CELLTRION

Biosimilar Production Process 3

Purification Process

바이오시밀러 생산 과정 3

정제 공정

What is Purification Process?

정제 공정이란?

항체 단백질

버퍼 용액 입자

세포 유래물, 배양 성분,
기타 불순물 등

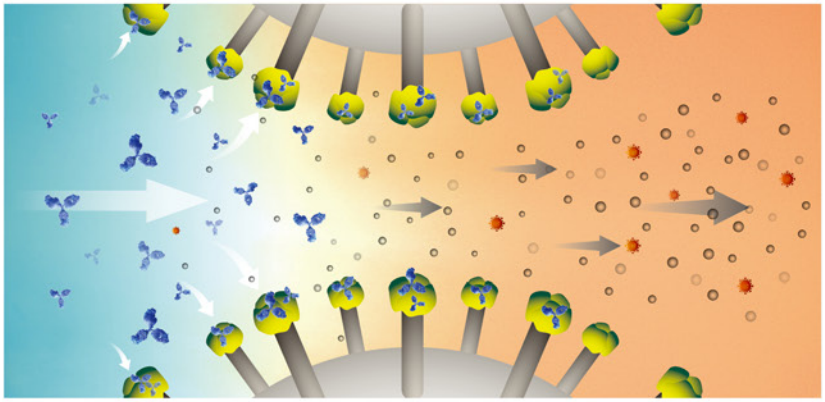
약 15일간의 세포 배양을 마친 배양액에는 의약품의 원료가 되는 항체 단백질 뿐만 아니라 세포 찌꺼기, 세포에서 유래한 바이러스, 배지, 여분의 미디어 등 다양한 성분이 혼합되어 있습니다. 정제 공정은 배양 혼합액에서 불순물을 제거하고, 항체 단백질만을 분리해 원료 의약품으로 정제하는 과정입니다.

정제 공정은 혼합 배양액에서 항체 단백질을 추출하는 초기 정제, 추출한 단백질을 의약품에 맞는 농도로 농축하고 최종 주사제에 적합한 버퍼로 치환하는 최종 정제, 제조 공정 중 유입될 수 있는 균을 제거해 원료 의약품으로 가공하는 최종 여과 3가지 과정으로 구성됩니다.

이 과정에서 원심분리 및 크로마토그래피, 한외 여과(UF, Ultrafilteration) 등 다양한 정제 기법이 사용되며 정제 공정이 진행될수록 원료의약품(DS)의 순도(Purity)는 높아집니다.

