

# バイオ医薬品製造プラント

## Biopharmaceutical Manufacturing Facility

亀 倉 晃 一 株式会社 IHI プラントエンジニアリング 医薬・ファインケミカル事業部基本技術部 課長  
 水 沼 誉 人 株式会社 IHI プラントエンジニアリング 医薬・ファインケミカル事業部基本技術部 博士（生物工学）  
 弓 座 直 樹 株式会社 IHI プラントエンジニアリング 医薬・ファインケミカル事業部基本技術部  
 菅 谷 和 夫 株式会社 IHI プラントエンジニアリング 医薬・ファインケミカル事業部事業推進部 技師長 博士（工学）

バイオ医薬品は、幅広い病気（がん、リュウマチ、インフルエンザなどの感染症）への薬効の高さと、副作用の少なさなどの理由で今後の医薬品の中心になるといわれている。IPEC はこれらのバイオ医薬品を製造するためのプラントエンジニアリング分野の技術開発に注力している。本稿では、バイオ医薬品製造プロセス、そこで使用される設備の概要、各機器（培養槽、精製機器など）のスケールアップ、設計手法、さらに IPEC の特長ある技術である、開発型バイオエンジニアリングについて解説する。

Biopharmaceutical shows promise as major part of pharmaceutical products since it is applicable to a wide range of diseases such as cancer, rheumatism, and influenza vaccination with high pharmaceutical efficacy but little side effect. Bioplant engineering is one of main business unit of IPEC. Therefore, IPEC has been conducting many development projects in the field. This report gives the outline of biopharmaceutical manufacturing process, features of facilities, key points of the scale up, and design procedures of bioreactor and major purification equipment. In addition, IPEC's remarkable ability in optimization of bioprocess using pilot scale facilities is introduced.

### 1. 緒 言

医薬品の主な製造方法として、化学反応によって主に低分子化合物を生産する合成法と、生物（微生物、動物細胞、植物細胞など）の生体機能を利用して主に高分子化合物を生産するバイオ法の二つを挙げることができる。

バイオ法によって生産されるバイオ医薬品には、抗生物質のように低分子のものもあるが、化学合成では作ることが困難な高分子成分（蛋白質など）が主流になっている。

後者は病気に対して特異的、高活性かつ副作用が少ないなどの特長をもつため、今後の医薬品の中心になるといわれている。バイオ医薬品の代表例として抗体医薬やワクチンが挙げられる。

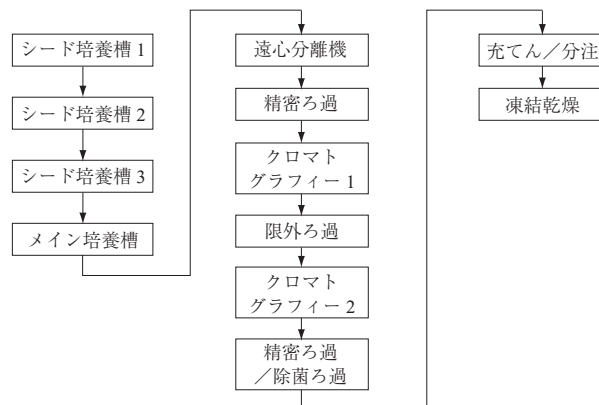
株式会社 IHI プラントエンジニアリング（以下、IPEC と呼ぶ）は、バイオテクノロジーを利用した、バイオ医薬品製造のためのプラントエンジニアリングに注力している。

本稿では、バイオ医薬品製造プロセスおよびそこで使用される設備の概要、各機器（培養槽、精製機器など）のスケールアップ方法を含む設計手法、さらには IPEC の特長である開発型バイオエンジニアリングについて、最近の開発成果を交えて解説する。

### 2. バイオ医薬品製造プロセス

バイオ医薬品製造プロセスの概要を第 1 図に示す。プロセスは培養工程、精製工程、製剤化工程に大別される。まず培養工程では、微生物や動物細胞を培養し、目的物質を生産する。目的物質を含む培養液中には夾雑物が多く含まれているため、精製工程によって目的物質の純度を高め、さらに高濃度化を図る。精製工程を経たものを原薬と呼び、その後の製剤化工程で製剤化（注射剤、飲み薬など）を経て医薬品となる。

