

バイオ医薬品の 精製工程

利点

- リアルタイムのプロセス理解
- 製剤用バッファの試験およびリリース
- 限外ろ過/透析ろ過操作における1つのプローブを用いた添加剤およびタンパク質濃度の定量的監視
- ラマンは実証されたプロセス分析技術 (PAT)
- リアルタイムでのプロセスおよび製品品質の保証

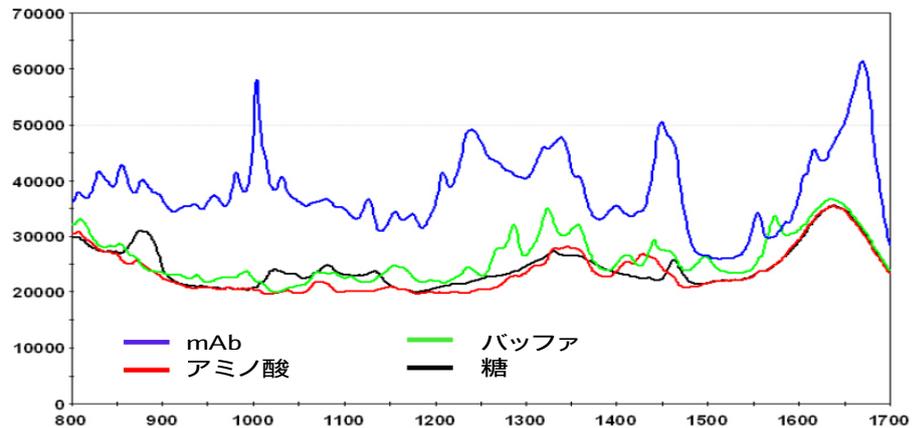


図1: ラマンでは、1つのプローブを用いて、下流工程で複数の成分を定量化できます。

概要

米国食品医薬品局 (FDA) の2004年のプロセス分析技術 (PAT) フレームワークでは、医薬品の製造後に試験された品質から、製造全体を通しての「継続的なリアルタイムの品質保証」による品質構築への移行が特に強調されました。また、PATフレームワークは、クオリティ・バイ・デザイン (QbD) の実施原則も示しています。これは、生物学的製剤の重要な品質特性に影響を与える重要なプロセスパラメータの理解と制御により、品質保証を促進するというものです。

高品質の生物学的製剤を保証するためには、下流側のバイオプロセスまでプロセスに対する理解を深めることが不可欠です。迅速かつ非破壊的な分光法により、精製サイクルの *in situ* 監視、バッファ識別、タンパク質凝集¹、製品識別²、品質管理など、バイオプロセスの下流工程における監視および制御オプションが提供されます。

ラマンの利点

最新の研究では、アミノ酸、糖、タンパク質などの主要な分析対象物を定量的に測定することで、生物学的な下流工程をより深く理解することに重点が置かれています。同様の技術は、上流側のバイオプロセス段階において、栄養素や代謝物の濃度をリアルタイムに *in situ* 測定するために使用されています³。ラマン分光法は、迅速かつ非破壊的な監視と制御を可能にするため、バイオテクノロジー QbD アプリケーションに特に有用です。

ここで紹介する研究は、QbDの目的に沿った新しいバイオプロセス分析の開発と応用について調査したものです。ラマンは、アナライザのリモート設置、非接触式サンプリングオプティック、フローセルとの適合性など、使いやすさと柔軟なサンプリングというメリットを提供します。

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。

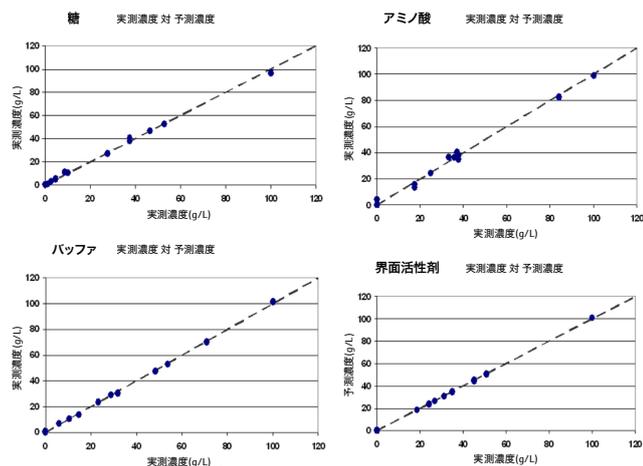


図2：ラマン分光法は、オフラインのラボ分析と同様にプロセス成分の定量化を実現します（ただし、リアルタイムかつインプロセスで）。

実験

大手バイオテクノロジー企業において、(1) 製剤用バッファの試験とリリース、(2) 限外ろ過/透析ろ過 (UF/DF) 操作における添加剤の監視、という2つの下流側バイオプロセスアプリケーションの研究が行われました。本研究では、*in situ* 浸漬オプティックを取り付けたファイバー接続プローブと785 nmレーザーを搭載したラマン分光計が使用されました。調製された各サンプルにプローブを直接挿入してラマンスペクトルは収集され、各サンプルあたり30秒でラマンデータが収集されました。最初のアプリケーションでは、実験計画法 (DoE) に従って、製剤用バッファの4成分 (アミノ酸、バッファA、糖、界面活性剤) の混合物が調製されました。UF/DFアプリケーションを実行するため、DoEに従ってタンパク質を0~100 mg/mLの範囲で3成分緩衝系 (アミノ酸、バッファB、糖) に添加しました。既知の濃度が、部分最小二乗法 (PLS) 多変量キャリブレーションモデルを使用して、ラマンスペクトルと関連付けられました。

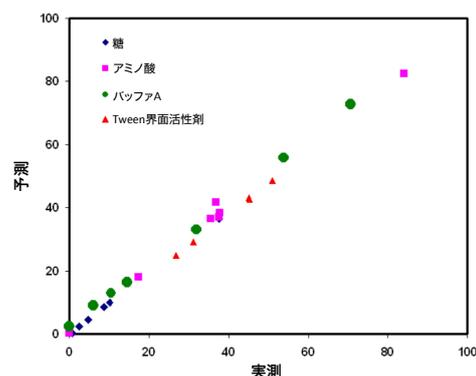


図3：ラマン分析は、UF/DF 操作中に複数のプロセス成分の定量化を可能にします。

結果

図2は、各バッファの成分に対して作成されたキャリブレーションモデルを示しています。これらのモデルが、新しいサンプルセット中のサンプル混合物の濃度を予測するために使用されました。図3は、UF/DFアプリケーションからの予測結果を示しており、添加剤に加えてタンパク質も定量化できることを示しています。

結論

ラマンテクノロジーにより、バッファの信頼性の高い試験およびリリース方法が提供され、UF/DF操作の制御が実現します。ラマンは添加剤と製剤の両方に対して、水系システムにおける正確な分析と化学特異性を提供します。これらの結果は、下流側のバイオプロセスにおいてリアルタイムの*in situ*監視が重要となるQbD製造環境に対応する上で、ラマンが有用であることを示しています。

参考資料

1. Mungikar, A. et al. *Am. Pharm. Rev.*, **November/December 2010**, 78-83.
2. Wen, Z.-Q. et al. *Am. Pharm. Rev.*, **May/June 2010**, 46-53.
3. Abu-Absi, N. R. et al. *Biotech. Bioengin.* **2011**, 108 (5), 1215-1221.