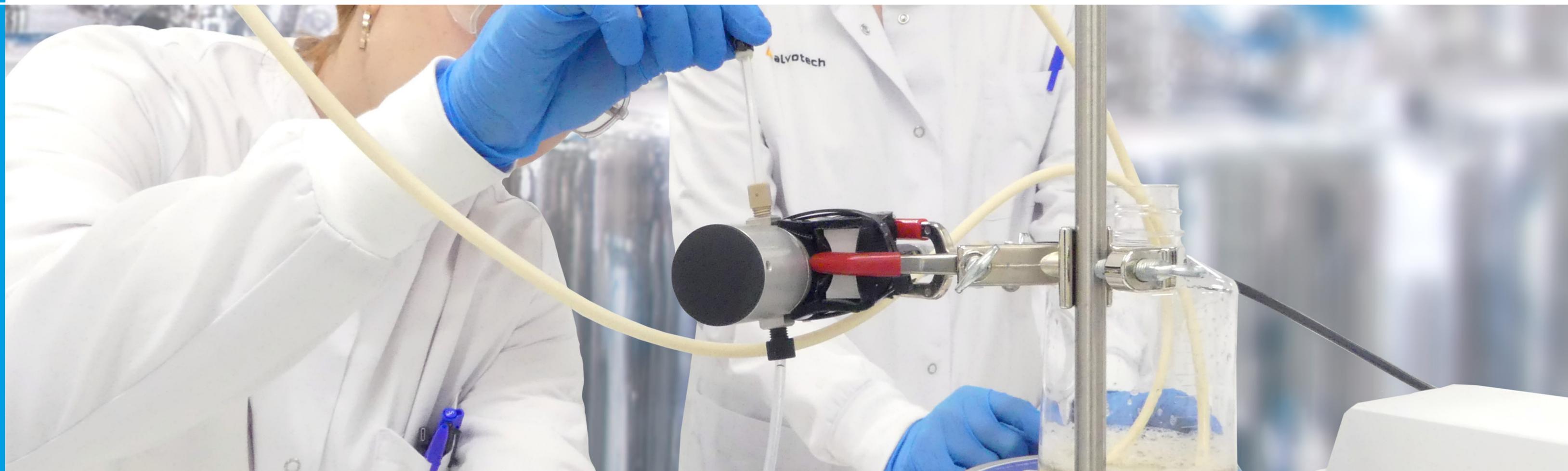


ラマン分光によるバイオシミラーのダウンストリームプロセス測定

成功事例 限外ろ過/透析ろ過 (UF/DF) における
Alvotech社のタンパク質精製プロセス試験



課題と結果

お客様の課題

ダウンストリームプロセスでは、組成が急速に変化します。そのため、ダウンストリーム段階のプロセス開発には、容量の減少とサイクル時間の短縮に対応するプロセス分析技術 (PAT) が必要になります。しかし、組成測定が抽出分析法に依存していることや、応答時間の遅さ、不十分な公称測定範囲、バックグラウンド干渉など、いくつかの技術的課題があるため、ダウンストリームアプリケーションの効率改善は遅れています。アップストリームプロセスの増強によって精製工程が複雑化しているため、革新的なダウンストリームソリューションの必要性がさらに高まっています。

結果の概要

Endress+Hauserのラマン分光システムにより、限外ろ過/透析ろ過(UF/DF)中のタンパク質精製プロセスの正確なリアルタイム監視が可能になり、バイオシミラー製造のためのダウンストリームプロセス(DSP)が向上します。

以下のようなメリットがあります。

- **コスト削減:** 労力、緩衝液、オフライン分析コストの削減により、大幅な節減が可能
- **処理時間の短縮:** UF/DFプロセスのリアルタイム監視と調整により、プロセスの中断がなくなり、操作の合理化が実現
- **プロセスの最適化:** 即時の分析結果により積極的な意思決定が可能になり、全体的な効率が向上



「ラマン分光法の長所は、その汎用性にあります。UF/DFプロセスにおいてインラインで使用すると、タンパク質凝集のリアルタイム検出と濃度変化の監視が可能になり、運用の変革が実現します。これはプロセス制御を強化するだけでなく、バイオプロセスの効率を最適化し、最高レベルの製品品質と規制遵守を保証する画期的なものです」