培養工程では、遺伝子組換え技術を利用したバクテリア



第 1 図 バイオ医薬品製造プロセス  
Fig. 1 Biopharmaceutical manufacturing process

やかび、酵母などの微生物培養が多く用いられてきたが微生物を利用した場合には、遺伝子組換え操作を行っても、抗体などに必要な複雑な構造（糖鎖を付加した立体構造をもつ蛋白質など）を生産できない。この問題を解決する技術が、動物細胞を利用した培養技術である。微生物に比べて動物細胞による目的物質の生産性は低い場合が多いが、複雑な構造をもつ薬効の高い医薬品の製造のためには必須の技術である。

これらの微生物や動物細胞の増殖には栄養源と酸素を必要とするため、培養槽内に栄養源（炭素源、窒素源、りんなど）となる培地を投入し、一定温度に保ちながら、通気、攪拌することによって増殖させる。一般的な培養槽の構造を第2図<sup>(1)</sup>に示す。

培養は、少液量のフラスコ培養から始めて、種々の容量のタンク培養を利用して拡大培養を行うことになる。動物細胞培養の場合は、通常1 l → 5 l → 25 l というように、5倍程度のスケールで順次拡大培養を行うことが一般的であり、一方、微生物は10倍から100倍が一般的である。これは、微生物と動物細胞の増殖速度、菌体（細胞）密度の違いによって、最適な拡大倍率が異なるためである。最終の生産用培養槽の大きさは、目的物質の生産量に応じて計画されるが、微生物用大規模プラントでは500 m<sup>3</sup>、細胞培養用では20 m<sup>3</sup>程度の規模になる。

精製工程は、分離工程と精製工程に区分される。

分離工程は目的物質回収のため、培養液中の微生物あるいは細胞を、清澄液と分離する工程である。一般的に用いられる機器は遠心力を利用して、比重が異なる成分を分離する遠心分離機や、細胞の通過を阻止して分離する膜分離装置などが挙げられる。

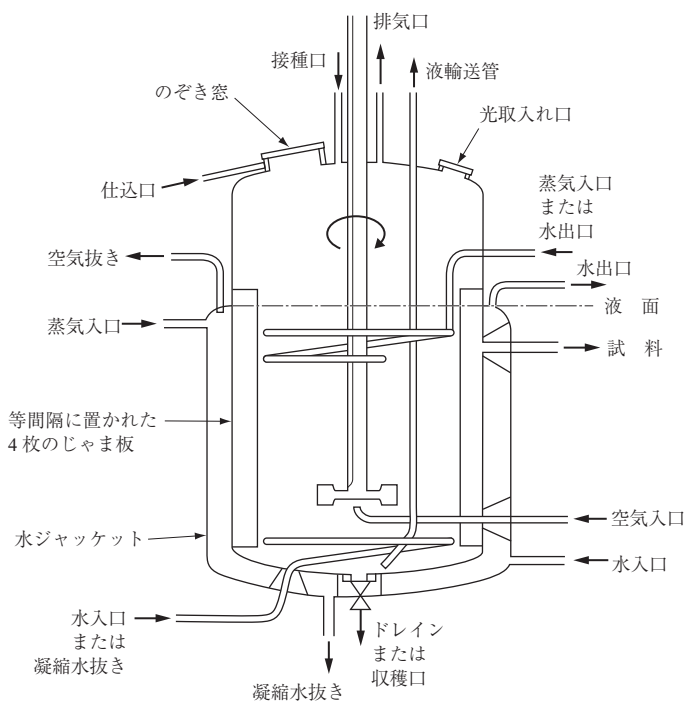
目的物質が細胞内にある場合は、収集した細胞を細胞破碎装置などで破壊するケースもある。

精製工程では、カラムクロマトグラフィー、限外ろ過、精密ろ過といった工程を組み合わせ、目的物質の純度、濃度を上げていく。

カラムクロマトグラフィーは、目的物質とそれ以外の不純物の分子の大きさ、イオン強度、そ水性などの違いによって分離する手法である。抗体生産プロセスでは生物学的親和力を利用した選択性の高いクロマトグラフィー（アフィニティクロマトグラフィー）も多く使用されている。

ろ過は、分子のサイズの違いによって分離する手法であり、ろ過膜の孔のサイズによって限外ろ過（分子量レベルでの分画）、精密ろ過（0.1～10 μm）と呼ばれ、目的によって使い分ける。精製のスケールアップおよび設計のポイントは4章で述べる。

