

学 位 論 文 内 容 の 要 旨	
学位論文題目	連続操作によるクロマトグラフィー分離の生産性推定方法
氏 名	杉山 征輝
<p>タンパク質医薬品や食品のクロマトグラフィー精製操作は非効率的で高コストなプロセスのため効率化が望まれている。クロマトグラフィーの効率化すなわち生産性の向上には、適切なモデルと評価方法の構築が必要である。クロマトグラフィーは基本的に回分操作であるが、繰返連続注入操作(repeated cyclic operation :RCO)による連続化も可能である。また、生産性の定義も容易である。複数本のカラムを切替えて、擬似的に連続操作をする疑似移動層式(SMB)クロマトグラフィーは操作変数が多く、また生産性の定義が難しい。このため、最適化された RCO クロマトグラフィーと SMB の生産性比較はほとんど行われておらず、SMB の優位性についても明確ではない。本研究では、連続クロマトグラフィーとして RCO および SMB の生産性推定方法の確立を目的とした。</p> <p>1 章では 通常の回分式クロマトグラフィー、RCO および SMB の原理について説明している。また、回分式と SMB の比較を行っている論文についてのレビューをしている。</p> <p>2 章では、スチレンジビニルベンゼン (PS-DVB) 樹脂を用いた2種類のポリフェノール (カテキンとエピガロカテキンガレート) のエタノール/水混合系移動相によるクロマトグラフィーをモデルとし、等分離度曲線に基づき、RCO と単回操作の比較、及び最大生産性の簡便な予測方法を開発している。直線勾配溶出実験によってエタノール濃度 I の関数として分配係数 K を、等組成溶出実験によって I の関数として HETP-u の関係を決定し、計算に用いる。移動相溶媒量と操作時間の関係を整理した結果、分配係数差が低い条件では、回分式の単回操作に比べて、RCO の方が使用溶媒量あたりの運転時間が短く、効率的な運転になることが分かった。一方で、大きい分配係数差では、回分式の単回操作と RCO の間で操作方法の違いは見られなかった。また、充填容積あたりの生産性かつ移動相消費量あたりの生産性には、最大生産性をとる最適条件 が存在することが分かった。実際の操作では圧力損失 (線速度) の制約境界条件も影響していると推定している。</p> <p>3 章では、2 章で得られた RCO における最大生産性 P_M の操作条件結果を基にした SMB の運転条件決定と生産性計算方法を提案し比較計算を行った。この方法では、RCO の結果から SMB の試料供給量と溶媒(移動相)供給量、およびゾーン3の線速度をはじめに決定する。この結果、残りの操作パラメーターは簡単に決定され、SMB 数値シミュレーション計算が実行できる。SMB 計算結果の純度 X と収率 Y を算出した結果、RCO に比べて高いときと低いときが存在した。この理由について、分配係数や理論段数に基づいて考察している。</p> <p>逆相系、イオン交換、疎水性相互作用クロマトグラフィーにおいては、移動相組成により分配係数を制御することができる。SMB は、難しい2成分分離すなわち、分配係数差が小さい分離において効率的な方法であると主張されている。一方で、分配係数差が >1 のように大きく、物質移動が小さい(HETP が小さい)ときは RCO でも十分に効率的な分離が可能であり、場合によっては SMB より適していることも多い。生産性は純度と回収率の設定値や、目的成分と不純物の構成比率によっても大きく変化する。本研究で提案した方法を用いて、広い条件下での SMB と RCO との生産性の比較をすることにより、それぞれの方法のメリットがでる操作条件あるいはクロマトグラフィー条件が明確になることが期待される。</p>	

学位論文審査の結果及び最終試験の結果報告書

(博士後期課程博士用)

