

- ◎ 目的物質に合った生物種をいかに選ぶか？ 生産性の高いプロセスの設計、操作条件の勘所は？
- ◎ 開発にかかる時間や生産スピード/コスト等、各手法の長所・短所を明確にし、課題解決に活かす！

# バイオプロセス を用いた 有用性物質生産技術

～動物・植物細胞や微生物の培養・分離精製技術～

● 発刊予定: 2022年11月末 ● 体裁: A4判 500頁 ● 定価: 88,000円(税込) ● ISBN: 978-4-86104-904-0

※ 大学、公的機関、医療機関の方には割引価格(アカデミック価格)で販売いたします。詳しくはお問い合わせください。



技術情報協会 バイオプロセス 書籍

## 本書のポイント

### 【1】生産性の高いバイオリアクターの設計とその操作条件の最適化

- ・装置設計や操作条件の設定に、反応式や物質収支・速度論をいかに活用する？
- ・大型の装置へスケールアップさせる際のデータのとり方、見方
- ・スケールアップでこれまで頼ってきた、ベテランの“経験・カン”を形式知にする、科学的・定量的なアプローチ

### 【2】目的に応じた培養方法の選択、最適な培養操作のポイント (動物細胞/植物細胞/微生物)

- ・目的の生産物やその特色にあった培養法をいかに選ぶか？
- ・培養手法毎にみた培地の選定と使用、温度・湿度の管理など、適切な手法のマニュアル！

### 【3】微生物を活用した有用性物質の生産技術を事例豊富に掲載！

- ・大腸菌、酵母、放線菌、糸状菌、麹菌など、各種微生物のメリット・デメリットや活用の留意点
- ・発酵プロセス設計での具体的留意点と事例

### 【4】バイオ生産における分離精製技術と活用のポイント

- ・回収・濾過・膜分離・吸着・濃縮・抽出やクロマトグラフィー技術など、各種分離技術の活用

## 執筆者 (敬称略)

帝京科学大学 (株)丸菱バイオエンジ 大阪工業大学 東洋大学 佐竹マルチクス(株) 鈴鹿工業高等専門学校 九州大学 福井大学 (株)レイメイ (株)セルミック 元 持田製薬(株) 名古屋大学 玉川大学 徳島大学 徳島大学 東京工業大学 北海道三井化学(株)	松岡浩 佐久間英雄 長森英二 川瀬義矩 加藤好一 小川亜希子 河邊佳典 寺田聡 宮崎隆道 古江美保 片山政彦 西島謙一 大橋(兼子)敬子 和田直樹 刑部敬史 岩手祐里子 加藤嘉博	県立広島大学 京都大学 北見工業大学 石川県立大学 明治薬科大学 明治薬科大学 広島大学 東北大学 金沢工業大学 (地独)大阪産業技術研究所 (地独)大阪産業技術研究所 東京大学 あいち産業科学技術総合センター 岩手県工業技術センター 京都大学化学研究所 中外製薬(株) 岩手大学 岩手大学 岩手大学	荻田信二郎 西村裕志 小西正朗 中川明 松本靖彦 杉田隆 荒川賢治 五味勝也 尾関健二 木曾太郎 桐生高明 丸山潤一 近藤徹弥 玉川英幸 田村武幸 徳山健斗 太田陽介 齋藤祐介 山田美和	関西大学 奈良県産業振興総合センター 奈良先端科学技術大学院大学 NPO法人 兵庫県技術士会 名古屋大学大学院 東北大学 東北大学 東京大学 東京大学 長浜バイオ大学 早稲田大学 早稲田大学 三菱ケミカル(株) 三菱ケミカル(株) アライアンス プロテイン ラボラトリーズ シスマックス(株) 大阪公立大学 産業技術総合研究所 東北大学	片倉啓雄 大橋正孝 高木博史 濱崎彰弘 向井康人 大田昌樹 柴原歩大 伊藤大知 高井まどか 長谷川慎 松方正彦 酒井求 足立正 小原祥平 荒川力 江島大輔 岡澤敦司 平野篤 松田修汰	浦田宙明 平賀佑也 長瀬健一 池田丈 黒田章夫 西尾俊幸 兒島憲二 尾島由紘 東雅之 由里本博也 坪井宏和 加戸悠 幸田明生 伊東昌章 藤山和仁 西澤直城 Siti Fatimah Binti Aminuddin 伊藤誠治 矢吹知佳子
--	---	--	---	--	---	---

