

バイオプロセスにおけるラマン分光に基づく栄養成分制御

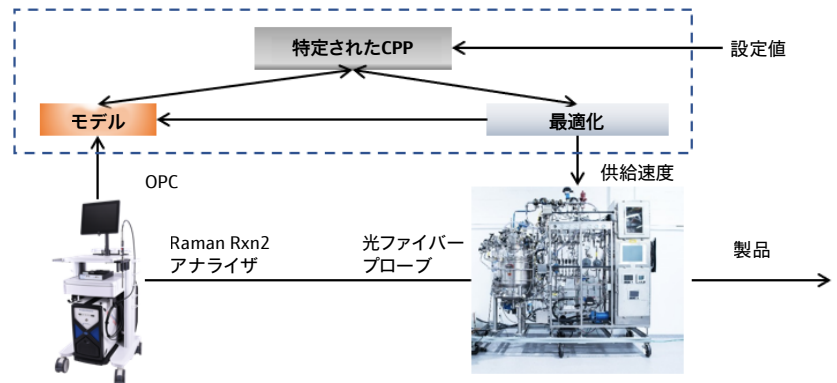


図1: ラマン分光に基づくフィードバック制御の概略図

特長

- ラマン技術を用いた細胞培養バイオプロセスにおけるリアルタイムのグルコース制御
- ラマン分光に基づくグルコースフィードバック制御により、目標の製品プロファイルに合わせて製品品質を最適化
- ピーク時の生細胞密度が高く、標的モノクローナル抗体の糖化が50%以上減少
- ラマンはクオリティ・バイ・デザイン (QbD) に対応する実証されたプロセス分析技術 (PAT)
- リアルタイムでの製品およびプロセス品質の保証

概要

米国食品医薬品局 (FDA) が推進するプロセス分析技術 (PAT) とクオリティ・バイ・デザイン (QbD) イニシアチブでは、最終製品の試験前にプロセス品質を確保するためのインライン分析を行うことが強く支持されています。動物細胞による抗体医薬品の生産は、組換えタンパク質を適切に生産して折り畳むことができるため、最も広く利用されているバイオプロセスです。バイオ医薬品の60~70%は、このバイオプロセスによって製造されています。バイオリアクタのパラメータは細胞の代謝プロセスに影響を与えるため、細胞のバランス調整と一貫性のある代謝状態を達成するためには、バイオリアクタに関する詳細な情報が必要です。

バイオプロセスにおける重要なプロセスパラメータには、pH、溶存酸素 (DO)、温度、攪拌速度、グルコースなどがあります。グルコースは、細胞の代謝プロファイル、老廃物の生成、タンパク質の翻訳後の非酵素的糖化に影響するため、重要なプロセスパラメータとなります。糖化はまた、糖化した最終製品の生成につながる可能性があり、その結果、結合阻害、治療効果の喪失をもたらし、望ましくない免疫原性反応を引き起こすことがあります。

プロセス中のグルコース濃度を慎重に制御することで、糖化を最小限に抑えることができます。

最近の研究では、グルコースのオンライン測定によって、フェドバッチ戦略を最適化して細胞密度と力価を改善し、プロセス頑健性の向上が可能であると示されています。グルコースの連続測定は、バイオプロセスを理解するために重要な情報を提供し、プロセス開発 (PD) から製造までフィードバック制御された供給状態を可能にします。

Berryらの研究では、CHO細胞バイオプロセスのフィードバック制御のためのラマン分光法の迅速開発について報告されており、モノクローナル抗体 (mAb) の糖化が重要な品質特性として特定されました。¹ 本研究では、mAbの望ましくない糖化を最小限に抑える自動的なグルコースの設定値制御戦略を可能にするラマン法について説明されています。具体的には、連続的な *in situ* ラマン分光分析に基づくグルコース濃度の、図1に示す概略図と同様のオンラインフィードバック制御システムについて述べられています。