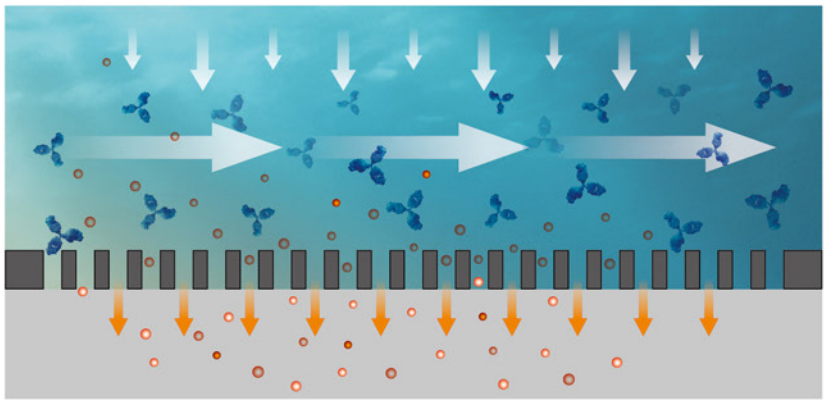
초기 정제

크로마토그래피를 이용해
항체 단백질만 추출



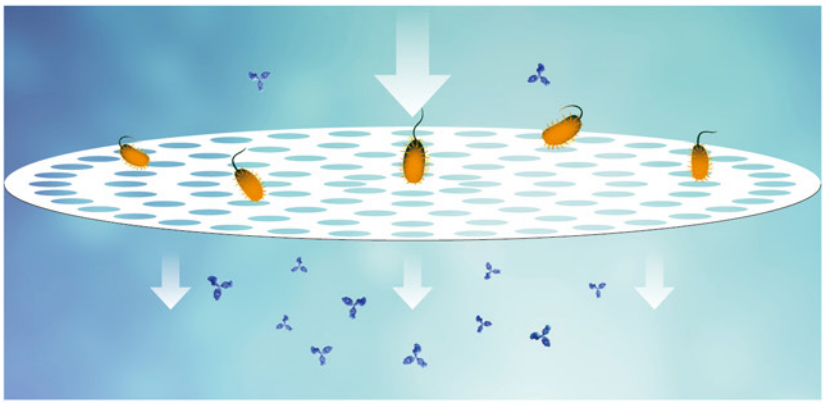
최종 정제

항체는 남기고 버퍼 용액만
추출하여 농축



최종 여과

필터를 이용해
최종 제균 실시



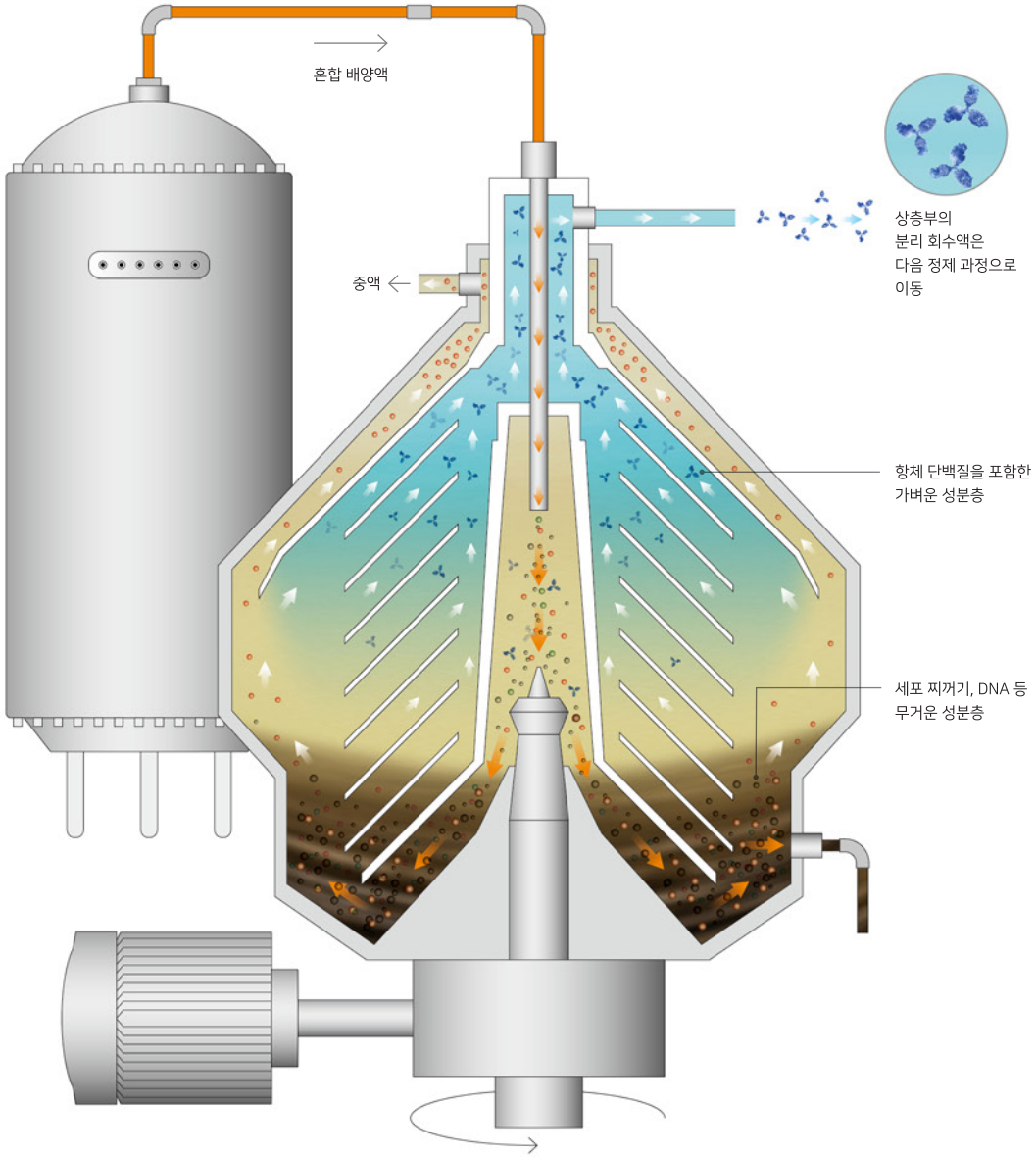
Harvest
Cell Culture Fluid

세포 배양액 채집

초기 정제는 혼합 배양액에서 원료 의약품이 되는 항체 단백질만을 분리, 추출, 여과해 내는 과정으로 크게 배양액 분리, 항체 단백질 추출, 바이러스 여과의 과정으로 이루어집니다.

혼합 배양액은 연속 원심 분리기 및 심층 여과기(Depth Filter)를 사용해 1차로 성분을 분리합니다. 연속 원심 분리기로 혼합 배양액에 원심력을 가할 경우, 배양액에 포함된 성분 중 밀도가 높은 물질은 원심력 방향으로 침전되고 상대적으로 밀도가 낮은 물질은 상층액에 남게 됩니다.

이 밀도차로 인해 항체 단백질을 포함한 가벼운 성분과 세포 찌꺼기, DNA 등의 무거운 성분 사이에는 층이 생기게 되며, 이 중 항체 단백질을 포함한 상층의 분리 회수액만을 회수한 후 본격적인 항체 정제 공정에 들어갑니다.



혼합 배양액이 원심 분리기에서 회전을 통해 2개 층으로 나뉜다.