## ■1章 物質生産のための バイオリアクターの設計とスケールアップ

- ### 1節 バイオリアクターの種類と用途・選定のポイント
1. 培養操作の違いによるバイオリアクター
  2. 培養槽形状の違いによるバイオリアクター
  3. 培養方法、培養対象の違いによるバイオリアクター
- ### 2節 バイオリアクターの運転・操作のポイントと生産性向上
1. バイオリアクター(MUB)運転の諸工程
  2. MUB構成要素のリスク評価に基づくメンテナンス
  3. メンテナンス
  4. 雑菌汚染(コンタミネーション)
- ### 3節 バイオリアクターにおける反応式とその活用法
1. フラスコから卓上型バイオリアクター(通気攪拌培養槽)へのスケールアップ
    - 1.1 細胞濃度Xを高めるために活用すべき培養パラメーター
    - 1.2 生産物濃度Pを高めるために活用すべき培養パラメーター
    - 1.3 細胞にかかるシェアストレスを簡便に把握するための指標
  2. 卓上サイズから大型バイオリアクターへのスケールアップ
- ### 4節 バイオリアクターのスケールアップ法とその留意点
1. バイオリアクター
  2. スケールアップ法

3. スケールアップの相似則と基準因子
4. スケールアップ計算テンプレート
5. CFD(数値流体力学)による流動解析の利用

- ### 5節 生産用シングルユース バイオリアクターの開発・設計と留意点
1. バイオリアクター・システムのシングルユース化のメリット
  2. 生産用シングルユースバイオリアクターの設計及び用途開発
  3. シングルユースシステム及び周辺デバイスの開発・設計と留意点

## ■2章 動物細胞培養での留意点と 物質生産への応用

- ### 1節 接着培養(単層培養・静置培養)による動物細胞の培養
1. 動物細胞の足場依存性と接着培養の必要性
  2. 接着培養に必要な器具や試薬類
  3. 培養操作上の注意点
- ### 2節 浮遊培養による動物細胞の培養
1. 浮遊培養による動物細胞培養
    - 1.1 浮遊細胞培養
    - 1.2 組織スチマック質生産のための無血清培地
    - 1.3 その他浮遊培養における注意点
- ### 3節 培地最適化とpH・浸透圧の制御のポイント
1. 培地成分の最適化
  2. 物理的環境の最適化

### 4節 動物細胞培養における温度・湿度の制御と培養操作でのポイント

1. 細胞と温度の関係性
2. 温度を中心とした培養操作のポイント
3. 細胞と湿度の関係
4. 湿度を中心とした細胞培養時のポイント

### 5節 無血清培養技術とその培地活用・設計のポイント

1. 歴史
2. 無血清培地の設計の目的
3. 設計のポイント
4. 応用例

### 6節 生産用動物細胞のフェドバッチ培養とスケールアップのポイント

1. フェドバッチ培養の基本戦略
2. フェドバッチ培養の最近の動向

### 7節 物質生産能の高い育種法の開発と活用

1. CHO細胞において導入外来遺伝子を高発現する染色体領域の探索
2. 導入遺伝子を高発現する染色体部位の特徴
3. ゲム編集によるエンハンサー活性の評価
4. 異なるタイプの導入遺伝子高発現部位の探索

### ■3章 植物／植物細胞を用いた物質生産技術

#### 1節 人工光植物工場における付加価値植物の生産

1. 赤青混合光への緑色光補光がリーフレタスの品質に及ぼす影響
2. 短波長光照射によるニチニチソウの葉効成分濃度向上化
3. モノテルペンインドールアルカロイドの汎用製造プラットフォームとしてのニチニチソウの利活用

#### 2節 新規ゲノム編集技術開発による植物細胞の機能改変

1. ゲノム編集技術の原理
2. CRISPR-Cas9の課題と改良
3. 新しいゲノム編集技術の開発
4. CRISPR-Casを基盤にしたさまざまなゲノム編集
5. 植物へのゲノム編集技術の最適化