培養工程、精製工程を経て得られた原薬は、製剤工程で補助成分の添加、無菌化、分注、凍結乾燥（粉体として取



第2図 培養槽<sup>(1)</sup>  
Fig. 2 Bioreactor<sup>(1)</sup>

り扱う場合) などを経て、薬としての製品の形になる。

### 3. 培養設備設計のポイント

前章で述べたように、培養工程は使用する生物を増殖させることによって、その生物の代謝機能を利用して目的物質を生産させることである。

培養設備設計での重要なポイントは、

- (1) 使用する生物以外の微生物の混入がないこと (雑菌汚染防止)。
- (2) 最適な培養条件を維持できること (最適な培養槽構造をもち、最適制御が可能)。

の二点である。

初めに、雑菌汚染防止について解説する。培養は、使用する微生物あるいは動物細胞を増殖させるための培地にその生物を投入して行われるが、この培地は、当然他の種類の微生物にとっても栄養源となり得る。

つまり、培地の中に、数種類の微生物が存在すると、そこに存在した微生物がすべて増殖し、増殖させたい生物の増殖の妨げになる。雑菌は大気中に存在する**かび**など、一般的に増殖しやすいものが多い。雑菌汚染を防止するため、使用する生物を培地に投入する前に、培養槽および培地内に存在する雑菌を高圧蒸気による加熱滅菌や、精密ろ過によって、あらかじめ除去あるいは死滅させること、また培養中に混入させないことなどが必要である。

また、培養槽は、培地を投入する前に、タンク本体、配管などを高圧蒸気滅菌する。この操作によって、培養槽内部は、雑菌などが存在しない、いわゆる無菌状態にすることができる。

培地の除菌、滅菌は、加熱による変性が少ないものは加熱滅菌を行うが、変性する可能性が大きい培地 (ビタミン類など) は、精密ろ過によって除菌を行う。ここまでで、培養準備が整った状態になり、後は拡大培養した培養液を培養槽内に投入し、培養工程が開始される。

次に培養槽構造の最適化について解説する。

培養においては、最適な培養条件、すなわち目的物質の濃度をできる限り高濃度に生産する条件にする必要がある。培養に影響を及ぼす培養槽内の環境因子として、下記項目が挙げられる。

- (1) 溶存酸素 (培養液中に溶解している酸素) / 分布
- (2) 溶存二酸化炭素 (培養液中に溶解している二酸化炭素) / 分布
- (3) 温度 / 分布

- (4) pH / 分布
- (5) 基質濃度 (均一分散) / 分布
- (6) 生産物濃度 / 分布
- (7) せん断応力

これらの因子は互いに影響を及ぼしあうものもあるため、複合的に最適化することが重要なポイントである。

生物の種類によってこれらの因子の最適値は異なり、動物細胞培養では、微生物培養に比べて (2), (7) の影響がより大きくなるため、より最適化の範囲が狭くなる。

上記因子を最適条件に維持するためには、**第3図**の中の一次パラメータを制御する。これを可能にする設計、運転条件を最適に設定することが最適設計である。

上記因子の動物細胞培養への影響を示した例として、**第4図**には温度の動物細胞の増殖に及ぼす影響を、**第5図**には溶存酸素濃度 (DO) の動物細胞の増殖に及ぼす影響を示した。

これらの図から分かるように、培養槽内の条件を最適値に設定して培養を行うことで、細胞の良好な増殖が可能となり、生産性向上につながる。

培養槽構造のうち、下記項目がこれらの培養槽内条件を決定するスケールアップ因子として挙げられる。

- (1) 培養槽形状 (L/D : 槽高さ と 槽径の比)
- (2) 通気方式, 通気量
- (3) 攪拌羽根形状, 攪拌回転数, 攪拌動力

例えば、**第5図**より、細胞の生存率を低下させずに培養を行うためには、DO 値を 1.5 mg/l 以上に保ちながら培養を行う必要があるが、それを達成するための培養槽の仕様は、 $k_La$  を用いて設計する。

