

博士論文 要旨

抗体の統合連続精製プロセスの開発と実証および評価

Development of integrated continuous downstream process for antibodies and its verification and evaluation

山口大学大学院創成科学研究科

鴻池 史憲

抗体医薬品は、宿主動物細胞に産生されたのち、精製プロセス(DownStream Process, DSP)を経て宿主細胞および細胞由来成分から分離される。この精製プロセスは、プロテイン A クロマトグラフィー (Protein A Chromatography, PAC) によるキャプチャー工程、ウイルス不活化工程、2 ～ 3 種のイオン交換や疎水性相互作用等のクロマトグラフィー工程 (ポリッシング工程)、ウイルスフィルター工程で構成され、不純物は高度に除去される。最近、DSP の効率向上のために、連続化の導入が検討されている。例えば、PAC 工程においては、複数のカラムを用いることで、連続的なサンプル負荷と回収を行う Periodic Counter Current Chromatography (PCCC)が提案されている。複数の工程を連結化するためには、各工程の特性解析が必要である。また、連続精製プロセス全体の評価方法も確立していない。このため本研究では、精製プロセスの各行程の特性を解析した上で、全工程を統合した精製プロセスの開発を試みた。さらに、医薬品製造基準 Good Manufacturing Practice (GMP)に準拠したシステムにおいて、開発したプロセスを実証し、評価方法についても検討した。本論文において、1 章では、序論として抗体の連続精製プロセスの背景及び目的を述べ、論文の構成を示した。

続く 2 章では、回分式バッチプロセスと同等な収率、かつ不純物の規格値を満たせるよう各工程の連続化を行った。最初のキャプチャー工程は、2 本のカラムを用いた PCCC にて連続化した。1 本の PAC カラムでの実験データから PCCC の操作条件を決定する方法を採用した。ウイルス不活化工程については、フロー型リアクターの実験と解析によりスケールダウン・スケールアップが難しいこと、接続も容易ではないことにより回分式操作を採用した。また、このタンクがバッチプールタンクとなり、場合によってはサージタンクの機能も果たせることができる。

ポリッシング工程については、アニオン交換と疎水性相互作用クロマトグラフィーのミックスモード担体並びに、カチオン交換担体を何れもフロースルーモードで直結して精製し、さらにウイルスフィルターを直結させ、これら 3 つの工程を一気通貫で行うこととした。これにより移動相の交換操作を不要とし、プールタンクも減らすことができた。第 3 章では、第 2 章で開発した各連続プロセスを、サージタンクを介して連結することで、統合連続精製プロセス(integrated continuous Downstream Process, icDSP)とした。開発した icDSP に対し、計 6 回の検証試験を行った結果、処理量に対応して適切なカラムサイズ

を選定することで、0.5-3.6 L/day の培養液を連続的に精製でき、得られた精製液の不純物含量も規格を満たした。

上記試験においては、抗体医薬品製造の上流工程となる培養工程も連続化した上で、連結し、製造プロセス全体を統合連続化することも試みた。

第4章では、第3章で開発した icDSP を用いた GMP 施設での実証試験を示した。実証試験では、連続精製プロセスと 10 L/day で培養液を産生する連続培養プロセスとをサージタンクを介して統合連続生産した。統合連続生産は、3 日間連続的に運転し、培養も精製も稼働し続けた。連続培養からの抗体流入量は変動し続けたが、開発したプロセスは、安定的に精製を行え、得られた精製液の不純物含量も規格を満たした。

第5章では、開発したプロセスの効率性を生産性と溶媒使用量の観点から評価した。PCCC と繰り返し操作とでは同じ生産性において溶媒使用量が 50% 程度削減できていた。本プロセスの PCCC では試料負荷以外の時間が短く溶媒量も少ない、2 本のカラムを用いた PCCC が最適であることが分かった。さらに、第4章までの実証検討では、カラム切り替えタイミングを体破過の 30% 前後としたが、60% とすることで、生産性はそのまま溶媒使用量をさらに 20% 削減できることが分かった。また実証検討では、終夜運転を行わず、ウイルス不活化液は 24 時間貯留する形をとったが、貯留時間を短くすることで、ポリッシュ工程におけるカラムサイズを小さくでき、溶媒使用量を低減できることも分かった。

最後に結論として本研究によって得られた知見を整理し、今後の展望や課題について述べた。