① このアプリケーションノートに記載されているラマン分光計とプローブはすべて、Kaiserラマンテクノロジーを搭載したEndress+Hauser製品です。

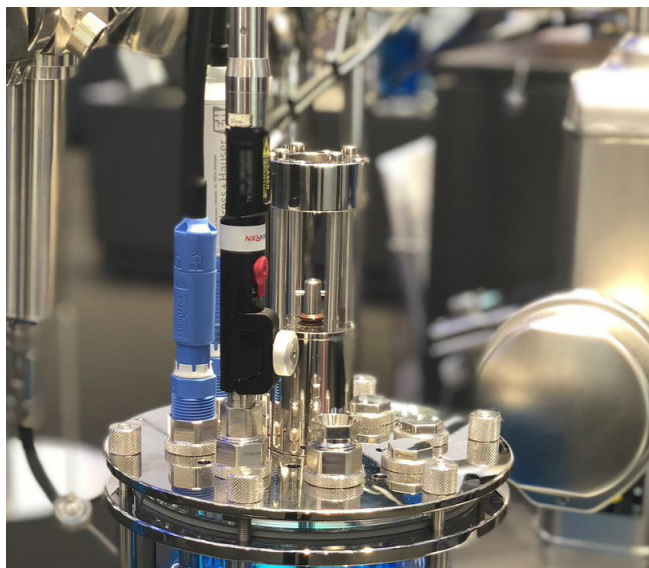


図2: ラボからプロセスまで製品品質のインライン制御を実現

実験

図2に示すように、785 nmレーザーを備えたラマンアナライザと、ステンレス製バイオプロセスオプティック付きのRxn-10プローブを用いて、プロセス内容物のスペクトルを現場で取得しました。データはSIMCAソフトウェアパッケージのPLSモデルに自動的にエクスポートされました。フィードバック制御ループからオンラインで収集されたデータは、10X非接触式オプティック (NCO) とオフライン式の従来の測定方法を使用してオフライン収集されたラマンデータと比較されました。

グルコースフィードバック制御システムの2つの異なる戦略が試験されました。1つ目の戦略では、製造サイクル全体にわたってグルコース濃度を2.25 g/Lに一定に保つことが目標となりました。2つ目の戦略は、同じ期間にグルコース濃度を9.75 g/Lから2.25 g/Lまで、段階的に減少させるものでした。どちらの場合も、グルコースを含まない栄養分がバイオリアクタに毎日供給され、オンラインのラマンデータに

応じてグルコースストック溶液が(必要に応じて)添加されました。バイオリアクタ内のグルコース濃度は、不感帯制御を使用して設定値の0.25 g/L以内に維持されました。グルコース濃度がこの値を下回った場合に、制御ロジックは開始されました。

結果

ラマン分光に基づくグルコース制御モデルを用いて、バイオプロセスに一定の低濃度のグルコースを供給するか、または時間の経過とともにグルコース濃度を段階的に減少させました。本研究の結果、産業的に重要なバイオプロセスにラマンを統合し、バイオプロセス条件の制御、製品品質の最適化を実現できることが確認されました。

有意なグルコース制御が達成され、迅速にPD作業に組み込まれました。ラマン制御方式の導入はプロセス開発の初期段階で行われたため、プロセスを製造規模にスケールアップする前に、意図しないプロセス変更が特定され、迅速に修正されました。プロセス変更の一例としては、複合栄養分供給の交換率があります。これは、沈殿を避けるために4日ずらして行われました。

結論

ラマン分光法は、細胞培養および発酵バイオプロセスにおける重要なPATソリューションです。ラマンでは、1つのプローブで複数の重要なプロセスパラメータを同時に*in situ*測定することが可能です。迅速なモデル開発と移行に役立つことがラマンの特異性であり、大幅に修正することなく、モデルをラボから製造に移設できます。たとえば、ラマン測定により、複合栄養分供給の経時的な変化が示されました。この情報をもとに、チームは培地成分の沈殿を避けるために、培地の交換スケジュールを最適化することができました。

参考資料

1. Berry, B. N.; et al. Quick Generation of Raman Spectroscopy Based In-Process Glucose Control to Influence Biopharmaceutical Protein Product Quality during Mammalian Cell Culture. *Biotechnology Progress* **2016**, 32 (1), 224–234.