Adrianna Milewska, PhD,
PAT Lead
Alvotech

UF/DFダウンストリーム処理の説明

バイオプロセスのUF/DFダウンストリームステージでは通常、以下の工程が実行されます。

1. 初期濃縮工程では、限外ろ過膜を使用してタンパク質溶液が濃縮されます。この段階で、過剰な塩分、小分子、水が除去され、より濃縮されたタンパク質溶液が得られます。
2. 限外ろ過による溶媒、イオン、水などの小分子の除去と同時に、透析ろ過緩衝液が添加されます。この工程の目的は、プロセス緩衝液を最終配合緩衝液に交換し、イオンなどの小さな不純物を許容レベルまで減らすことです。
3. 次に、必要とされる最終的なタンパク質濃度を達成するために、2番目の濃縮工程が実行されます。これらの工程は1つのプロセス (UF/DF) に統合されており、無菌充填 (Fill Finish) 段階に進む前に原薬を効果的に濃縮し、緩衝液を交換します。

UF/DFプロセスとラマンの組み合わせ



従来のUF/DFシステムは通常、システム圧力、流量、および供給量と透過量の両方を監視する機能を備えています。一方、ラマンプローブが組み込まれたUF/DFシステムでは、モノマーと凝集体レベル、および緩衝添加剤の濃度をインラインで監視することが可能です。

- **初期濃縮段階:** 水、小分子、イオンがタンジェンシャルフローろ過 (TFF) 膜によって除去されるため、供給タンク容量が減少します。タンパク質は膜を通過できないため、システム内に残ります。
- **透析ろ過段階:** プロセス緩衝液をろ過して除去しながら、透析ろ過緩衝液を連続添加することで、供給タンク容量を一定レベルに維持します。
- **最終濃縮段階:** この時点で、供給タンク内の緩衝液は、透析ろ過緩衝液に完全に交換されています。これにより、タンパク質溶液を目的のレベルまで濃縮できるようになります。

UF/DF中のダウンストリームバイオプロセスの制限

Alvotech社は、タンジェンシャルフローろ過 (TFF) 法の使用に関連して、UF/DF中に発生する可能性のある、以下のようなプロセス制限に対応する試験ソリューションを検討しました。

- **製品の品質と有効性:** 凝集はモノクローナル抗体の品質を低下させ、薬物動態と治療効果に影響を及ぼす可能性があります。
- **患者の安全性:** 凝集体は免疫反応を引き起こす可能性があるため、患者の安全のために最終製品中の凝集レベルを最小限にすることが重要です。
- **プロセス制御と最適化:** TFFにおけるリアルタイムの凝集監視により、問題を迅速に検出し、開発段階でプロセス条件をより迅速に最適化し、ダウンストリームの調整を最小限に抑えることができます。
- **製品損失と歩留まり:** TFF監視により凝集体の形成を防ぎ、ダウンストリーム処理中の損失を減らし、製品歩留まりを最大化します。

- **製造における一貫性:** バッチ間の一貫性を確保することは、バイオ医薬品の安全性と有効性にとって非常に重要であり、それによって信頼性の高い製造プロセスが保証されます。
- **経済的な考慮事項:** 早期の凝集検出により、追加の試験や待機時間の必要性が減少し、コスト削減が実現します。
- **規制遵守:** 厳格なガイドラインにより、バイオ医薬品の承認および商品化のための包括的な監視が義務付けられています。

このような制限によって、プロセス測定の不確かさが発生し、プロセス後の手動調整が頻繁に必要な場合があります。そして、その調整により、貴重な時間とリソースが消費され、製品の品質や有効性が損なわれる可能性があります。



Endress+Hauserの ソリューション

Alvotechは、アップストリームおよびダウンストリームのプロセス開発におけるインラインラマン分光法試験のためにEndress+Hauserを選択しました。選択されたラマンシステムは、ダウンストリーム流路に合わせて調整されており、信号増幅と低ノイズ技術を活用して、より迅速に結果を提供することができます。本システムは、以下のコンポーネントで構成されています。

- Raman Rxn2アナライザ
- Rxn-10プローブ
- ラマンフローアセンブリ

ラマンフローアセンブリは、バイオ医薬品研究室や精製および灌流等のプロセス開発向けに設計された特殊なツールであり、cGMP製造まで拡張できる可能性があります。

ラマンフローアセンブリは、以下で構成されています。

- 製品と接触せず、特定のフローセルとサンプル条件に合わせて正確に調整された、Rxn-10プローブに接続された再利用可能なオプティック (マイクロフローベンチ)。
- マイクロフローベンチと適合して、サンプルをその内部に流すことができるマイクロフローセル。マイクロフローセルは承認された方法で滅菌可能で、使用後は再利用または廃棄のどちらにも対応。

