、狙ったとおりの交換率、そして96%以上という高いタンパク質回収率が得られました（Figure 4）。濃度にかかわらず、仕掛けた後は手放しで処理が進行しますので、他のもっと有用な作業に集中していただくことができます。

結論

Lil' Tunaはバッファー交換と濃縮を自動化しますので、研究者は意思決定に必要なデータの取得により多くの時間を割けるようになります。フレキシブルに選択可能な消耗品フォーマットにより、一度に1～96個のサンプルを処理できるため、大規模なプレートベースのスクリーニングや中容量のサンプル処理から、貴重な小規模サンプル数の実験まで、あらゆるものに対応できるベンチトップワークフローを手にする

	Initial	Target	Final
Fill Volume (µL)	7.7 ± 0.03	8	7.2 ± 0.08
% exchange	–	96	96.6 ± 0.3
% recovery	–	≥96	100 ± 1
Z-average diameter (nm)	12.6	–	13.3 ± 0.4

Table 2: Unfilter 24（30 kDa MWCO）を用いてhIgG0.9% NaCl水溶液からPBSに交換した際の初期、目標および最終充填量、交換率、回収率、Z平均粒子径。



	0.1 mg/mL	1 mg/mL	10 mg/mL
Final concentration (mg/mL)	0.1 ± 0.002	1.0 ± 0.03	10.5 ± 0.2
% exchange	96.7 ± 0.3	98.7 ± 0.5	98.5 ± 1.2
% recovery	97 ± 2	98.3 ± 2.6	96.2 ± 2.2

Figure 4: Unfilter 96（30 kDa MWCO）を用いて0.1、1および10 mg/mL hIgG各8ウェルを0.9% NaClからPBSに交換した際の総処理時間、最終濃度、交換率、回収率。値は8ウェルの平均値±1標準偏差。

ことができます。目標除去率と交換率を設定するだけで、Lil' Tuna内蔵のプロセスコントロールによってすべてが安定した状態に保たれます。リキッドおよびプレートハンドリングロボットシステムが容易にアクセスできるLil' TunaのAPIおよびSBSフォーマットプレートにより、BXを他のラボ自動化システムと統合できます。シングルユースのウェルはクロスコンタミネーションリスクの抑制に役立ちます。また、複数のMWCOや材質の膜をご用意していますので、分子種、容量、アプリケーションに合った消耗品を簡単にお選びいただけます。サンプルへのダメージが少ない圧力駆動型UF/DF、リアルタイムの容量測定、そして自動調整されたサイクル時間により、Lil' Tunaはタンパク質およびmAbのワークフロー全体を通して一貫した交換を可能にし、サンプルの質を保ち、96%以上の回収率を実現します。

参考文献

1. Leveraging high-throughput analytics and automation to rapidly develop high-concentration mAb formulations: integrated excipient compatibility and viscosity screening. L Xin, et al. Antibody Therapeutics. 2024; 7(4):335–350.
2. Predictive Nature of High-Throughput Assays in ADC Formulation Screening. BJ Mills, et al. Journal of Pharmaceutical Sciences. 2023; 112(7):1821–1831.
3. Reduction of monoclonal antibody viscosity using interpretable machine learning. EK Makowski, et al. mAbs. 2024; 16(1):2303781

Unchained Labs
東京都千代田区神田須田町 2-9-2 PMO神田岩本町 3F
Phone: 03-3526-2811
Email: unchained.labsjp@unchainedlabs.com

© 2026 Unchained Labs. 禁無断複写・転載。Unchained Labsのロゴおよび Lil' TunaはUnchained Labsの商標および／または登録商標です。掲載されているその他すべてのブランドや製品名は、各社が所有する商標です。

Rev A