

選択問題 (バイオプロダクション分野)

指導教員群記号: A 1, A 2

細胞を用いたタンパク医薬の生産に関する次の文章を読み、以下の (1) ~ (5) の設問に答えよ。

最近のガンや成人病に対する医薬品は、抗体医薬品をはじめとするタンパク医薬が主流となっている。それらの組換えタンパク質は、細胞を工場のように活用して生産される。細胞は生命にとって構造と機能の基本単位である。すべての細胞は 1 に囲まれた細胞質を持ち、細胞質の中には生体機能を維持するのに必要なタンパク質や核酸、代謝産物などの低分子の物質が多く存在する。

大腸菌などの微生物は、細胞内に核をもたない原核細胞であり原核生物ともよばれ、動物の細胞などの核のある真核細胞からなる真核生物とは区別されている。原核細胞と真核細胞にはいくつかの相違がみられる。最も大きな違いは 2 の存在状態で、原核生物では、核様体のなかに主に存在する。

一方、真核生物では核膜に包まれた 3 の中に存在する。二つ目の大きな違いは、原核細胞にはなく、真核細胞のみに存在するエネルギーを効率的に生み出す 4 やタンパク質の細胞外分泌に関する小胞体やゴルジ体などの細胞内小器官が存在する点である。三つ目はタンパク医薬の生産にも関連する重要な相違である。動物細胞で生産されたタンパク質は、細胞膜を経て細胞外に分泌され、培養液中に可溶性の組換えタンパク質として約 14 日間で 1 mg/ml 程度の濃度で蓄積される。一方、大腸菌では生産された組換えタンパク質は、主に細胞内に封入体と呼ばれる不溶性の凝集物として生産される。そこで、実際の生産工程では、大腸菌を超音波などで破碎し、封入体のみを遠心分離して回収する。さらに界面活性剤や 2 M 尿素などで洗浄して、生産に不要な大腸菌由来のタンパク質などを除いたのち、8 M 尿素などで完全に可溶化する。その後、透析などにより尿素の濃度を一晚程度かけてゆっくりと下げることで、正しい立体構造を有する組換えタンパク質を取得できる。こののち、この可溶化され正しい立体構造を持った組換えタンパク質は次工程のクロマトグラフィー工程に供される。

- (1) 空欄 1~4 に最も適切な語句を入れよ。
- (2) 下線部にあるように、動物細胞や大腸菌で生産され、可溶化された組換えタンパク質は、次の工程ではクロマトグラフィーに供される。動物細胞で生産されたタンパク質と比較して、大腸菌で生産された封入体からタンパク質を回収することの利点と封入体で生産されることの不利な点を記載せよ。
- (3) 大腸菌は、桿状をしており、およそ直径 0.5 μm 、長さ 2 μm 程度の大きさをしてる。大腸菌の形状を円柱と仮定して、1 つの大腸菌の体積を計算し、さらにその体積の 4 分の 1 が封入体で占められているとした際の封入体の量 (g) を求めよ。なお解答用

【裏面に続く】

紙には式と答えを記述しなさい。ただし、封入体中の組換えタンパク質の比重は 1.2 g/ml とする。

- (4) 大腸菌は、栄養に富む培地で、好気的な条件下にするためよくエアレーションしながら、振とう培養することでよく増殖する。菌体の数を簡易的に測定するため、溶液の濁度を用いるのが一般的である。濁度は、分光吸光光度計で測定することが多い。この方法は片側から光をあて、サンプルを透過した光を反対側の受光素子で検出する方法である。大腸菌の濁度は波長 600 nm で測定することが多く、菌体数と濁度は、直線関係にあることが知られている ($1 \text{ OD}_{600 \text{ nm}} = 8 \times 10^8 \text{ cells/ml}$: ただし $1 \text{ OD}_{600 \text{ nm}}$ とは波長 600 nm での相対的な 1 光学濃度を示す)。図 1 は、培養時間と大腸菌の菌体数の代わりの濁度の関係を示している。図 1 から培養 8 時間後の培養液中の濁度(光学濃度)からおよその菌体数 (cells/ml) を求めよ。また、その時の封入体の生産量 (g/l) を (3) で算出した数字も使って計算せよ。なお、解答用紙には式と答えを記述しなさい。

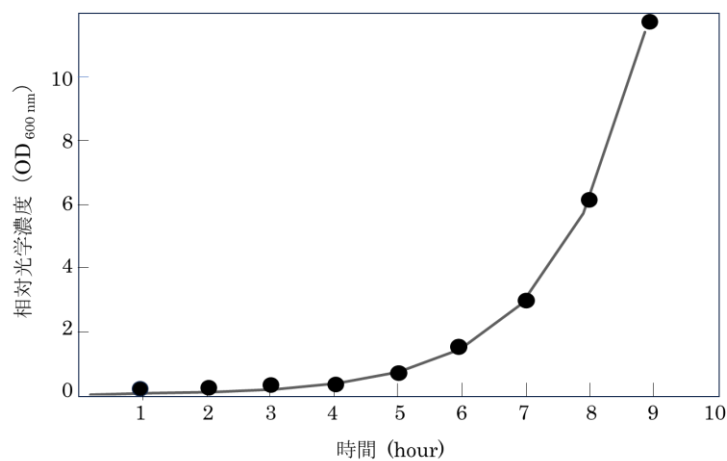


図 1

- (5) 大腸菌などの微生物で生産する組換えタンパク質は、タンパク医薬以外にも活用できる。医薬品用途およびそれ以外の用途について、タンパク質の名称と組み合わせの例を複数記載せよ。