(上)マイクロフローセルとフローベンチのコンポーネント。(下)Rxn-10プローブに接続されたラマンフローアセンブリ

Raman Rxn2アナライザ



ラマンデータレビュー

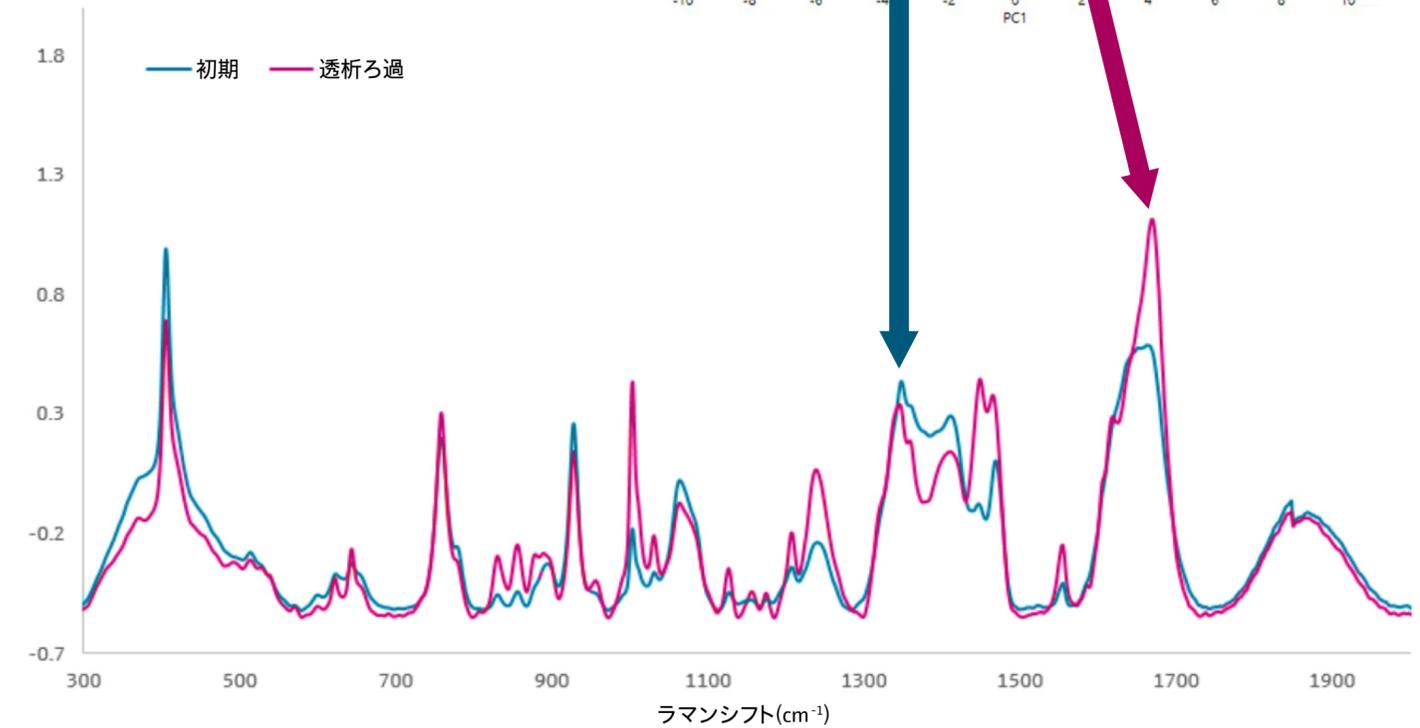
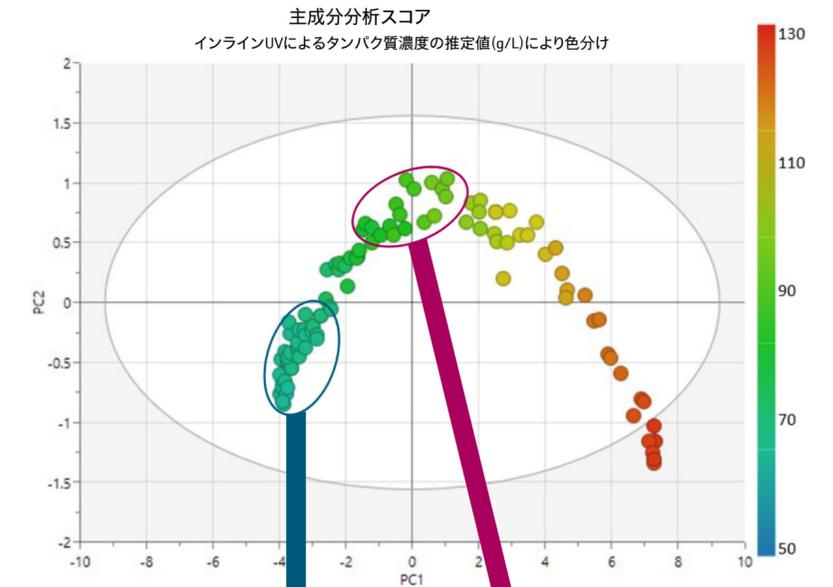
UF/DF中のラマンインライン測定は、バイオ医薬品生産の効率の最適化と向上をサポートします。

