

| 学 位 論 文 要 旨 (Summary of the Doctoral Dissertation) | |
|--|---|
| 学位論文題目 (Dissertation Title) | Modeling and Simulation for Integrated Capture Chromatography of Proteins - Process Design and Optimization |
| 氏 名 (Name) | CHEN CHYI-SHIN |

Chromatography is considered as a key operation in the downstream process (DSP) of biopharmaceuticals, including proteins. Therapeutic proteins such as monoclonal antibodies (mAbs) with high economic values in the global market require immediate innovation in the purification step to adapt to the increased throughput from upstream. Authorities have also initiated changes toward a more modernized pharmaceutical manufacturing platform which is agile and flexible without extensive oversight. Instead of the conventional batch operation and empirical models, the design and application of in silico modeling and simulation for integrated multi-column processes to improve their performance in capture chromatography steps have been explored in the dissertation.

Due to the fact that mechanistic models can reveal adsorption and mass transfer behaviors better in the chromatography compared to statistical models, mechanistic frameworks were applied in the study. Ion-exchange and protein A chromatography, the main categories of therapeutic protein chromatography were examined. With an example of oligonucleotides, the mass transfer phenomenon of biomolecules in different types of ion-exchange resins was explored by mechanistic models. The results demonstrate the effectiveness of modeling approaches to understand the chromatography process of biopharmaceuticals.

By focusing on the DSP of mAbs, multi-column continuous chromatography was examined with IgG samples. The study covered the repeating batch to 4-column settings in the continuous periodic counter-current (PCC) chromatography, with development in modeling and simulation tools for process quantification and evaluation. Process performances including productivity, capacity utilization, and buffer consumption were investigated by simulations with the aim to increase productivities and lower buffer consumptions, which are the main bottleneck in the current DSP. The critical operation parameter, breakthrough percent (BT%) for column switching in PCC processes, requires the information from binding capacity, mass transfer, and non-loading operations. To obtain the optimal BT% under synchronized conditions, numerical solvers developed from mechanistic models were employed. It was found that over 20% improvement in buffer consumption and resin utilization can be observed in PCC processes while the same productivity as batch operation is maintained. Furthermore, regressive relations were developed for predictions of process performances and BT% based on the findings from PCC simulations. With high coherence in R^2 over 0.95, the linear regression function can act as an accelerated method in the PCC process design.

Finally, a new strategy of linear flow-velocity gradient (LFG) in the loading step was explored as a supplement to increase process efficiency. The method controls the total column capacity and the loaded amount as functions of time. Based on the relationship between the dynamic binding capacity and residence time, the gradient time of LFG was obtained. The optimal flow velocities and time gradients were examined by scanning through the range of applicable residence times. A case

study of the 4-column PCC process is presented. By integrating a linear decreasing flow gradient in the PCC loading operation, the productivity has 1.4 times enhancement along with a 13% reduction in the cost of resin per amount of processed mAbs compared to constant flows.

Undoubtedly, the next generation of DSP platform technology is directed toward continuous and integrated systems. Regarding the advantages in process performances and regulation perspectives, continuous manufacturing can advance development and manufacturing while assuring the product quality. The evolution in modeling and simulation enables faster development of in silico process prediction and evaluation. With the support from models, process design and optimization in chromatography can rise to the challenge.

(様式 9 号)