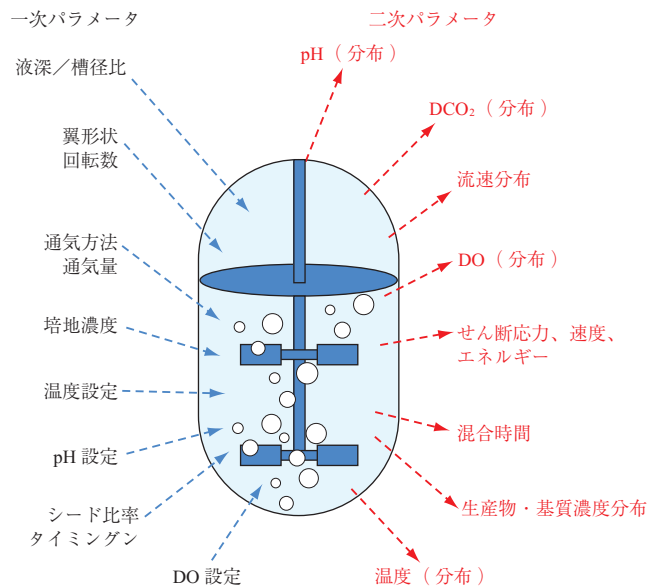
$k_La$  は、下記の (1) 式<sup>(1)</sup> で表現される酸素移動の速さを表すパラメータである。

$$\frac{dC}{dt} = k_La(C^* - C) - Q \dots\dots\dots (1)$$

ここで、

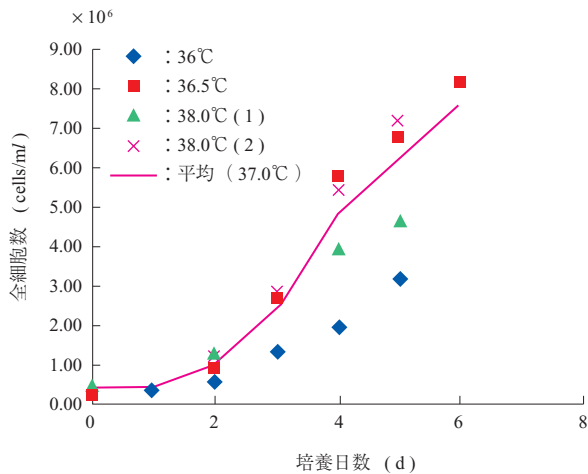
- C : 培養槽内の溶存酸素濃度
- C\* : 培養温度における飽和溶存酸素濃度
- Q : 呼吸速度
- $k_La$  : 酸素移動容量係数
- t : 時間

(1) 式で、C, C\*, Q は開発実験によって決定され、必要な  $k_La$  が決まるので、培養槽の設計 (スケールアップ) は、この  $k_La$  をパラメータとして行えばよいことになる。



(注) DO: 溶存酸素濃度  
 DCO<sub>2</sub>: 溶存二酸化炭素濃度  
 一次パラメータ: 設計者, 運転者が決定できる項目  
 二次パラメータ: 一次パラメータによって決定される項目

第3図 培養に影響を及ぼす因子  
 Fig. 3 Factors that influences cultivation



第4図 温度の動物細胞の増殖に及ぼす影響  
 Fig. 4 Influence of temperature on multiplication of animal cell

一般的に  $k_L a$  をパラメータとした設計は下記の(2)式(1)を利用して行う。

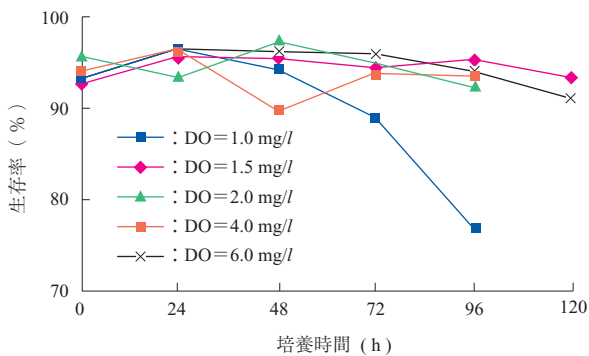
$$k_L a = b \left( \frac{P_g}{V} \right)^\alpha V_s^\beta \dots\dots\dots (2)$$

$b, \alpha, \beta$ : 係数  
 $P_g$ : 攪拌動力  
 $V$ : 培養液量  
 $V_s$ : 通気線速度 (通気線速度は, 通気量を槽断面積で除した値である.)

