



timegate
ahead of time

バイオ医薬品製造における歩留を向上させるには？

Timegated[®] ラマンモニタリングアプローチ

バイオ医薬品は、医療および経済の両面で非常に重要であり、社会全体に多大な利益をもたらします。しかし、その製造には運用面および技術面での多くの課題が伴います。特に、大分子を工業規模で安定的に再現するためには、これまでにない高度な製造技術が求められます。この高度な製造技術の導入には、非常に高額なコストがかかり、バイオ医薬品の製造施設の建設や運営にも莫大な費用が必要となります。

バイオプロセスは、高額な原材料、長期間にわたる工程、そして低い収率といった特徴を持っています。これらを効果的に運用するためには、高度な専門知識を有するチームの存在が欠かせません。新規に開発されたバイオ医薬品への強い需要により、製造コストが高いにもかかわらず、業界は大きな利益を生み出してきました。しかし、バイオ医薬品産業が科学の最前線からビジネスの主流へと進展する中で、業界は他の産業と同様に、競争力を維持するためにコスト削減、品質確保、納期遵守といった課題に直面しています。そのため、バイオ医薬品業界においては、収率の向上や処理時間の短縮を通じてプロセスの効率化を図ることが、喫緊の課題となっています。

バイオリアクター内では、数千にも及ぶ異なる化学反応が同時に進行し、細胞は多くの栄養素や代謝物を消費・生成します。特に重要なのは、治療薬自体が非常に複雑であり、細胞内に蓄積される場合もあれば、他のタンパク質と共にマトリックス内に分泌される場合もある点です。

このため、バイオ医薬品の細胞増殖をリアルタイムで監視するシステムは、技術的に非常に難易度が高いとともに、その必要性はますます高まっています。細胞培養プロセスの条件（溶存酸素、栄養素、浸透圧など）、運用モード（バッチ、フェドバッチ、パーフュージョン）、および下流工程はタンパク質の品質に影響を与えます。また、生産プロセス全体におけるわずかな変化であっても、タンパク質の全体的な構造や望ましくない翻訳後修飾に大きな違いをもたらす可能性があります。したがって、プロセス条件を継続的に監視し、製品の主要な特性が許容範囲内で維持されることが不可欠です。従って、重要なアミノ酸のインラインでの複雑な分析は、プロセス開発および制御において非常に有効なツールとなります。

本アプリケーションノートでは、シードリアクターおよび生産リアクターにおける監視のニーズとその解決策に焦点を当てます。

AUTHORS:

Timegate Instruments Oy, Finland:

Mari Tenhunen

Lauri Kurki

Jyrki Savela

Jouni Takalo

University of Helsinki, Finland:

Martin Kögler

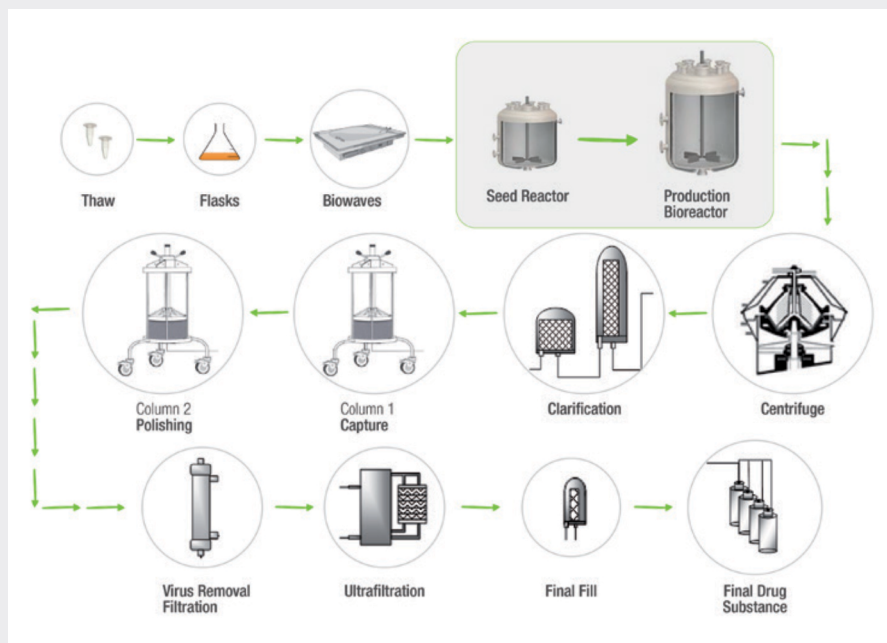


Figure 1:

オンライン・モニタリングは、シードや生産リアクターの生産効率と信頼性に大きな利点をもたらします。

現在、シードリアクターおよび生産リアクターで継続的に測定されるプロセス特性は、主にpH、温度、溶存酸素です。その他のプロセスパラメータのほとんどは、手動サンプリングにより1日1回または2回のみ測定されています。過去数十年にわたり、バイオプロセスのモニタリングを目的としたリアルタイム・インライン・非接触・非破壊のセンシング技術の開発に向けて、大規模な研究開発が行われてきました。この分野では、光学的・分光学的技術が特に有望な候補とされてきました。これらの技術は、細胞培養成分に関する高精度な化学情報を提供できるだけでなく、高速かつ非破壊的であり、プロセスモニタリングへの統合が容易であるためです。