学位論文審査の結果及び最終試験の結果報告書

山口大学大学院創成科学研究科

| | |
|---|---|
| 氏 名 | CHEN CHYI-SHIN |
| 審査委員 | 主 査：吉本 則子 |
| | 副 査：熊切 泉 |
| | 副 査：星田 尚司 |
| | 副 査：吉本 誠 |
| | 副 査：田中 一宏 |
| | 副 査：山本 修一 |
| 論文題目 | Modeling and Simulation for Integrated Capture Chromatography of Proteins – Process Design and Optimization (タンパク質の連続キャプチャークロマトグラフィーのモデリングとシミュレーション-プロセスの設計と最適化) |
| <p>【論文審査の結果及び最終試験の結果】</p> <p>タンパク質医薬品の需要拡大に伴い製造プロセスのさらなる効率化が求められている。製造プロセスは培養プロセス、精製プロセスに大別されるが、培養プロセスの生産増加に対応する精製プロセス強化が大きな課題となっている。</p> <p>本研究では、精製プロセスの主体であるクロマトグラフィーの最初のステップであるキャプチャークロマトグラフィー (capture chromatography) プロセスの効率化を目的とし、タンパク質の拡散移動と吸着現象を記述するメカニスティックモデルを用いて解析を行っている。特に連続操作についてモデルにより詳細に検討している。</p> <p>第1章では、本研究の背景・目的とともに既存の研究をレビューしている。第2章では、さまざまなメカニスティックモデルとその特徴について分類するとともに、メカニスティックモデルを利用している、いくつかのソフトウェアパッケージの違いと特色についても考察している。第3章では、グラフトリガンドにおける DNA の溶出挙動を例に、物質移動特性について解析している。第4章では、メカニスティックモデルに基づき導いたカラム滞留時間、タンパク質の拡散係数、分離剤粒子径から構成される無次元数を使用することにより、クロマトグラフィーカラムの有効利用率を、よく相関できることを示した。この相関を使用した、バッチ繰り返し操作における生産性と溶媒使用量の推算方法を提案した。次に、2カラムを連結して試料負荷をする連続操作 (periodic counter-current chromatography, PCCC) についてモデル化を行い生産性とカラム有効利用率および溶媒使用量の関係を計算し、バッチ繰り返し操作と比較し、連続操作の利点に</p> | |

(様式 9 号)

ついて考察している。第 5 章では、新規生産性向上方法として、試料負荷時の流速を直線的に減少させる方法を考案し、モデル化するとともに実験により検証している。条件によっては2倍以上の効率向上が可能なことも示している。

公聴会には、本学の教員・学生に加えて製薬会社や化学会社から多数の技術者・研究者が参加し、多くの質疑討論が行われた。

主な質問は、以下に示す連続操作 (PCCC) に関するものであった。

1. 連続操作において、カラムの劣化についてはどのようにモデルで取り扱うのか。また、どのような劣化機構が考えられるのか。
2. 切り替え時のパラメーターである、BT%とサイクル時間の効率への効果はどのようになるのか。
3. 連続操作におけるカラム数と生産性および溶媒使用量の関係は、モデルからどのように説明されるのか。
4. モデルシミュレーションに必要なデータは、シングルカラムの破過曲線のみであるか。
5. モデルシミュレーションは、自分でコーディングが必要か。

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。

以上により、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

(1) 著者氏名: C-S. Chen, J.Cardoso, Y. Ikezuki, D.Tanaka, N.Yoshimoto, S.Yamamoto
論文題目: Retention and diffusion characteristics of oligonucleotides in a solid phase with polymer grafted anion-exchanger

学術雑誌名: Journal of Chromatography A

巻、号、頁: Vol.1629, 461495 DOI <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461495>

発行年月: 2020 年 10 月

(2) 著者氏名: C-S. Chen, N.Yoshimoto, S.Yamamoto

論文題目: Prediction of the performance of capture chromatography processes of proteins and its application to the repeated cyclic operation optimization

学術雑誌名: Journal of Chemical Engineering of Japan

巻、号、頁: Vol. 53, 689-697

発行年月: 2020 年 11 月発行

(3) 著者氏名: C-S. Chen, K. Ando, N.Yoshimoto, S.Yamamoto

論文題目: Linear flow-velocity gradient chromatography - An efficient method for increasing the process efficiency of batch and continuous capture chromatography of proteins

学術雑誌名: Biotechnology and Bioengineering

巻、号、頁: <https://doi.org/10.1002/bit.27649>

発行年月: 2020 年 12 月発行