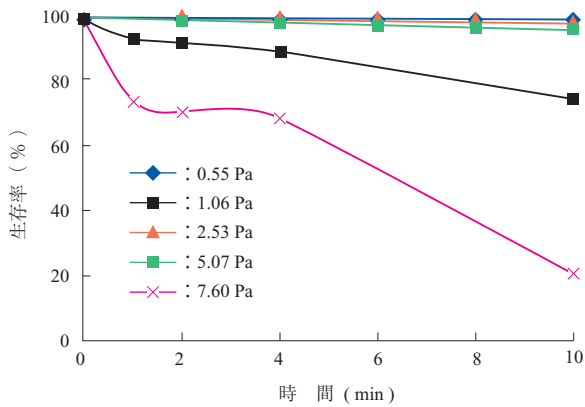
$b, \alpha, \beta$  は, 主に攪拌羽根形状, 大きさ, 段数によって決定されるので, 種々の攪拌羽根形状, 大きさ, 段数のなかで最適な条件を決定することが最適設計である. この場合, せん断力が大きいと細胞が破壊されるので, できる限り小さなせん断力 (攪拌動力) で目標の  $k_L a$  を得ることのできる攪拌羽根を選定することが必要となる. 第6図に, せん断応力の動物細胞の生存率に及ぼす影響を示す.

これに関しては, 開発実験をとおして, IPEC としての最適条件を把握している.

以上のように, 培養槽の最適設計では, 種々のパラメータについて最適化を検討する必要があるが, これらすべてを実験で検討することは時間とコストの問題があり, 得策とはいえない. そこで, 最近では CFD (Computational Fluid Dynamics) を実験と併用し, 最適化を行うことが一般



第5図 溶存酸素濃度 (DO) の動物細胞の生存率に及ぼす影響  
 Fig. 5 Influence of dissolved oxygen (DO) on viability of animal cell



第 6 図 セン断応力の動物細胞の生存率に及ぼす影響  
Fig. 6 Influence of shear stress on viability of animal cell

的となりつつある。筆者らも培養槽最適化に、CFD を取り入れている。

第 7 図はその一例であり、この図よりスケールアップするに従って、せん断力が大きくなるのが分かり、スケールアップ時には注意が必要であることが分かる。

#### 4. 精製設備設計のポイント

ここでは、精製工程で使用される主な装置について、スケールアップ、設計手法について述べる。

##### 4.1 遠心分離機

遠心分離機は、培養液を微生物（あるいは動物細胞）と培養清澄液とを分離するための装置である。

さまざまな分離機のタイプがあるが、バイオプロセスでは、主に分離板型遠心分離機やシャープレス型遠心分離機

が使用される。

分離板型遠心分離機のスケールアップは、遠心沈降面積と呼ばれるファクタによって決定される。これは、遠心分離を行うときの流量と、細胞などの沈降速度によって決定される。

しかし、培養液の性状によっては、回転による発泡などの影響によって、遠心効率が低下する場合もあるため、小型機でのテストによって確認を行うことが重要である。

##### 4.2 カラムクロマトグラフィー

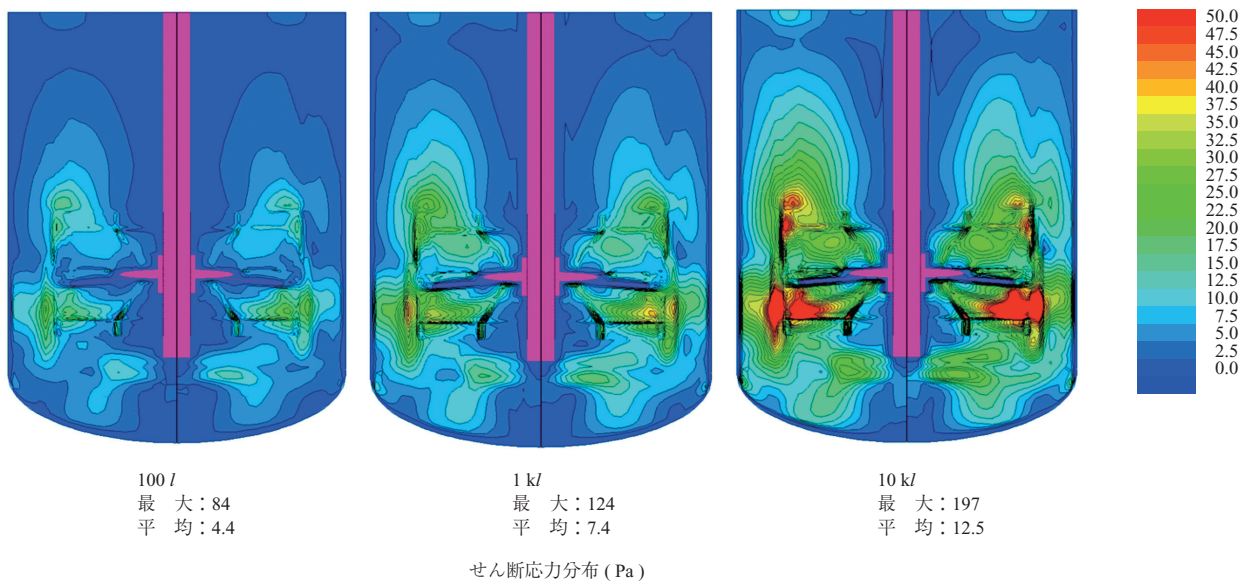
カラムクロマトグラフィーは、バイオプロセスでの精製工程にとって非常に重要な装置である。