プロセスモニタリングおよび自動化技術の中心となる有望な技術の一つがラマン分光法です。ラマン分光法は、細胞培養培地の変化をインラインでモニタリングするために活用されています。しかし、**ラマン分光法の「アキレス腱」ともいえる課題は、蛍光の発生です。**最悪の場合、蛍光の放出が弱いラマン散乱信号と完全に重なり、この技術の使用を不可能にするか、少なくとも測定の感度を大幅に低下させてしまいます。現在の細胞培養のうち、この技術の恩恵を受けられるのは半数にも満たないと推定されています。それ以外の培養では、蛍光の影響が大きいと、ラマン分光法をプロセスモニタリングに用いるのは現実的ではありません。

バイオリアクターの連続モニタリングにおける Timegated®ラマン技術の特長

Timegated®ラマン技術は、細胞培養のモニタリングにおいて、従来の最先端ラマン技術と比較して3つの大きな進歩をもたらします。

まず第一に、蛍光を除去したリアルなラマンスペクトルを提供し、蛍光信号の影響で従来ラマン技術が適用できなかった細胞培養にも適用範囲を拡大できる点です。

Timegated®ラマン技術は、ラマン信号と蛍光信号を時間的に分けて測定することに基づいています。

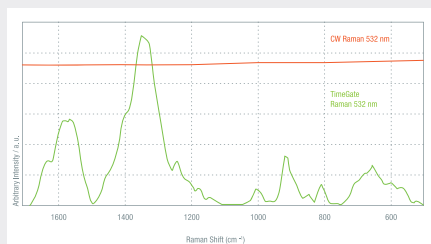
この測定手法は、長年にわたり蛍光抑制に有効であることが知られていましたが、従来の時間領域ベースの技術はコストが高く、システムが複雑であったため、商業化や普及が進みませんでした。

しかし、新たに特許取得のCMOS-SPAD(単一光子アバランシェダイオード)を活用した電気ゲート検出技術により、コストとシステムの複雑さが大幅に低減されました。

この技術により、従来のCW(連続波)ラマンでは蛍光干渉が強すぎて使用できなかった多くのモニタリング用途に対応できるようになります。

Figure 2:

Timegated®ラマン技術による真の蛍光除去。
大腸菌細胞培養のCW(連続波)ラマン測定と
Timegated®ラマン測定の比較。
CW測定では蛍光バックグラウンドの影響により
ラマン信号は検出できなかった。



第二に、この技術は細胞と培地の信号をハードウェアレベルで分離することを可能にします。

パルスレーザー励起と100ピコ秒という超高速検出を組み合わせた新しい測定方法を実現します。

レーザーパルス後の弾性散乱信号の強度は、レーザーが照射された物質の光学特性に依存するため、細胞と培地では異なる信号強度を示します。

つまり、各レーザーパルスの後に検出されるラマン散乱は、細胞由来のものと培地由来のものに分類でき、それぞれのラマンスペクトルを分離できます。

これにより、細胞と培地のスペクトルの重なりを回避できるため、データ処理やプロセスモデリングがより簡単かつ信頼性の高いものとなります。

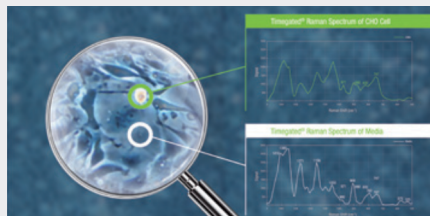


Figure 3:

2つの異なる信号 – 1つは細胞由来、もう1つは培地由来 – がハードウェアで分離されます。

第三に、Timegated® ラマン技術は、細胞密度の変化のモニタリングも可能にします。

パルスごとの検出と信号の起源の分離により、細胞密度の変化に関する情報も得られます。

一定の時間枠内でレーザーパルスが細胞と培地に当たる比率を比較することで、細胞の相対数の変化についての情報を得ることができます。

この情報は、細胞密度のキャリブレーションに活用できます。

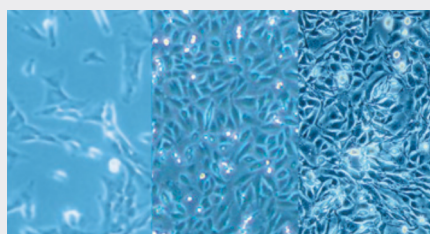


Figure 4:

Timegated® データは、バイオプロセス中の細胞密度の変化に関する情報を提供するためにも利用できます。

Summary

Timegated® ラマンアプローチは、現在の多くのバイオプロセスの課題に対し、まったく新しいインラインモニタリングソリューションを実現できます。:

01

サンプリングの必要がない
プロセスの汚染リスクもない

02

成長培地の組成、細胞密度
生成されたタンパク質の
リアルタイムデータ

03

細胞からの信号に対する
SNR(信号対雑音比)の向上

04

バイオリクターへの
栄養供給のインライン制御

timegate
ahead of time

Visiting address:

Timegate Instruments Oy
Teknologiantie 5B
90590 Oulu
Finland

Info@timegate.fi

日本販売店



HORIZO Inc.

ホライゾ株式会社

<https://www.horizo.co.jp>

contact@sub.horizo.co.jp

お気軽にお問い合わせください