#### 3節 シングルユースバッグを用いた植物細胞の低コスト培養技術

1. シングルユースバッグの開発
2. シングルユースバッグを用いた植物細胞培養
3. 今後の課題

#### 4節 植物細胞培養の各種手法とその培養操作・培地最適化のポイント

1. 植物細胞培養の基本
  - 1.1 供試材料の選定とその扱い
  - 1.2 培養条件の決定
  - 1.3 培養細胞の特性把握と選抜

#### 5節 植物細胞壁の破碎・溶解法の検討と分析・評価

1. 循環型資源である植物バイオマス
2. 多様な植物成分
3. 植物細胞壁成分
4. 微粉砕方法
5. 木材細胞壁成分の微粉砕法
6. 天然型リグニンである磨砕リグニンMilled Wood Lignin (MWL)の調製方法
7. NMR法による分析
8. 誘導体化反応と合わせた分析
9. リグニン-多糖複合体試料の調製法と構造解析

### ■4章 微生物を利用した有用物質生産と発酵プロセス設計

#### 1節 微生物培養の各種手法とその培養操作・培地最適化のポイント

1. 培養の形態
2. 培地成分の理解
3. 培地の設計

#### 2節 大腸菌を利用した有用物質生産技術とその応用法

1. 遺伝子発現
  - 1.1 遺伝子発現系のデザイン
  - 1.2 発現のトラブルシューティング
2. 大腸菌を用いた物質生産における留意点
  - 2.1 基質添加における留意点
  - 2.2 生産物の排出
  - 2.3 補酵素の供給
  - 2.4 生産物や中間代謝産物の分解系遮断
  - 2.5 直接発酵による生産

#### 3節 酵母を利用した有用物質生産技術とその応用

1. 有用物質生産における酵母の利点
2. 酵母を用いた燃料の生産
3. 酵母を用いた医薬品原料の生産
4. 酵母を用いたワクチンに利用できるタンパク質の生産
5. 酵母を用いた人工ファージの作製

#### 4節 放線菌を利用した有用物質生産技術とその応用法

1. 二次代謝生成成遺伝子クラスターの異種発現
2. 主要二次代謝生成成経路の遮断による休眠二次代謝遺伝子の覚醒化
3. アクティブーター-遺伝子の強制発現に伴う二次代謝誘導
4. リプレッサー-遺伝子の機能欠損に伴う二次代謝誘導
5. リプレッサー-遺伝子の機能欠損および主要二次代謝生成成の遮断を組み合わせた二次代謝誘導

#### 5節 糸状菌を利用した有用物質生産技術とその応用法

1. 一麹菌の遺伝子組換え技術による有用物質生産を中心にして
  - 1.1 有用物質生産に必要なとされる麹菌の遺伝子組換えに必要な基本技術
  - 1.2 麹菌を宿主とした一次代謝産物および二次代謝産物の高生産
  - 1.3 麹菌を宿主にした有用異種タンパク質の生産

#### 6節 麹菌を用いた有用物質の発酵生産技術とその応用法

1. 日本酒
2. ミリン
3. 食酢
4. 甘酒

#### 7節 微生物由来糖質関連酵素を用いた有用糖質の開発と生産

1. 糖質関連酵素
2. 最近の応用展開
3. 糖質に関わる酵素利用研究

#### 8節 麹菌のゲノム編集技術と物質生産育種への活用

1. 麹菌におけるゲノム編集による効率的な多重遺伝子改変技術の開発
  - 1.1 ゲノム編集を利用した効率的な遺伝子改変
  - 1.2 ゲノム編集プラスミドのリサイクリングによる多重遺伝子改変
  - 1.3 麹菌におけるゲノム編集を利用した効率的な物質生産と育種改変

#### 9節 プロセス設計に向けた発酵手法の基礎

1. 発酵とは？ ～発酵の種類～
2. 発酵形式
3. 培養方式
4. 発酵（微生物の培養）に影響する要因
5. 微生物の反応速度
6. 発酵プロセスの計測と制御
7. 発酵プロセスの操作

#### 10節 微生物によるイソプロパノールの発酵生産

1. 細菌におけるイソプロパノールの生産
2. 酵母におけるイソプロパノールの生産
3. イソプロパノール発酵生産の課題と克服への道筋

#### 11節 バイオフィオマトクスを活用した物質生産の効率化

1. 流束均衡解析
2. 増殖連動生産
3. 混合整数線形計画法による遺伝子削除戦略の探索
4. 基準モードによる反応削除戦略の計算
5. TrimGdelによる遺伝子削除戦略の計算

