

2P-241 抗体・蛋白質医薬精製向け弱酸性陽イオン交換および弱塩基性陰イオン交換分離剤の性能評価

○徳永 和彦, 野崎 晋也, 小原 祥平, 砥綿 正人, 安田 則幸,
福田 義人, 奥田 祥也, 足立 正
(三菱化学)
4407404@cc.m-kagaku.co.jp

【背景と目的】IgG型全長抗体医薬製造のダウンストリームにおけるクロマトグラフィープロセスでは、Protein A アフィニティクロマトグラフィーによるキャプチャー工程に続き、陽イオン及び陰イオン交換クロマトグラフィーによる抗体凝集体、Host Cell Protein、DNA等を除去するポリッシング工程を経る、いわゆる「プラットフォーム」が構築されている。一方、低分子型抗体等の次世代型抗体やその他の蛋白質医薬では、その構造上の多様性から、イオン交換クロマトグラフィープロセスにおいて広範囲な分子量・分子性状の対象に対する高吸着性と高分離性が求められる。かかる背景に鑑み、IgG型全長抗体医薬製造プロセスに多用される強酸性・強塩基性イオン交換分離剤とは異なる選択性・吸着性が期待される弱酸性・弱塩基性イオン交換分離剤の開発を進めており、それらの評価を実施した。

【方法】イオン交換分離剤の基本特性を支配する基剤設計を改良し、機械的強度及び広範囲な分子量の対象物への高拡散性、高吸着量を確保するために最適な粒子径、細孔物性を検討し、性能を評価した。

【結果と考察】機械的強度および細孔物性を評価するとともに、弱酸性あるいは弱塩基性イオン交換分離剤としての基本的分離性能を評価した。また、強酸性・強塩基性イオン交換分離剤とは異なる分離挙動についても言及する。

Performance evaluation of weakly acidic and weakly basic ion exchangers intended for purification of protein drugs

○Kazuhiko Tokunaga, Shinya Nozaki, Shouhei Ohara, Masato Towata,
Noriyuki Yasuda, Yoshito Fukuda, Shoya Yoda, Tadashi Adachi
(Mitsubishi Chemical)

Key words weakly acidic cation exchanger, weakly basic anion exchanger, purification, antibody

2P-242 遺伝子組換え菌による糖からの P(3HB-co-3HA)共重合ポリエステルの生合成に関する研究

○脇田 和¹, 外村 彩夏¹, 植垣 丈治², 田中 賢二³, 松崎 弘美^{1,4}
(¹熊本県大院・環境共生, ²東工大院・総理工, ³近大・産理工, ⁴熊本県大・環境共生)
matusaki@pu-kumamoto.ac.jp

【目的】*Ralstonia eutropha* は糖や炭酸ガスからポリ-3-ヒドロキシブタン酸(P(3HB))を合成するが、これは硬くて脆く実用性に乏しい。そこで、本菌および大腸菌の組換え株を作製し、脂肪酸合成経路を介して炭素数4~12の3-ヒドロキシアルカン酸(3HA)からなるP(3HB-co-3HA)共重合ポリエステルを合成することを目的とした。

【方法および結果】大腸菌 LS5218 株に *Pseudomonas* sp. 61-3 の低基質特異性ポリヒドロキシアルカン酸(PHA)重合酵素遺伝子、(R)-3-ヒドロキシアル ACP:CoA トランスフェラーゼ遺伝子、*R. eutropha* 由来 3HB ユニット供給系酵素遺伝子、さらには、*Pseudomonas aeruginosa* の推定(R)-3-ヒドロキシアル CoA ((R)-3HA-CoA) リガーゼ遺伝子を導入した組換え株を作製した。この組換え株をグルコースを唯一の炭素源として培養した結果、P(94.6% 3HB-co-5.4% 3HA) が 20 wt% 合成された¹⁾。同様に、これらの遺伝子を *R. eutropha* PHB-4 に導入した組換え株を作製し、フルクトースを唯一の炭素源として培養を行った結果、35 wt% の PHA が蓄積されたが、中鎖長 3HA ユニットの PHA 鎖中への取り込みはなかった。*R. eutropha* の分子育種を進めるとともに、*Pseudomonas* sp. 61-3 の推定(R)3HA-CoA リガーゼ遺伝子のクローニングを現在行っている。
1) Hokamura *et al.*, *J. Biosci. Bioeng.* (2015)

Study on biosynthesis of P(3HB-co-3HA) copolymers from sugar by recombinant bacteria

○Izumi Wakida¹, Ayaka Hokamura¹, Takeharu Tsuge², Kenji Tanaka³,
Hiromi Matsusaki^{1,4}
(¹Grad. Sch. Environ. Sym. Sci., Pref. Univ. Kumamoto, ²Interdiscip. Grad. Sch. Sci. Eng., Tokyo Tech, ³Fac. Humanity-Oriented. Sci. Eng., Kinki Univ., ⁴Fac. Environ. Sym. Sci., Pref. Univ. Kumamoto)

