

学位論文内容の要旨

学位論文題目 : 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

氏 名 : 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.

クロマトグラフィーは、バイオ医薬品の分離精製工程の重要な単位操作である。抗体タンパク質をはじめとしてバイオ医薬品の需要は増加しており、生産プロセスの能力向上は喫緊の課題である。また、プロセスの形態も従来の柔軟性の低い古典的なプロセスから様々な操作方法に迅速に対応可能なプロセスに近代化することが求められている。このため、本学位論文では従来の経験に基づいた回分式操作法に代わる連続式のマルチカラム型クロマトグラフィープロセスに着目し、実験的検討と数値計算を併用したプロセス開発手法の確立を目指した。また、プロセスの能力の指標として、単位時間当たりの抗体精製量とカラムの有効使用率および消費溶媒量を用い、操作条件の最適化を行った。

クロマトグラフィーの解析には機構モデルを用いた。機構モデルは吸着と物質移動過程を表現するものであり、クロマトグラフィーにおける移動現象を解析する上で統計的モデルよりも優れている。まず、バイオ医薬品としてタンパク質を使用し、いくつかの実験データを基に機構モデルを用いてモデルパラメータの決定を行った。得られたパラメータを用い溶出挙動を精度よくシミュレーション可能であることを示した(第 2 章)。次に核酸を用い、本手法の応用の可能性について検討した(第 3 章)。次世代型のグラフト型クロマト担体における核酸の移動現象を細孔内拡散モデルにより記述し、リガンド構造の違いとモデルパラメータの関係を明らかにした。

さらにモノクローナル抗体のキャプチャープロセスへのマルチカラム型クロマトグラフィーシステム(continuous periodic counter-current (PCC))の導入を検討するために、機構モデルによる解析とシミュレーションを行った(3 章)。4 カラムを有する PCC システムを使用し比較対象として連続型回分式クロマトシステムを用いた。様々な操作条件でのプロセスの生産効率とカラム有効利用率、消費溶媒量をシミュレーションにより求め、プロセスの性能を比較した。PCC を用いたキャプチャーステップの重要なパラメータはカラム切り替えを行う破過点(BT%)である。破過点の決定にはカラム吸着容量とタンパク質の物質移動特性に加えて、サンプルの押し出し・平衡化・洗浄操作に関する情報も必要となる。これらの情報を統合して最適な BT%を取得するための計算式を機構モデルに基づくシミュレーション結果から確立した。最適化した操作条件で PCC を操作した場合、回分式操作と比較して溶媒使用量を 20%削減できることが分かった。また PCC のプロセス設計を迅速に行うた

めの、さまざまな流速やカラム条件に適用できる動的吸着量（Dynamic binding capacity, DBC）と生産効率の回帰関係式を作成した。

最後に、精製効率を向上する手法としてキャプチャステップにおけるタンパク質の新しい供給方法の開発を行った(5章)。本手法では全吸着容量とサンプル供給量を時間の関数として制御した。動的吸着量のカラム滞留時間依存性に基づき、流量を初期流量から後期流量まで直線的に減少させた。実際のプロセスで可能となるカラム滞留時間の範囲内で、初期流量および後期流量と流量の変化時間を網羅的に変化させて DBC の計算を行い、最適な操作条件の探索を行った。また 4 カラムの PCC への応用も検討し、一定流量で操作した場合よりも流量変化法で PCC を操作した方が 13%の担体コストの削減と、1.4 倍の生産効率の向上を達成できることを明らかにした。

第 6 章では、モデル化とシミュレーションの解析に基づいて、連続プロセスの現状と今後について考察をまとめた。タンパク質医薬品製造プロセスでは、さらなる高速・高効率・低コスト化したプラットフォームを開発するべく、連続化に適した単位操作を連結・統合した連続精製プロセスの設計および構築が行われようとしている。本研究で開発した機構モデルに基づく解析とシミュレーションを組み合わせたプロセスの開発手法は重要な役割を果たすと考えられる。