

Title	ハイブリドーマを用いたモノクローナル抗体生産の培養工学的研究
Author(s)	大政, 健史
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3087926">https://doi.org/10.11501/3087926</a>
DOI	10.11501/3087926
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	おお まさ たけ し 大 政 健 史
博士の専攻分野の名称	博士（工学）
学位記番号	第 10238 号
学位授与年月日	平成4年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科 醗酵工学専攻
学位論文名	ハイブリドームを用いたモノクローナル抗体生産の培養工学的研究
論文審査委員	(主査) 教授 菅 健一 (副査) 教授 大嶋 泰治 教授 山田 靖宙 教授 高野 光男 教授 吉田 敏臣 教授 今中 忠行 教授 二井 将光

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、ハイブリドームを用いたモノクローナル抗体生産に関するものであり、細胞あたりの物質生産速度向上のための各環境因子、培地条件について培養工学的に検討し、細胞培養システムとしてホロファイバー培養システムによる効率的な物質生産法についての研究をまとめたものである。本論文は緒論、本論（5章）及び総括よりなる。

緒論では、本研究の背景をなす知見、特に動物細胞培養による物質生産に関する知見を総括し、つづいて本研究の目的とその内容の概略を述べた。

第1章では、アンモニアおよび乳酸の及ぼす影響について検討し、乳酸が細胞培養に大きく影響を及ぼす事を示した。さらに、乳酸濃度一定の流加培養を行い、乳酸による細胞増殖阻害について定量的に検討し、乳酸による細胞増殖阻害の原因が浸透圧増加にあることを示した。

第2章では、アミノ酸のモノクローナル抗体生産に及ぼす影響について検討し、グルタミン強化が抗体生産を増強させることを見出した。さらに、グルタミン、グルコースの2基質濃度一定の流加培養を行い、グルタミンの影響を定量的に検討し、抗体生産に最適なグルタミン濃度の存在することを見出した。第3章では、成長因子である、インシュリン、トランスフェリン、BSAの細胞増殖、抗体生産に及ぼす影響について検討した結果、インシュリン、トランスフェリンは抗体生産には影響を及ぼさなかったが、BSAは、抗体生産に対して増強効果を示し、特に灌流培養において著しい効果がみられた。

第4章では、グルコース律速の連続培養を用いて実験を行った結果、グルコース律速の連続状態においてグルコース重量あたりの細胞収率が上昇することが見出された。また、細胞周期分布と抗体生産の関係について検討し、 $G_0+G_1$ 期の割合を増加させると抗体比生産速度が上昇することが示された。

第5章では、ホロファイバー培養システムによる培養の結果、グルコース比消費、乳酸比生産速度は回分培養に比較して低下した。一方、BSAの連続添加によって抗体生産増強が見られた。これまでの知見に基づいてホロファイバー培養システムによる抗体生産を検討した結果、抗体生産に最適な基質濃度、供給流量が存在することがわかり、またホロファイバー培養システムはモノクローナル抗体生産について効率のよいシステムであることが示された。

総括においては、以上の成果を要約し、また今後の課題について展望した。

## 論文審査の結果の要旨

動物細胞が生み出す生理活性物質は、医薬品、分析試薬などとして注目され、その生産系として細胞培養が重要な手段となっている。本論文は、動物細胞培養による生理活性物質生産の具体例として、ハイブリドーマを用いたモノクローナル抗体生産をとりあげ、細胞あたりの物質生産速度向上のための各環境因子、培養条件について培養工学的に検討し、さらにこれらの知見に基づいて、効率的な物質生産法に関する研究をまとめたものであって、その主な成果を要約すると次のとおりである。

- (1) 細胞の分泌する代謝産物のアンモニアおよび乳酸の細胞培養、抗体生産に及ぼす影響について検討し、乳酸が細胞培養に大きく影響を及ぼすことを示し、さらに、乳酸濃度を一定とする流加培養法を確立することによって、乳酸による細胞増殖阻害について定量的に検討し、乳酸による細胞増殖阻害の原因が浸透圧増加にあることを見出している。
- (2) 培地成分であるアミノ酸のモノクローナル抗体生産に及ぼす影響について検討し、グルタミン強化が抗体生産を増強させることを見出し、さらに、グルタミン、グルコースの2基質濃度を一定とする流加培養法を確立することによって、グルタミンの影響を定量的に検討し、抗体生産に最適なグルタミン濃度が存在することを見出している。
- (3) 成長因子である、インシュリン、トランスフェリン、BSAの細胞増殖、抗体生産に及ぼす影響について検討し、インシュリン、トランスフェリンは細胞増殖に必須であるが、抗体生産には影響を及ぼさないこと、BSAが抗体生産に対して増強効果を示し、特に灌流培養において著しい効果を及ぼすことを見出している。
- (4) 種々の培養条件により連続培養実験を行い、グルコース律速の連続状態においてグルコース重量あたりの細胞収率が上昇することを見出している。また、細胞周期分布と抗体生産の関係について検討し、 $G_0+G_1$ 期の割合を増加させると抗体生産速度が上昇することを示している。
- (5) ホロファイバー培養システムによるハイブリドーマ培養の結果、グルコース比消費、乳酸比生産速度は回分培養に比較して低下すること、BSAの連続添加によって抗体生産が増強されることを明らかにしている。また、これまでの知見に基づいてホロファイバー培養システムにおいて、抗体生産に最適な基質濃度、供給流量を推定している。

以上の様に、本論文は、動物細胞培養による効率的な物質生産方法について培養工学的観点から詳細

に検討し、実験および理論的な解析によって多くの知見を得るとともに今後の細胞培養の進歩に有用な基礎的資料を与えており、その成果は、培養工学、応用生物工学の発展に寄与するところが大きい。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。