

## Development of Miniaturized Automatic Chromatography System for Column Performance Validation : MiniValChrom

박재환, 이은규

한양대학교 화학공학과 생물공정연구실  
전화 (031) 400-4072, FAX (031) 408-3779

### Abstract

Bioprocess chromatography is probably the most widely used unit operation in biopharmaceutics manufacturing. To obtain a good quality product reproducibly, the chromatography process validation should be performed carefully. We developed a miniaturized automatic chromatography system, MiniValChrom, for column performance validation.

### 서론

최근 생물공학기술을 이용한 여러 생물산업제품들 특히 생물제제의약품의 산업화가 증가하고 있다. 이러한 생물제제의약품들의 품질은 제조공정에 따라 크게 영향을 받는다. 따라서 이들 제품들은 제조공정에 대한 철저한 검증 (validation)이 요구되며 이를 통해 FDA 관련규제를 만족시킬 수 있고, 제품의 공신력과 신뢰도를 제고시킬 수 있다.<sup>1)</sup> 본 연구에서는 생물제품의 제조에 가장 널리 쓰이는 공정인 크로마토그래피공정을 검증하기 위해 미니칼럼을 장착하여 validation 전용으로 자동화한 크로마토그래피시스템(MiniValChrom)을 개발하고자 한다.<sup>2)</sup>

### 재료 및 방법

용매의 선택 및 흐름을 컴퓨터로 제어하기에 편리한 솔레노이드 밸브((주)Cole Parmer)를 사용하였다. 모니터는 UV, pH, conductivity의 on line 측정이 가능한 UPC 900(Amersham Pharmacia biotech(주))을 사용하였다. 시스템의 컴퓨터 제어를 위해 digital output card는 Advantech(주)의 PCL-724 board를 사용하였으며, UPC 900으로부터 나오는 아날로그 신호를 디지털 신호로 변환하기 위해 Advantech(주) PCL-812PG를 사용하여 공정모니터링을 수행하였다. Fig.1에 MiniValChrom 시스템의 구성도를 제시하였다. Validation용 자동화 프로그램은 Delphi 4.0을 이용하여 작성하였다.

## 결과 및 고찰

### MiniValChrom의 operation

Equilibration, sample loading, chasing, elution, regeneration, cleaning 공정이 각각 step 별로 순차적으로 이뤄지는 크로마토그래피 공정의 특성을 고려하여 프로그램을 개발하였다. Operation mode는 manual, semi-auto, auto 등 3가지로 나누었다. Manual mode에서는 각각의 장치를 장치구성 화면에서 직접 클릭하여 on/off시킬 수 있다. Semi auto mode와 auto mode에서는 각 step의 공정조건을 실험의 조건에 따라 쉽고 자유롭게 변경이 가능하도록 GUI(graphic user interface) 기능을 제공하였다. 또한, 각 step의 공정 조건 및 정보들은 'Method'로 저장이 가능하도록 하여 동일한 실험을 추후에 수행하더라도 쉽게 재이용 할 수 있도록 하였다. Semi auto mode의 경우에는 각 step 중 사용자가 실행하고자 하는 step만 선택적으로 수행할 수 있도록 하였고, auto mode에서는 전체 공정의 반복수행 기능을 제공하였으며, cleaning step과 같이 3-4회 cycle을 진행 한 후 1회 실시하는 step을 위해 interval을 지정할 수 있도록 하였다. 한편, 모든 기기의 작동상태는 main 화면의 오른쪽에서 on line으로 확인할 수 있도록 하였다. Fig. 2에 MiniValChrom 시스템에 내재된 프로그램의 overview를 제시하였다.

### MiniValChrom의 데이터 모니터링 및 저장기능

크로마토그래피 공정의 모니터링 항목으로는 UV, pH, conductivity 등이 있다. UPC 900 모니터를 통해 측정된 세가지 변수의 아날로그 신호(0-1V full scale)를 각각 main 화면 왼쪽에 % 값으로 plot하였다. 그래프는 전체 변화추이를 볼 수는 있지만 정확한 값을 알 수 없기 때문에 화면 위쪽에 각 변수에 대한 값을 수치로 나타내었다. 또한 각 변수의 값을 보정하기 위하여 calibration 기능을 추가하였다. 공정 수행 후 얻어진 data는 MS Excel로 export 하여 사용 할 수 있도록 하였다.

### MiniValChrom을 이용한 column lifetime 검증실험

현재 MiniValChrom의 효용성을 시험하기 위해 (주)Amersham Pharmacia biotech의 HiTrap Blue column(5ml)의 lifetime 검증실험을 수행하고 있다. Model protein으로 BSA를 사용하였다. 약 100회 이상의 BSA 정제 공정 전체 cycle을 24시간 연속적으로 자동화한 공정으로 반복수행 하면서(세척 cycle 포함) 크로마토그래피의 data 분석을 통해 이론단수(HETP)를 산출하여 이 affinity 칼럼의 수명을 간접적으로 평가하고 있다.<sup>3), 4)</sup>

**요약**

크로마토그래피 칼럼 검증전용으로 미니 칼럼을 이용한 자동화된 크로마토그래피 시스템(MiniValChrom)을 개발하였다. 이 시스템은 생산용 칼럼을 scale-down한 미니칼럼을 자동적으로 반복사용 하면서 실험실 내에서 ex-situ로 크로마토그래피 공정의 검증을 수행할 수 있게 설계되었다.