山口大学大学院医学系研究科

報告番号	医博甲 第 1500 号	氏名	杉山 征輝
最終試験担当者		主 査	山本 修一
		審査委員	赤田 倫治
		審査委員	堤 宏守
		審査委員	田中 一宏
		審査委員	吉本 則子
【論文題目】			
連続操作によるクロマトグラフィー分離の生産性推定方法 (Methods for predicting the productivity of continuously operated chromatography)			
【論文審査の結果及び最終試験の結果】			
<p>バイオ医薬品では複数のクロマトグラフィーによる精密分離が必要である。一方、食品では、コストの問題から、できるだけ効率の良い分離操作が要求される。回分式操作であるクロマトグラフィーを連続化することにより生産性が向上すると考えられており、典型的な連続操作である疑似移動層式クロマトグラフィー(SMB)が利用されている。しかしながら SMB と繰り返し操作回分式クロマトグラフィー(RCO)を比較しようとした場合、SMB では多くの操作変数が存在し、統一した条件での比較は行われておらず、比較方法や条件設定の難しさの課題は解決できていない。そのため、どのような条件のときに SMB のメリットが生じるかについては、現在も明確な推定方法は確立されていないのが現状である。</p> <p>本論文では、回分式クロマトグラフィーと SMB の分離効率の違いについて、最適な分離方式選定の指標を得ることを目標として、公平な比較方法を提案し、シミュレーションにより生産性の比較をして、有用な新たな知見を得ている。</p> <p>1 章では、連続クロマトグラフィーの方法についてレビューしている。</p> <p>2 章では、スチレンジビニルベンゼン樹脂を用いたエタノール/水混合系移動相によるポリフェノールの逆相クロマトグラフィー分離をモデル系として採用し、等分離度曲線に基づき、回分式クロマトグラフィーの最大生産性の簡便な予測方法の検討を行った。直線勾配溶出実験から得られたエタノール濃度(以降 I)の関数としての分配係数 K と、等組成溶出実験から得られた HETP と移動相線速度の関係を利用し、生産性の計算を行った。その結果、単位時間・充填剤容積あたりの試料供給量で定義される生産性 P と移動相消費量を考慮した生産性 P^* には、最大値となる I が存在することが分かった。また単純な回分式より繰り返し操作クロマトグラフィー(RCO)の生産性が高いことも明らかとなった。</p>			

3章では、2章のRCOの最大生産性分離条件をもとに、SMBの操作条件を設定する方法を考案した。設定条件でSMBの数値シミュレーションを行い、純度と回収率を算出した。その結果、分配係数差が大きい条件では、SMBに比べて、RCOの生産性は高い結果が得られた。これは、分配係数差が大きい(分離が容易な)条件においては、回分式クロマトグラフィー操作においても高い試料供給量の運転が可能であることが要因と考えている。従来SMBは回分式クロマトグラフィーより高い生産性が得られると考えられていたが、分配係数差、設定純度・回収率、使用している充填剤の物質移動特性により、RCOのほうが有利な条件もあることが示唆された。

SMBには標準型以外にもさまざまな改変型もあり、また、設定純度・回収率も製品ごとに異なる。さらには、導入するときには初期設備投資と製造期間を考慮する必要がある。

公聴会には、本学の教員・学生、化学会社および製薬会社の研究者が出席し、質疑応答がなされた。主な質問は下記の2つにまとめられた。

- [1] 連続運転における変動について:使用しているカラムの劣化はあるのか。劣化をモニタリングできるのか。明らかな劣化が起きたときはどのように対応するのか。劣化の経時変化をモデルに反映することはできるのか。
- [2] 設定条件による分離性能について:条件が不適切であれば、連続操作中に分離ができなくなることになるのか。分配係数差以外にどのようなパラメーターが重要であるのか。

どの質問に対しても発表者からの確かつ明確に回答がなされた。

以上より、本研究は独創性、新規性に優れ、博士(学術)論文に十分値するものと判定した。論文内容および審査会、公聴会での質問に対する応答などから、最終試験は合格とした。なお、主要な関連論文の発表状況は下記のとおりである。

関連論文 計3編(査読付き国際会議のプロシーディング1編含む)

- (1) 著者氏名 : Noriko Yoshimoto, Yukiteru Sugiyama, Shuichi Yamamoto
論文題目 : A simple method for calculating the productivity of polyphenol separations by polymer-based chromatography
学術雑誌名 : Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry
巻、号、頁 : Vol.81, No.4, pp.812-816
発行年月 : 2017年3月発行
- (2) 著者氏名 : 杉山征輝、吉本則子、山本修一
論文題目 : 最適化された繰り返しクロマトグラフィー操作条件に基づいた連続クロマトグラフィーの操作条件および生産性計算方法
学術雑誌名 : 日本食品工学会誌
巻、号、頁 : Vol.19, No.1
発行年月 : 2018年3月発行
- (3) 著者氏名 : Hiroshi Kojyo, Yukiteru Sugiyama, Yu Isakari, Noriko Yoshimoto, Shuichi Yamamoto, Ales Podgornik
論文題目 : Temperature effects in adsorptive chromatography of polyphenols,
学術雑誌名 : Proceeding of APCCChE 2015 Congress
巻、号、頁 : Paper No. 3135118
発行年月 : 2015年9月発行