#### 12節 バイオプロセス開発と実生産におけるデータサイエンス

1. データサイエンス
2. バイオプロセスの研究開発におけるデータサイエンス
3. 実生産現場におけるデータサイエンス

#### 13節 微生物によるバイオプラスチックの生成技術とその現状

1. 微生物が生成するバイオプラスチック ポリヒドロキシアルカン酸(PHA)
2. PHA分解機構や細胞内のPHA結合タンパク質を利用したPHA生成系系の改良
3. PHA工業化の現状

#### 14節 小規模でも省エネ低コストのバイオエタノール生産技術の開発

1. バイオエタノールの原料と前処理
2. 生産コストの構成と生産スケール
3. 集約型固体連続併行複発酵(CCSSF)システム
4. 雑菌対策
5. CCSSFの特徴と課題
6. 生産コスト

#### 15節 オルニチン高生産清酒酵母の分離技術の開発

1. プロリン及びオルニチン高生産酵母の分離
2. プロリン及びオルニチン高生産酵母の全ゲノムDNA解析
3. ARG5,6変異が細胞内アミノ酸量に及ぼす影響
4. NAGK発現プラスミドの構築
5. 組換えNAGKの発現・精製
6. NAGKのアミノ酸置換がNAGK活性に与える影響
7. プロリン及びオルニチン高生産変異株を用いた清酒小仕込み試験

#### 16節 微細藻を利用した火力発電所CO2固定バイオ燃料生産技術の開発

1. 微細藻の光合成能力の測定と応用
2. レースウェイ(RW)型培養槽の最適設計
3. 側面出光型光ファイバ培養槽における高効率、高密度培養
4. LED照射濡壁塔型培養槽を利用した再生可能エネルギーカーボンリサイクルシステム

### ■5章 バイオプロセスにおける回収・濾過・分離の基本技術とその応用

#### 1節 濾過

1. 濾過の種類
2. 濾過の基本モデル
3. ケーク濾過モデル
4. ケーク構造の評価
5. タンパク質の濾過の例

#### 2節 溶媒抽出

1. 物質(溶質)の溶解現象について
2. 溶解度パラメータとは
3. 溶解度と溶解度パラメータの相関
4. 溶解度の理論推算～超臨界二酸化炭素中の固体溶質の溶解現象を例に～
5. 分配係数の理論推算～溶解度の理論推算を応用して～
6. 抽出シミュレーション～抽出分離の理論予測を目指して～

#### 3節 膜分離

1. 分離膜の種類、および分離のメカニズムと駆動力
2. 膜モジュールと運転
3. 透過流束、処理量、およびプレフィルタ
4. シングルユース、連続プロセス
5. ROによる精製水の製造

#### 4節 吸着

1. 分離精製における吸着
2. 吸着を利用した各種バイオプロセス・バイオデバイス応用

#### 5節 濃縮

1. 膜分離による濃縮
2. 沈殿による濃縮
3. 抽出
4. 吸着
5. 凍結濃縮法

#### 6節 脱水

1. これまでの脱水工程
2. 膜による脱水技術
3. ゼオライトについて
4. ゼオライト膜と膜モジュールの構造
5. ゼオライト膜を用いた脱水精製技術
6. ゼオライト膜による正浸透

### ■6章 バイオプロセスにおける各種クロマトグラフィー技術とその応用

#### 1節 イオン交換クロマトグラフィー

1. イオン交換クロマトグラフィーの原理
2. イオン交換クロマトグラフィーの実例
3. イオン交換クロマトグラフィー分離工程各論
4. スケールアップ
5. バイオプロセスにおけるイオン交換クロマトグラフィーの実例

#### 2節 疎水性クロマトグラフィー

1. タンパク質の疎水性
2. 疎水性クロマトグラフィーのカラム
3. 溶媒効果
4. 塩析効果クロマトグラフィー
5. 疎水性クロマトグラフィーの応用例

#### 3節 逆相クロマトグラフィー

1. 逆相クロマトグラフィーの原理
2. 逆相クロマトグラフィーのシステム
3. 逆相クロマトグラフィーの担体

#### 4. 検出器

#### 5. 分離の実例

#### 4節 マルチモーダルクロマトグラフィー

1. マルチモーダルクロマトグラフィーの有用性
2. リガンドの構造と物性
3. 実施例
4. 溶質の結合と溶出における移動相の効果
5. 溶出剤としてのアルギニン