**참고문헌**

1. 한국제약기술연구회, “의약품 제조와 Validation”(2000), 한국제약기술연구회, 15-16.
2. G. Sofer, L. Hagel, “Handbook of Proces Chromatography”(1997), Academic Press, 145-146.
3. R. J. Seely et al., “Biotechnology Product Validation, Part 7 : Validation of Chromatography Resin Useful Life”(1994), Biopharm, 41-46.
4. D. W. Vincent, “Qualifications of Chromatography Systems Used in Biological ,Biotechnology Production”(1998), J. of Validation Technology, 4(4), 258-269.

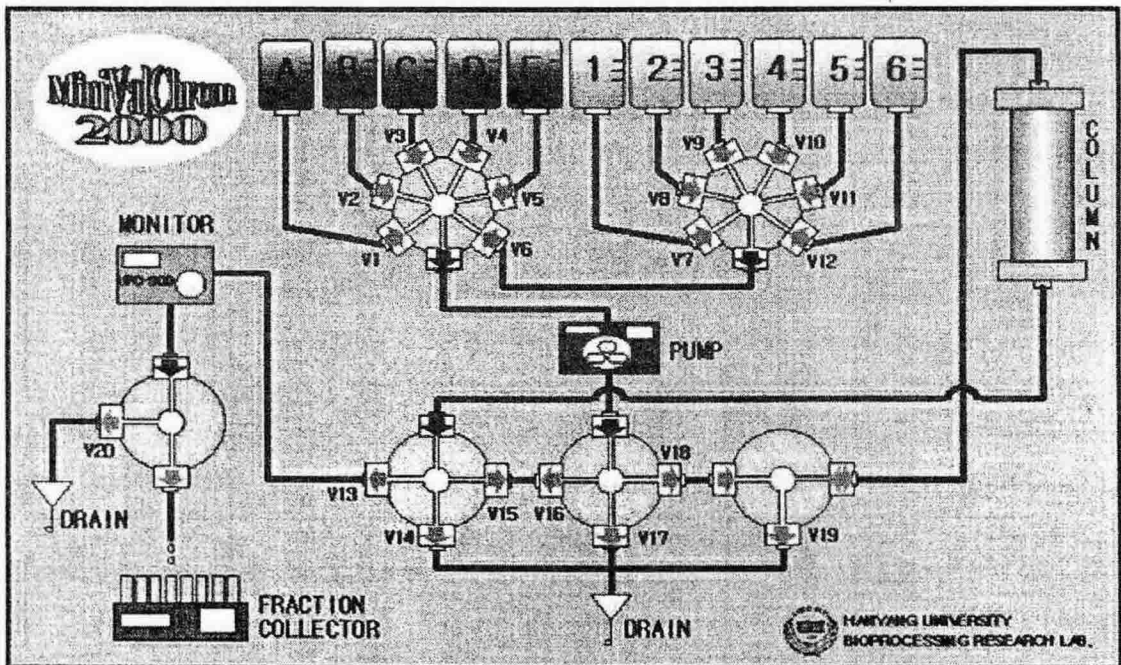
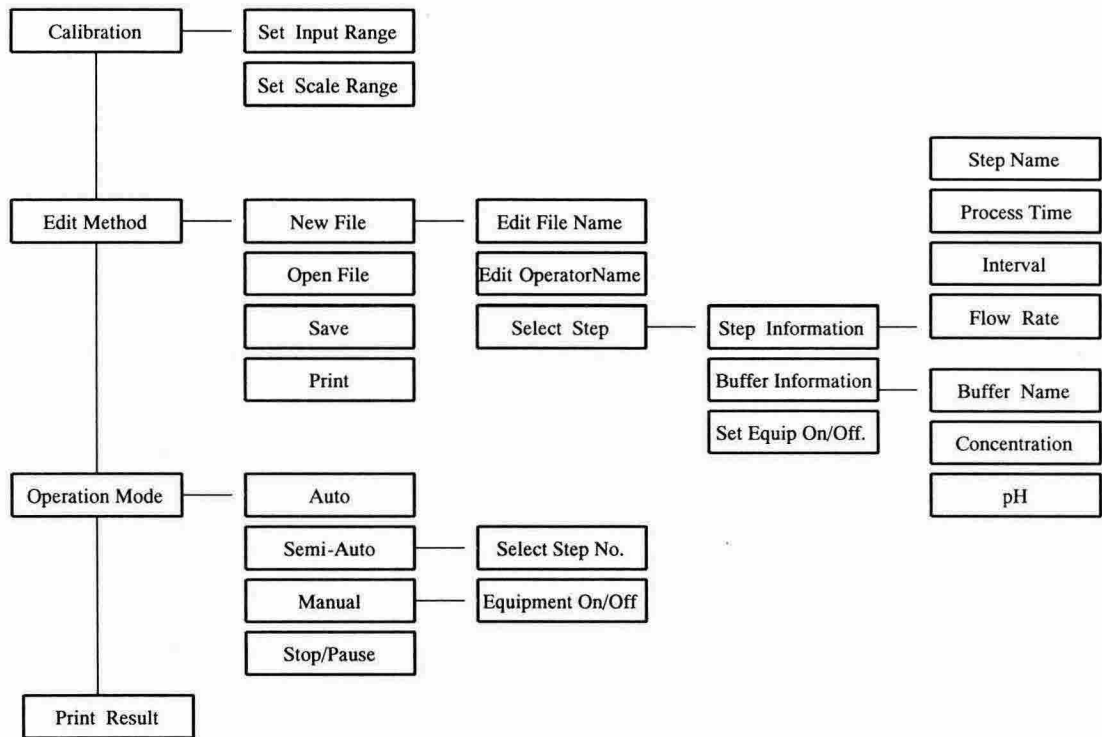


Fig. 1. MiniValChrom의 시스템 구성도



**Fig. 2 Program overview of MiniValChrom**