

2P-149 培養温度シフトを用いた Chinese Hamster Ovary 細胞による抗体医薬品の高品質、高効率生産○岸下 昇平^{1,2}, 西川 友子¹, 篠田 康晴¹, 長島 弘明¹, 岡本 浩¹, 青柳 秀紀²(1)中外製薬, (2)筑波大院・生命環境
kishishitasuh@chugai-pharm.co.jp

【目的】近年、高純度で特異性が高いモノクローナル抗体は様々な診断や治療に幅広く使用され、高い薬効と安全性が立証されている。しかしながら、抗体医薬は低分子医薬品と比べて製造コストが高いため、薬価が高額となる点が生産上の大きな問題となっている。製造コストを低減するためには抗体の生産性を向上させる事が必須であるが、同時に品質の制御も重要である。本研究では、抗体の重要な品質評価項目である酸性電荷バリエーション（目的物質由来不純物）量と抗体産生量を指標に、CHO 細胞による抗体医薬品の高品質、高効率生産法を開発した。

【方法および結果】Plackett-Burman 計画を用いて、酸性電荷バリエーションの生成に影響する8種類の培養パラメータ（pH、溶存酸素濃度等）を対象にスクリーニングした結果、培養温度を低温にシフトさせることが、酸性電荷バリエーションの抑制に寄与することを、初めて見出した。温度シフトの条件を詳細に検討した結果、シフトさせる温度低下幅の大きさやシフトタイミングの早期化によって、酸性電荷バリエーション低減に高い効果を示すことが明らかとなった。一方で温度シフトによって抗体の産生量低下も見られたことから、応答曲面計画を用いて抗体産生量と酸性電荷バリエーション量の両者を指標に、培養パラメータの最適化を実施した。その結果、酸性電荷バリエーション量を目標値まで低減させるとともに、高い抗体産生量を得るプロセスを完成させることができた。

Use of temperature shift for efficient production of high quality antibody drugs in Chinese Hamster Ovary cells.○Shohei Kishishita^{1,2}, Tomoko Nishikawa¹, Yasuharu Shinoda¹, Hiroaki Nagashima¹, Hiroshi Okamoto¹, Hideki Aoyagi²

(1)Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., (2)Grad. Sch. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba)

Key words temperature shift, acidic charge variants**2P-151 *Serratia*属細菌による BDF 廃液処理における pH および CO₂の影響評価**○滝口 昇^{1,2}, 宮保 知佳²(1)金沢大・理工・自シス, (2)金沢大院・自科)
tackey@se.kanazawa-u.ac.jp

【目的】カーボンニュートラルとして注目されているバイオ燃料の一つに、バイオディーゼル燃料（BDF）がある。BDF は現在主にアルカリ触媒法により生産されているが、原料比で約 10 wt% 副生される高濃度グリセロール含有廃液（BDF 廃液）の処理が問題視されている。この BDF 廃液は、40～60 wt% のグリセロールの他、脂肪酸やメタノール、触媒として用いる強塩基物質を含有していることから、資源として有望であると共に、環境汚染の原因となる可能性が危惧されている。本研究では、BDF 廃液を効率的に処理・変換可能な新規微生物を取得し、炭酸ガス供給および初期 pH の影響について評価をおこなった。

【方法・結果】高いグリセロール耐性および資化性を有する *Serratia* 属細菌を自然界から取得し、嫌気条件下におけるグリセロールの変換について検討を行った。嫌気条件下での培養においては、炭酸ガスの供給量によって主要な生産物の割合が変化することが考えられる。そこで供給するガスの炭酸ガス分圧による菌体増殖および生産物生産への影響評価を行った。その結果、炭酸ガス分圧が増加するに従って菌体増殖量が減少し、コハク酸やエタノールの生産が増加することが分かった。また、グリセロールの消費速度も向上した。培養初期 pH が菌体増殖や生産物生産におよぼす影響を評価したところ、増殖、コハク酸、エタノールは中性付近において最も高くなった。また、高 pH においてはギ酸や酢酸への代謝流束が増加し、一方で低 pH においては乳酸への流束が増加する傾向がみられた。

Effect of CO₂ and pH on BDF waste glycerol treatment by high glycerol-assimilating bacteria, *Serratia* sp.○Noboru Takiguchi^{1,2}, Chika Miyaho²

(1)Sch. Nat. Syst., Coll. Sci. Eng., Kanazawa Univ., (2)Grad. Sch. Nat. Sci. Technol., Kanazawa Univ.)