Initial Purification

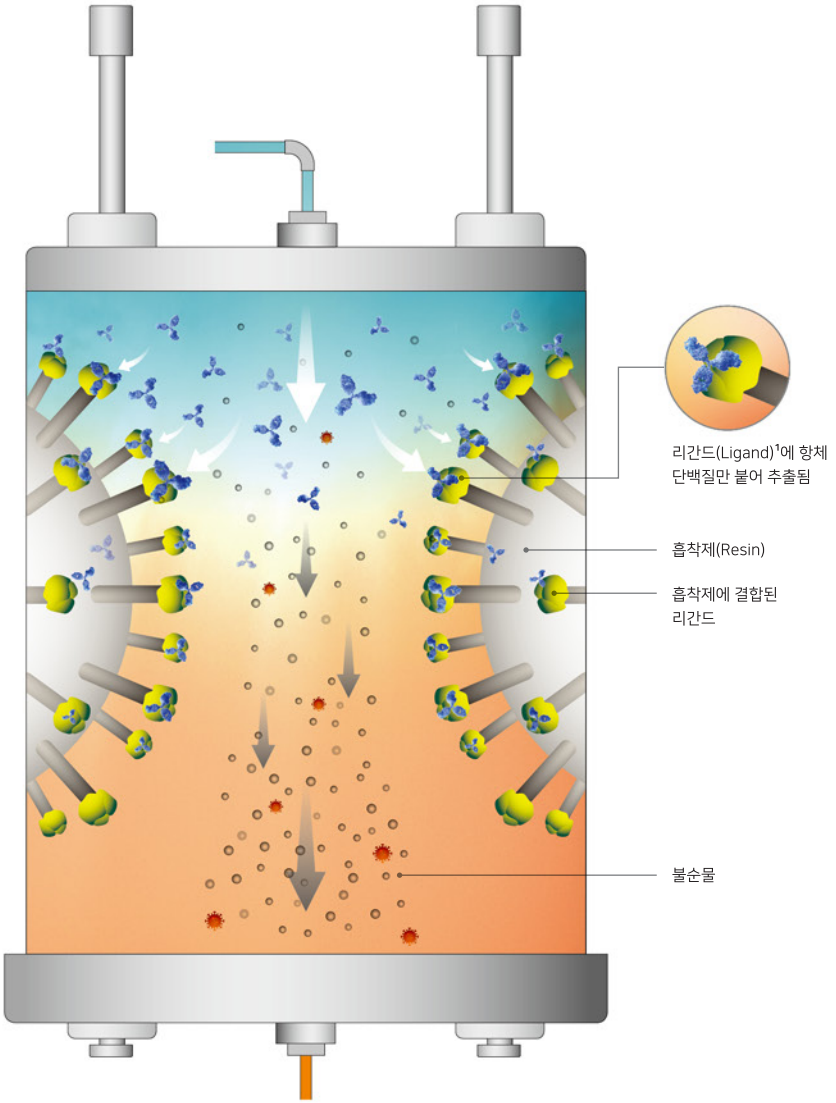
초기 정제

분리 회수액은 크로마토그래피 공정을 통해 항체 단백질만을 추출하는 과정을 거칩니다. 크로마토그래피 공정은 분리 회수액을 흡착제(수지)에 흘려 보낼 때, 흡착제가 가진 리간드(Ligand)[1]의 특성에 따라 분리 회수액 안의 성분별로 서로 다른 인력이 작용하는 원리를 이용해 항체와 불순물을 분리하는 방법입니다.

바이오의약품 제조에는 다양한 크로마토그래피 정제 공정이 이용되며 대표적으로는 특정 단백질에만 작용하는 리간드를 이용해 목표 항체 단백질을 추출하는 친화 크로마토그래피가 있습니다. 이 과정에서 약 90% 이상의 수율로 목표 항체를 채집하고 그 외 대부분의 불순물을 걸러 냅니다.

이후 원료 의약품의 순도를 높이기 위해 각 항체 단백질의 특성에 맞는 여과 과정을 실시하는데, 세포에서 유래되거나 공정 과정에서 발생한 바이러스는 바이러스 필터를 통과하면서 모두 제거됩니다.