#### 5節 超臨界流体クロマトグラフィー

1. 超臨界流体クロマトグラフィーの原理・仕組み・特徴
2. 既往のクロマトグラフィーにおける溶出時間の予測モデル
3. 溶解度パラメータを用いた保持係数予測モデルの超臨界域への拡張

#### 6節 温度応答性クロマトグラフィー

1. 温度応答性高分子修飾クロマトグラフィー担体の作製方法
2. 疎水性相互作用を強力にした温度応答性クロマトグラフィー
3. 温度応答性イオン交換クロマトグラフィー
4. 温度応答性タンパク質吸着クロマトグラフィー
5. 温度応答性ミックスモードクロマトグラフィー
6. 臨床分析のための温度応答性クロマトグラフィー
7. 温度応答性高分子ブラシ修飾モリスリカによる高速分析

### ■7章 タンパク質の生産と分離・精製の具体的事例

#### 1節 タンパク質のアフィニティー精製

1. アフィニティー精製の概要
2. クロマトグラフィー以外のアフィニティー精製法
3. 固体結合ペプチドを用いたアフィニティー精製
4. 自己集合性タグを用いた精製

#### 2節 タンパク質の分別沈殿

1. 硫酸塩析
2. 有機溶媒沈殿
3. 非電化水溶性ポリマー沈殿
4. 等電点沈殿
5. 高分子電解質沈殿

#### 3節 酵素精製の手法と最適化

1. 精製対象の酵素について、あらかじめ知っておきたいこと
2. 酵素精製における基本的な注意点
3. 酵素精製の手法

#### 4節 大腸菌を用いたタンパク質分泌生産

1. 大腸菌の細胞表面構造
2. 大腸菌を用いた組換えタンパク質の分泌生産に対するアプローチ

#### 5節 酵母細胞による異種タンパク質生産

1. 酵母タンパク質生産系の一般的特徴と各種酵母の特性
2. メタノール資化性酵母による異種タンパク質生産

#### 6節 麹菌を用いた組換えタンパク質生産

1. シス・エレメントRegionIIIを利用した
2. 5'UTRの改変による翻訳の効率化
3. 高効率なターミネーターの取得
4. セルバクローミング用発現プラスミドの構築とその利用
5. ジャーファーマーナーによる酵素生産
6. 麹菌タンパク質大量生産システムの現状
7. タンパク質の生産性をさらに高めるには

#### 7節 カイコ無細胞系を用いたタンパク質生産と分離技術

1. 無細胞タンパク質合成系
2. カイコ無細胞タンパク質合成系の開発
3. カイコ無細胞タンパク質合成系の実用化
4. カイコ無細胞系を用いたタンパク質の生産と分離精製
5. 研究成果を活用するベンチャー

#### 8節 植物組織からの医療用タンパク質の抽出と精製

1. ベンザミリア植物における一過性発現による組換え医療タンパク質生産
2. 概論的な内容
3. 事例紹介：グルコセレブロシダーゼ
4. 分離精製を含むダウンストリームのコスト

### ■8章 ペプチド・核酸などモダリティ医薬の生産と分離精製

#### 1節 中分子ペプチド製造を指向した

#### 新規液相ペプチド合成法の開発と合成例

1. ペプチド性医薬品の化学合成概説
2. 新規収束型液相ペプチド合成法の開発
3. 新規液相合成技術SYNCSOL®によるペプチド合成研究の実例

#### 2節 シリカゲルカラムによるペプチド・タンパクの精製技術と

#### その高精度・低コスト化

1. メソ孔と貫通孔
2. パーフェュージョン効果
3. モリス型シリカゲル
4. 実験結果

#### 3節 液体クロマトグラフィーによる核酸の分離精製

1. 分析LCから分離精製LCへの流れ
2. オリゴヌクレオチドの精製

#### 4節 バイオ医薬品製造におけるE&L評価と

#### ろ過滅菌工程及びシングルユースシステムのバリデーション

1. E&Lの規制当局および業界動向
2. E&L評価のリスクベースアプローチ
3. 医薬品の開発フェーズとE&L評価
4. プロセスとE&L評価