Key words BDF waste glycerol, *Serratia* sp., bioconversion**2P-150 細胞画像解析による iPS 細胞リアルタイム品質評価法の開発**○長坂 理紗子¹, 岡田 光加¹, 佐々木 寛人², 蟹江 慧¹, 菅 三佳³, 柳原 佳奈³, 福田 隆之³, 清田 泰次郎⁴, 古江 楠田 美保³, 加藤 竜司¹(1)名大院・創薬科学, (2)名大院・工・生物機能, (3)医薬基盤研・難病・疾患資源研究部, (4)ニコン
kato-r@ps.nagoya-u.ac.jp

iPS 細胞は、患者自身の細胞を使用し治療を行う再生医療や、薬剤の薬効評価や安全性試験などの創薬スクリーニングへの利用が期待され、セルバンク化が急速に進んでいる。iPS 細胞を医用目的の細胞として使用するためには、未分化状態を維持した細胞を大量に提供されなければならないが、iPS 細胞の未分化維持増殖培養はテクニカルに難しく、培養者の手技や培養条件によって品質が変化してしまう。このため iPS 細胞の大量供給のためには今後自動化に繋がる技術開発が必須である。

本研究は、培養熟練者の経験的な iPS 細胞の品質評価基準を技術として確立し、非侵襲的かつ生産的に、恣意的なヒトの判断に依存しない安定で迅速な品質評価法の開発を目指している。我々は、iPS 細胞の培養中の位相差画像から形態情報を数値として抽出し、定量化を行っており、本研究ではヒト iPS 細胞の1週間の培養過程を全自動細胞培養管理装置にて画像取得し、ここから各コロニーの形態情報を数値化し、これらを統計的に分析した。そしてその可視化方法を開発することによってリアルタイムな細胞品質評価の有効な手法を開発したのでこれを報告する。iPS 細胞株として複数の株を比較することで、コロニーの形のパターンに変化が生じるかを検証した。

Image-based real-time monitoring method for iPS cell quality maintenance○Risako Nagasaka¹, Mika Okada¹, Hiroto Sasaki², Kei Kanie¹, Mika Suga³, Kana Yanagihara³, Takayuki Fukuda³, Yasujiro Kiyota⁴, Miho Furue-Kusuda³, Ryuji Kato¹

(1)Grad. Sch. Pharma. Sci., Nagoya Univ., (2)Dept. Biotechnol., Grad. Sch. Eng., Nagoya Univ., (3)Depart. Dis. Biores. Res., Nat. Inst. Biomed. Innov., (4)Nikon Corporation)

Key words Image analysis, iPS cells, Quality control, Real-time monitoring**2P-152 Optimization of pigment productivity by *Talaromyces purpurogenus* and application of the pigments in photovoltaic cells.**○Cosmas T. Ugwu¹, Christiana Nwakaego Ogbonna², James Chukwuma Ogbonna³, Takashi Ueno⁴, Hideki Aoyagi¹
(1)Grad. Sch. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba, (2)Dept. Plant Sci. Biotechnol. Uni. Nigeria, Nsukka, (3)Dept. Microbiol., Uni. Nigeria, Nsukka, (4)Dept. Mater. & Environ. Engineering, Hakodate Natl. College of Tech.)
aoyagi.hideki.ge@u.tsukuba.ac.jp

Talaromyces purpurogenus is a pigment producing fungus isolated from a cassava-processing site in Abakiliki, Nigeria. Pigments produced by *T. purpurogenus* were highly stable at high temperature as determined by autoclaving at 121°C for 15 min and heating at 80°C water bath for 1 h. The pigments were also stable at a wide range of pH values¹. These characteristics makes the pigments suitable for use in various fields that involves heating under wide range of pH. Pigment concentration reached 5.2 g/L and 4.17 g/L (ethyl acetate soluble extracts respectively) in Glucose- glycerol medium. Inertstep column (GL Sci. Inc. Japan) adjusted to pH 3 adsorbed glycerol components, leaving behind a clear pigment. Nitrogen and carbon sources are important in pigment productivity. Our preliminary investigation has shown that pigments produced by *T. purpurogenus* have high potentials as sensitizers in dye-sensitized solar cell (DSSCs). However, the photoconversion efficiency of the DSSCs is still low. The improvement of the adsorption amount of the pigment on titania electrode will promote the production of solar energy in the DSSCs. We are now working on optimization of pigment productivity by *T. purpurogenus* using a circulating loop bioreactor and improvement of the photosensitizing ability of the pigments.

1) SBJ annual conference, 2013 p. 145

Optimization of pigment productivity by *Talaromyces purpurogenus* and application of the pigments in photovoltaic cells.○Cosmas T. Ugwu¹, Christiana Nwakaego Ogbonna², James Chukwuma Ogbonna³, Takashi Ueno⁴, Hideki Aoyagi¹

(1)Grad. Sch. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba, (2)Dept. Plant Sci. Biotechnol. Uni. Nigeria, Nsukka, (3)Dept. Microbiol., Uni. Nigeria, Nsukka, (4)Dept. Mater. & Environ. Engineering, Hakodate Natl. College of Tech.)

Key words *Talaromyces purpurogenus*, pigment, photosensitizers, photovoltaic cells