[1] **리간드(Ligand)** 단백질이 가진 기질 특이성, 전하, 친수성, 친유성 등의 성질에 따라 결합하는 능력을 가진 물질



대표 예시 :
친화성 크로마토그래피를 이용한 항체 단백질 정제 공정

Final Purification

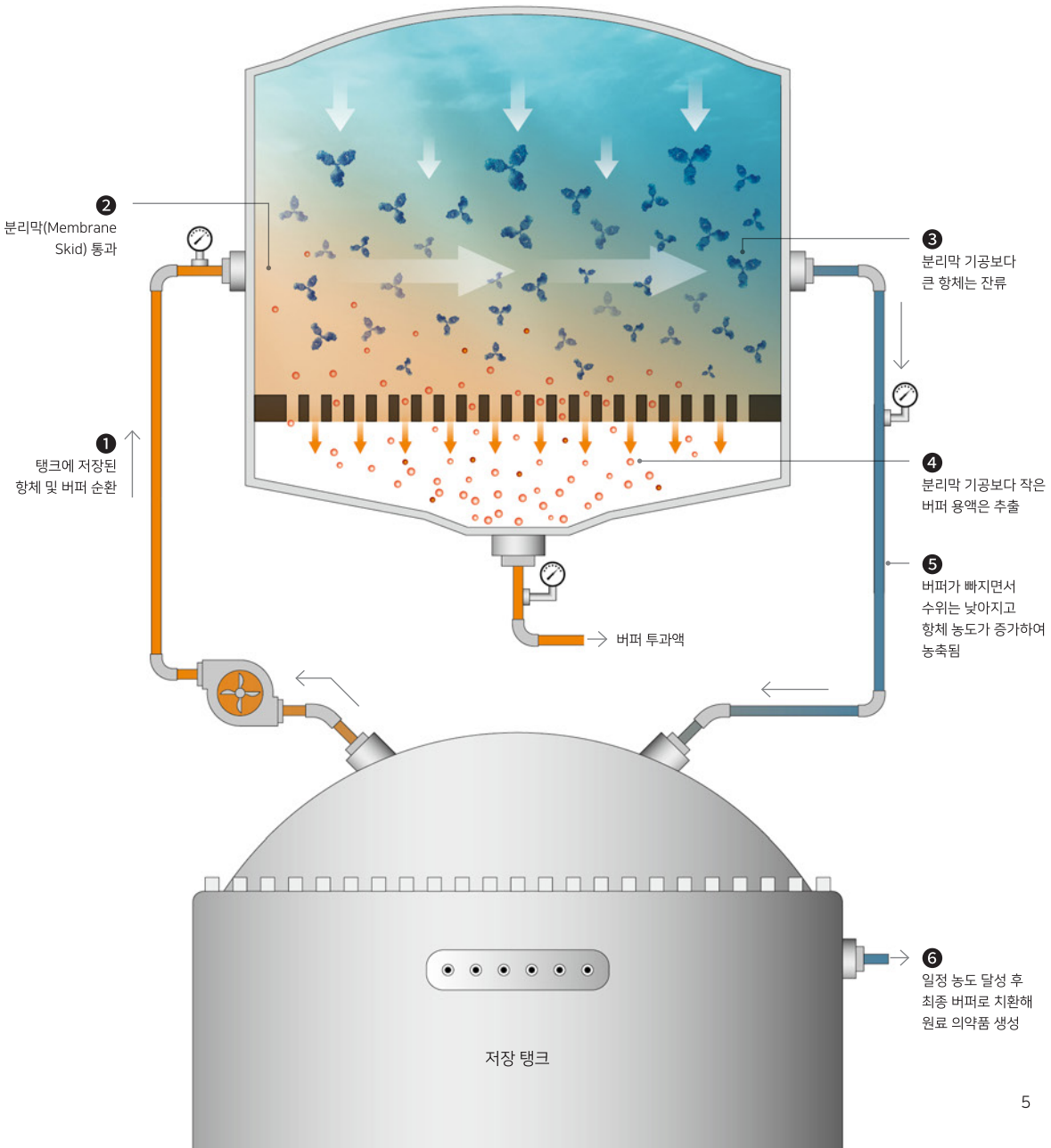
최종 정제

최종 정제는 항체 단백질을 원료 의약품으로 사용하기에 적합한 농도로 맞추고, 최종 제형에 맞게 버퍼를 교환하며, 최종적으로 여과하는 과정입니다. 항체 단백질은 적정 농도를 맞추기 위해 한외 정용 여과기를 이용한 농축 과정(UF, Ultra Filtration)과 버퍼 치환 과정(DF, Diafiltration)을 거칩니다.

먼저 UF 단계에서 항체 단백질과 버퍼 용액은 정제 기기를 순환하면서 순환 흐름과 수직 방향으로 가해지는 압력에 의해 분리막을 통과하게 됩니다. 분리막의 기공(Pore)보다 큰 항체 단백질은 그대로 남아 있고 기공 크기보다 작은 버퍼 용액은 밖으로 빠져 나갑니다. 이 과정이 반복되면서 항체는 의약품에 적합한 농도로 농축됩니다.

이후 농축된 용액의 버퍼를 인체에 무해한 최종 주사제용 버퍼로 치환하는 작업을 진행합니다. 일정 농도까지 농축된 용액에 주사제로 적합한 버퍼를 계속 흘려주면 기존 버퍼는 모두 빠져 나가고 주사용 버퍼와 항체 단백질만 남게 됩니다.

분리막 이용 정제 기기(Membrane Skid)