Key words polyhydroxyalkanoate, PHA, biodegradable plastic, *Ralstonia eutropha*

2P-243 乳酸ユニットを含む新規モノマー組成からなる生分解共重合ポリエステルの生合成

○後藤 早希¹, 外村 彩夏², 西村 綾乃², 田口 精一³, 松本 謙一郎³,
田中 賢二⁴, 松崎 弘美^{1,2}
(¹熊本県大院・環境共生, ²熊本県大・環境共生, ³北大院・工, ⁴近大・産理工)
matusaki@pu-kumamoto.ac.jp

【目的】ポリ乳酸(PLA)は透明性にすぐれた生分解性プラスチックであり、通常、化学重合により合成される。近年、微生物菌体内で乳酸(LA)ユニットを含む共重合ポリエステルの合成が報告されている¹⁾。本研究では、LA ユニットをはじめ、さまざまなモノマーユニットからなる共重合ポリエステルを合成することを目的とした。

【方法および結果】改変ポリヒドロキシアルカン酸重合酵素(PhaCI(STQK))および *Lactobacillus acetotolerans* HT の D-乳酸脱水素酵素(LdhD)の遺伝子、そして、モノマー供給系酵素遺伝子を導入した組換え大腸菌を作製した。これを、2%グルコース含有LB培地にて、微嫌氣的条件下で培養すると、LAユニットと3-ヒドロキシブタン酸(3HB)ユニットからなる共重合ポリエステル P(LA-co-3HB)を合成した。さらに、3-ヒドロキシアル ACP:CoA トランスフェラーゼ遺伝子(*phaG*)と *Pseudomonas aeruginosa* の3-ヒドロキシアル CoA リガーゼ遺伝子(PA3924)を大腸菌に導入すると、グルコースから中鎖長3-ヒドロキシアルカン酸(3HA)ユニットを含む P(LA-co-3HB-co-3HA) 共重合ポリエステルを合成した。このようなモノマー組成からなる共重合体はこれまでに報告がなく、新規生分解性共重合ポリエステルが生合成された。

1) Taguchi, S. *et al.*, *PNAS*, 105, 17323 (2008)

Biosynthesis of novel biodegradable copolyesters containing lactate unit

○Saki Goto¹, Ayaka Hokamura¹, Ayano Nishimura², Seichi Taguchi³,
Ken'ichiro Matsumoto³, Kenji Tanaka⁴, Hiromi Matsusaki^{1,2}
(¹Grad. Sch. Environ. Sym. Sci., Pref. Univ. Kumamoto, ²Fac. Environ. Sym. Sci., Pref. Univ. Kumamoto, ³Grad. Sch. Eng., Hokkaido Univ., ⁴Fac. Humanity-Oriented. Sci. Eng., Kinki Univ.)

Key words biodegradable plastic, polyhydroxyalkanoate, PHA, lactate dehydrogenase

2P-244 間葉系幹細胞増殖用のマイクロキャリアと攪拌条件の検討

高橋 伊織¹, 佐藤 啓悟¹, 目良 亘², 脇谷 滋之³, ○高木 睦¹
(¹北大院・工, ²武庫女大院・健康スポ, ³広島大院・医)
takagi-m@eng.hokudai.ac.jp

【目的】ヒト間葉系幹細胞(MSC)のマイクロキャリア培養法による大量増殖検討の報告はほとんどない。そこでヒトMSCを用いて、表面型と多孔性型マイクロキャリアの比較および増殖培養における凝集体形成を防ぐための攪拌速度の検討を行った。

【方法】ヒト骨髄由来MSCを表面型(Cytodex 1)と多孔性型マイクロキャリア(Cytopore 1および2)に接着させ、スピナーフラスコ中(液量10 ml)で攪拌培養した。さらに、トリプシンを用いないCytodex から Cytodex への継代増殖(Beads-to-beads 継代法)も行った。

【結果・考察】MSCはCytodex 1では増殖したがCytoporeではほとんど伸展・増殖しなかった。Cytodex 1の浮遊に必要な最低攪拌速度30 rpmでの継代増殖ではマイクロキャリア凝集体が多数形成された。一方種々の攪拌速度(30, 60, 90 rpm)での培養では、凝集体の割合は各々64, 32, 20%となったが、最終細胞濃度は60 rpmが最も高かった。60 rpmでの増殖ではMSC表面抗原は良好に維持されていた。

Microcarrier and agitation for growth of mesenchymal stem cells

Iori Takahashi¹, Keigo Sato¹, Hisashi Mera², Shigeyuki Wakitani³,
○Mutsumi Takagi¹
(¹Grad. Sch. Eng., Hokkaido Univ., ²Grad. Sch. Health Sports Sci., Mukogawa Women's Univ., ³Grad. Sch. Biomed. Sci., Hiroshima Univ.)

Key words mesenchymal stem cell, microcarrier, agitation