遠心分離機にて分離された培養清澄液内には、目的物質以外に、生物代謝によってさまざまな蛋白質や低分子化合物が含まれている。これらから効率的に目的物質のみを精製するために、カラムクロマトグラフィーは非常に有効な手段となる。第 1 表<sup>(2)</sup>にクロマトグラフィーの種類と特長を示す。

実際の精製工程では、次の 4 種類が主に使用され、複数種類を組み合わせることが多い。

- (1) ゲルろ過クロマト（分子の大きさ、形状で分離）
- (2) イオン交換クロマト（イオン強度の違いで分離）
- (3) そ水クロマト（そ水力の違いで分離）
- (4) アフィニティクロマト（生物学的親和力で分離）

クロマトグラフィーのスケールアップは基本的には精製物質の処理量に応じてカラムの大きさが決定される。このとき、線速度（被処理液の流入速度をカラムの断面積で除



せん断応力分布 (Pa)  
第 7 図 培養槽内のせん断応力分布  
Fig. 7 Shear stress distribution in bioreactor

第1表 クロマトグラフィーの種類と特徴<sup>(2)</sup>  
Table 1 Types and features of chromatography<sup>(2)</sup>

液体クロマトグラフィー	分配の生じる機構	溶出法	特徴	対象物質
ゲル濾過クロマトグラフィー	分子の大きさ・形状	同一液で溶出	・分配係数が0～1なので、分離にある程度のカラム長が必要 ・処理条件が穏和 ・高回収率	脱塩、緩衝液交換、タンパク質などの分子量分画
イオン交換クロマトグラフィー	静電気	段階溶出 勾配溶出	・広い対象に適用可能 ・溶出条件によって分離度調節可能. 処理量大 ・目的画分濃縮	低分子・高分子電解質など広範囲
疎水性クロマトグラフィー	疎水力	段階溶出 勾配溶出	・吸着体の吸着力を広い範囲に調節可能 ・高いイオン強度で吸着 ・種々の溶出法によって分画可能	タンパク質, 細胞, コンホーメーション変化を伴うタンパク質
水素結合クロマトグラフィー	水素結合力	勾配溶出	・イオン交換基をもたないセルロースのカラムでは任意のpHで行える ・ほとんどのタンパク質は3M硫酸の存在下でセルロースに吸着され, 1Mで溶解されるので, 高濃度の塩により安定化される酵素の精製に適している	タンパク質
塩析クロマトグラフィー	塩濃度による溶解性の差	勾配溶出	・カラムの中にあらかじめ塩析剤の濃度勾配を形成させる場合と, 目的試料を塩析した後, カラムに加える場合がある	タンパク質
クロマトフォーカシング	等電点差	勾配溶出	・高い分離能(0.05 pI 差) ・目的画分濃縮度高い	アイソザイムなど分離困難なタンパク質
アフィニティークロマトグラフィー	生物学的親和力	段階溶出 (勾配溶出)	・高い選択性 ・目的画分濃縮度高い ・処理量大 ・リガンド, 分離条件の検討重要	低濃度生理活性物質