標準的な前処理により、ラマンは、指紋領域全体の複数のマーカーや、透析ろ過中に急激な偏差があるなど、プロセス全体の進行を追跡する能力があることが示されています。

タンパク質凝集の寄与を判断するには、ケモメトリクスモデリングを含む、さらなるデータ分析が必要になります。この分析が完了すると、迅速なフィードバックが可能になり、プロセスの理解増進、プロセス時間の短縮、迅速な調整の促進、コスト削減が実現し、最終製品が厳格な品質基準を満たしていることが保証されます。

透析ろ過段階におけるラマンスペクトルオーバーレイにより、タンパク質の特異的な相互作用と一致する、強力で分解されたピークが明らかになります。右のスペクトルオーバーレイは、スコア空間の上部グラフの円で囲まれた領域の平均スペクトルから取得され、青色のスペクトルは初期濃縮中のラマンシフトを表し、マゼンタ色のスペクトルは透析ろ過中のシフトを表します。

複数の採取サンプルが得られた場合、主成分分析スコア空間における局所的なクラスターでタンパク質の特異的な構造変化の証拠が観察されます。



リアルタイム測定の メリット

Endress+Hauser ラマンシステムにより、Alvotechでは、迅速なプロセス最適化とタンパク質精製プロセスの正確な制御を可能にするリアルタイム監視が実現します。

ラマンフローセルをUF/DFプロセスに直接組み込むことで、凝集を検出し、タンパク質濃度を継続的に監視することが可能になります。

信号対ノイズ (S/N) 比が向上したインラインラマンデータにすぐにアクセスできるため、インラインおよびアトラインの両方の紫外吸光分光計とオフラインのサイズ排除クロマトグラフィ (SEC) からの濃度データに基づく予測モデルの開発が容易になります。この合理化された機構により、タンパク質の精製が最適化され、時間とコストが大幅に削減されます。

UF/DF中のタンパク質精製を監視する
ラマンフローアセンブリに接続された
インラインRxn-10プローブ

特長

正確なインラインラマンプロセス測定にリアルタイムでアクセスすることにより、以下のような機能や関連するメリットが得られます。

- **予測モデリング:** インラインラマンデータに基づく予測モデルの開発と統合により、積極的な意思決定とプロセス調整を行って、結果を最適化します。
- **凝集検出:** ラマンフローセル技術と予測モデルを使用してタンパク質凝集をインラインで検出し、リスクの早期特定と軽減を可能にします。
- **処理時間の短縮:** オフラインの高性能 (HP) -SEC分析に関連する待機時間を削減し、継続的な運転を促進して生産性を向上させます。
- **手動介入の削減:** プロセス後の手動調整の必要性を最小限に抑え、運転を合理化し、最終濃度の精度を向上させます。
- **リアルタイム監視:** タンパク質および緩衝添加剤の濃度を継続的に監視します。



結論

バイオ医薬品業界では、最近のラマンフローセル技術の進歩により、低濁度、少量のサンプルに対するラマン測定を最適化することで、ダウンストリームプロセスの速度要件に対応できるようになりました。Alvotechは、Endress+Hauserのラマンシステムの支援を受けて、UF/DF中のタンパク質処理に関する有益な情報を取得できます。このように強化された監視により、バイオプロセスの効率が向上し、サイクル時間が短縮され、同社の製造業務における製品品質が向上しました。



「オフラインの結果の待ち時間が長いため、ダウンストリームプロセスが断片化されることが多く、開発スケジュールが遅くなります。インラインラマンフローセルを導入することで、より効率的なアプローチが実現し、ダウンストリームの開発動態が効果的に変化します」

Julia Karitas Helgadottir
DSP Scientist
Alvotech



Alvotech社について

アイスランドのレイキャビクに本社を置くAlvotechは、世界規模で高品質のバイオシミラー医薬品の開発と製造に取り組む総合バイオ医薬品会社です。同社の使命は、世界中の患者の健康や生活の質を向上させ、さまざまな病気の実証済みの治療法へのアクセスを拡大することです。



www.addresses.endress.com

CS01902C/33/JA/01.24