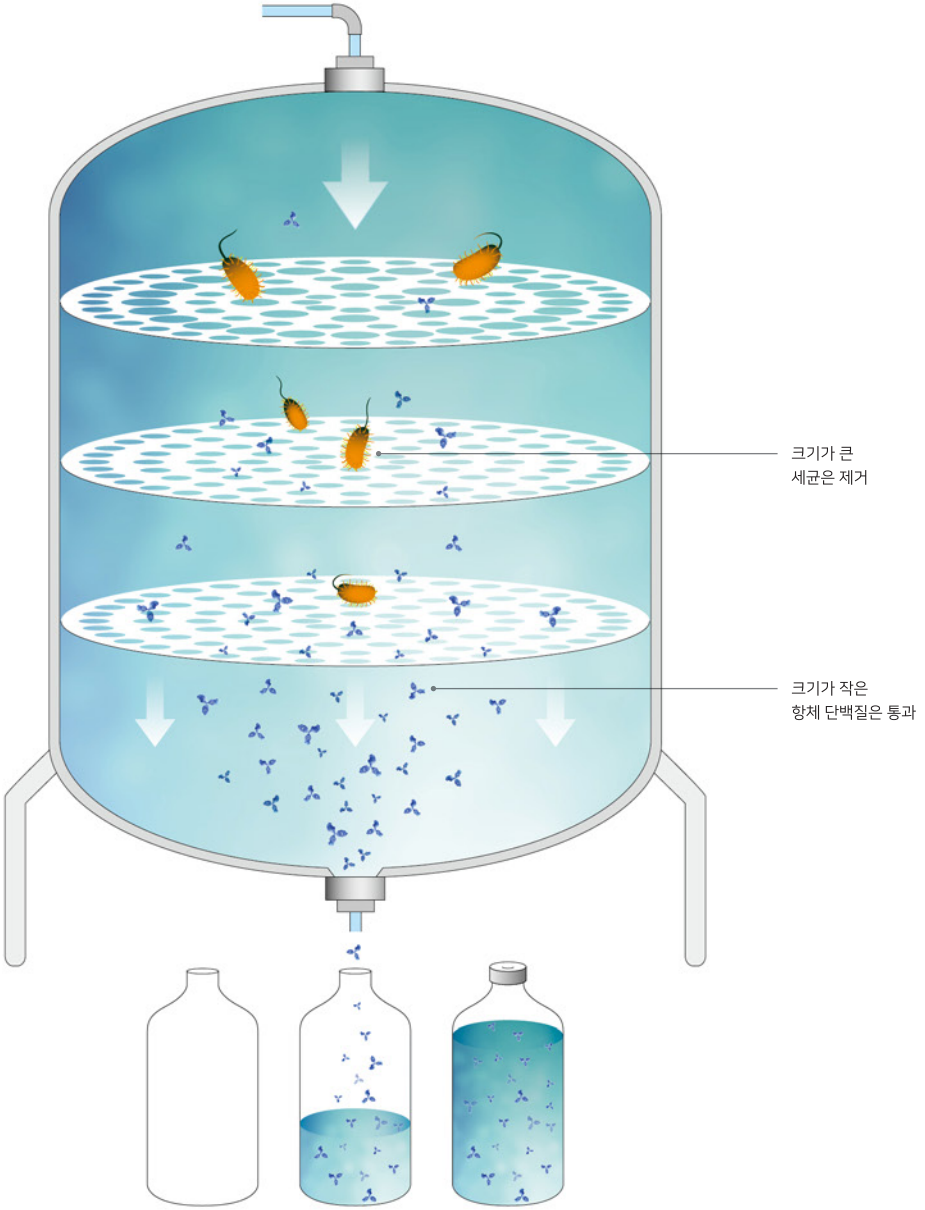
Final Filtration

최종 여과

항체 단백질 세균

최종 정제가 끝난 항체 단백질은 마지막으로 제균 여과 공정을 거쳐 원료 의약품으로 가공됩니다. 최종 여과를 통해 생산 과정에서 유입되거나 환경적인 요인으로 인해 발생할 수 있는 세균을 제거하면 비로소 불순물이 포함되지 않은 항체 단백질과 주사제용 버퍼만 남게 됩니다.

마지막 여과 과정까지 거친 항체 단백질 및 주사제용 버퍼 혼합액을 원료 의약품(Drug Substance)이라고 합니다. 원료 의약품은 바이오 의약품 생산의 최종 단계인 완제·포장 공정에서 액상 제형, 동결 건조 제형으로 가공됩니다.



기공의 크기 차이를 이용해 항체보다 크기가 큰 세균을 배제함

(주)**셀트리온**
22014 인천광역시 연수구 아카데미로 23
T. 032-850-5000

www.celltrion.com