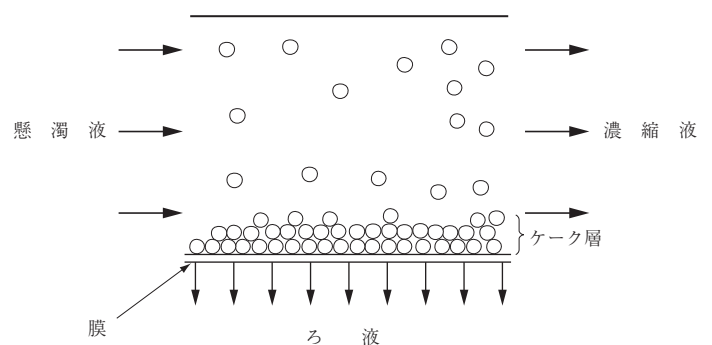
した値)を一定にスケールアップすることから, 充てん高さは高くできず, 大型になると径が非常に大きくなる. カラムに充てんされる担体は高価であるため, 大型のカラムを用いた一括処理よりは, 処理回数を増やしてなるべくカラムが小さくなるように設計することが重要である.

### 4.3 限外ろ過

2章で述べたが, 限外ろ過は分子量レベルでのろ過精度の膜を使用する.

限外ろ過装置は, 目的物質の濃縮, バッファ交換に用いられる. 機器の構成は, プロセス液を貯留するタンクと限外ろ過膜, およびプロセス液を膜へ循環させるポンプから構成される. 限外ろ過は, クロスフローろ過と呼ばれる膜の一次側は循環させて, 二次側(膜を透過する側)へ, ろ液を排出する方式をとる. 第8図<sup>(2)</sup>にクロスフローろ過の概略図を示す.

濃縮は文字どおり目的物質を透過させずに, プロセス溶液の媒体液のみ透過させることによって行う.



第8図 クロスフローろ過<sup>(2)</sup>  
Fig. 8 Tangential flow filtration<sup>(2)</sup>

バッファ交換は, 媒体液を透過させると同時に別の組成のバッファ溶液を加えることによって, 媒体液組成を変える手法である. この工程によって, クロマトグラフィーで分離できなかった低分子不純物を除去することができる.

限外ろ過装置のスケールアップは, 処理量, 処理速度から, 必要な膜枚数, ポンプの能力を決定することによって

行う。濃縮工程においては、最終濃縮液量によって、タンク形状、配管の長さなどをよりコンパクトに設計する必要がある。

## 5. 開発型バイオエンジニアリング

4章までは、バイオ医薬品プラントの概要を解説してきたが、ここでは、IPECの取組みについて解説する。

バイオプロセスはこれまで述べたように、スケールアップにおいてさまざまな因子を総合的に判断して行う必要がある。

IPECでは、正確かつ確実なスケールアップを行うことを主目的として、IHI横浜事業所内に生物学実験室を設置し、顧客の生産設備へのスケールアップデータ収集の一助とすべく、共同研究、受託調査を実施できる設備を整えている。

下記に主要な設備を示す

- (1) 振とう培養機, 5 l, 10 l, 100 l 培養装置
- (2) 6 000 l 通気攪拌槽 (培養槽構造)
- (3) 遠心分離機 (小型, シャープレス型, 分離盤型)
- (4) カラムクロマトグラフィー (10 cm カラム)
- (5) 限外ろ過フィルタ
- (6) 精密ろ過フィルタ
- (7) 細胞数計測装置
- (8) 各種分析装置 (濁度計, HPLC (High Performance Liquid Chromatography) など)
- (9) CFD システム

これらの設備を利用して、顧客と共同研究あるいは受託調査を行い、前述の設計に関する種々のデータ収集やCFD解析を行い、好評を得ている。

これまでに実施した研究は、微生物、動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵素反応すべての領域を含んでおり、現在はワクチンの生産実験を顧客と共同で実施中である。

## 6. 結 言

バイオ医薬品製造プラントに関して、プロセスの概要、培養工程、精製工程で扱われる機器のスケールアップ、設計手法の概要およびIPECの当該プラントへの取組みについて解説した。

今後も抗体医薬品が増加することが予想されており、そのプラント建設においてIPECの開発型バイオエンジニアリングを少しでも多く適用できることを期待するとともに、効率的な生産プラント建設に役立つよう、最適化検討を継続していきたい。

## 参 考 文 献

- (1) 吉田敏臣：培養工学 コロナ社 1998年
- (2) 新家 龍：微生物工学入門 朝倉書店 1995年