

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	ウイルス除去フィルターでのファウリング現象に対する解析技術の開発とメカニズム解明への展開
Title(English)	
著者(和文)	濱本亮
Author(English)	Ryo Hamamoto
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10828号, 授与年月日:2018年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:林 智広,原 正彦,北村 房男,北本 仁孝,柘植 丈治
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10828号, Conferred date:2018/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻：物質電子化学 専攻
Department of
学生氏名：濱本 亮
Student's Name

申請学位(専攻分野)：博士 (工学)
Academic Degree Requested Doctor of
指導教員(主)：林 智広 准教授
Academic Supervisor (main)
指導教員(副)：原 正彦 教授
Academic Supervisor (sub)

要旨(和文 2000 字程度)
Thesis Summary (approx. 2000 Japanese Characters)

本博士論文は全部で 6 つの章から構成されており、内容としては、ウイルス除去フィルターでのファウリング現象に対する解析技術を確立し、そのメカニズムの解明について議論したものである。以下、各章の内容について概説する。第 1 章では、今回評価対象とするウイルス除去フィルターの有効性と問題点であるファウリング現象について、およびこれまでの他の分野のフィルターも含めたファウリング現象に対する解析手法について述べた。

第 2 章では、再生セルロースからなるウイルス除去フィルターである Planova 20N フィルターに対する、タンパク質によるファウリングを解析するための有効な方法として、表面プラズモン共鳴(SPR)法や水晶振動子マイクロバランス(QCM)法、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)などの解析手法を選択し、これらについて評価系の確立を目指した。まず、SPR 法や QCM 法を用いてフィルターの膜表面とタンパク質との相互作用を解析するために、それぞれのセンサー表面にフィルターの膜材料と同じセルロースのモデル表面を作製した。続いて、タンパク質の凝集体によるファウリングを解析するために、まず再現性良くモデルの凝集体を作製する手法を確立し、かつこの凝集体は SEC にて定量することを確認した。さらに、作製した凝集体はフィルターのろ過性を低下させることも確認され、タンパク質の凝集体によるファウリング評価として確立できた。

第 3 章では、ウイルス除去フィルター Planova 20N に対するファウリング解析手法である SPR 法と SEC、および新たな解析手法である QCM-D 法を用いて、実際の工程で使用される条件での Planova 20N フィルターのろ過性能の低下のメカニズム解明を行った。具体的には、Planova 20N は溶液の塩濃度に依存して Flux が大きく変化する傾向が知られている。この Flux 低下には、タンパク溶液の SEC の測定結果より凝集体は関わっておらず、主にフィルターの膜表面や内部へのタンパク質の吸着が原因であると SPR から推察された。また DLVO 理論によるセルロースとタンパク質との相互作用力の計算と QCM 法による吸着後の塩濃度に応じたタンパク質の構造変化の結果を考慮すると、タンパク質は膜に吸着し、その後構造変化によって不可逆的に吸着することで、フィルターのろ過性を低下させているという結論に至った。

第 4 章では、ファウリング解析手法である SPR 法と SEC を用いて、タンパク凝集体によるウイルス除去フィルター Planova 20N の Flux 低下の原因解明を行った。タンパク凝集体はその大きさが捕捉対象であるウイルスと同程度であることから、凝集体が存在することでフィルターの孔を閉塞させ、Flux を低下させていると考えられていた。しかし、タンパク質は、凝集体はフィルター表面への吸着量にも影響を及ぼすことが過去の知見から指摘されており、いずれの効果が Flux に影響するかを見極めることを第 4 章の目的とした。具体的には、凝集体の存在によるフィルターのろ過性への影響と SPR を用いたフィルター材料であるセルロース表面へのタンパク吸着挙動を評価した。その結果、まずはフィルターのろ過結果から、凝集体は少量存在することでフィルターの Flux を大きく低下させることが示されたが、一方、SPR 測定からのセルロース表面への吸着量では、凝集体の有無で大きな差異は観察されなかった。セルロース表面への吸着量と Flux との相関関係から、凝集体の存在による大きな Flux 低下は、フィルター表面に吸着する

ことによって引き起こされているとは考えにくく、これは凝集体が孔を塞ぐことで **Flux** が低下しているのだと推定できた。

第 5 章では、ファウリング解析手法である **SPR** 法と **SEC** を用いて、**pH** に依存したウイルス除去フィルター **Planova 20N** の **Flux** 低下のメカニズム解明を行った。ウイルス除去フィルターは、**pH** 4 よりも **pH** 7 の方がろ過量に応じた **Flux** の低下挙動が大きいことが知られている。**SEC** 測定を行ったところ、**pH** 7 には凝集体が存在しており、凝集体の影響によって **Flux** が低下していることが示唆された。さらに凝集体の影響を明確にするために、プレフィルターを用いて凝集体を除去することで **Flux** にどのような影響があるかを評価した。その結果、**pH** 7 の溶液に対して、プレフィルターを用いて凝集体を除去したが、ろ過量に応じた **Flux** 低下が観測された。よって、**SPR** を用いて **pH** 4 と **pH** 7 の条件について、セルロース表面に対するタンパク吸着量の差異について比較した。その結果、**pH** 7 の条件では **pH** 4 の条件よりも、タンパク溶液との接触時間に依存して吸着量が増加するという傾向が見られた。以上の結果から、**pH** 7 における経時的な **Flux** の低下には、経時的なタンパク吸着量の増加も影響していることが示唆された。

第 6 章では、本研究で得られた知見を総括した。今回ウイルス除去フィルターのファウリング解析技術として開発した **SPR** 法や **QCM** 法、および **SEC** を駆使することで、フィルターへのファウリング現象を解析することができ、今後のフィルターの性能を最大限発揮するための溶液条件の最適化や、新しいウイルス除去フィルターの開発への知見として活用できると期待している。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ (T2R2) にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻：	物質電子化学	専攻
Department of		
学生氏名：	濱本 亮	
Student's Name		

申請学位 (専攻分野)：	博士	(工学)
Academic Degree Requested	Doctor of	
指導教員 (主)：	林 智広	准教授
Academic Supervisor (main)		
指導教員 (副)：	原 正彦	教授
Academic Supervisor (sub)		

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

During virus filtration process, it is well known that filtration performance was affected by protein fouling. In this Ph.D. thesis study, I investigated mechanisms for fouling of a cellulose-based virus filter during Immunoglobulin G (IgG) solution filtering. Surface plasmon resonance (SPR) and quartz crystal microbalance (QCM) were conducted to evaluate the interaction between IgG molecules and cellulose membrane surface, and size exclusion chromatography (SEC) was conducted to measure contents of aggregates in IgG solutions.

In one case of fouling phenomenon, flux was crucially declined depend on ionic strength. SPR and QCM-D measurements were conducted to understand the interaction between IgG molecules and cellulose surface. It was revealed that the primary cause of flux decline appeared to be irreversible IgG adsorption on the surface of the virus filter membrane.

In another case of fouling phenomenon, filtration flux was crucially declined depend on contents of aggregates in IgG solutions measured by SEC. To understand the interaction between aggregates and cellulose, SPR measurement was conducted. Since amounts of IgG adsorption was not almost affected by contents of IgG aggregates, the primary cause of flux decline appeared not to be IgG adsorption but to be plugging pores of the filter membrane by IgG aggregates.

The above results mean that protein adsorption on a membrane surface and contents of protein aggregates in filtered solution are causes of virus filter fouling. Combination the SPR, QCM and SEC measurements are useful way to reveal the main factor of filtration flux decline. Furthermore, filtration performance is also affected by other solution conditions, including pH and protein concentration and type. Continued evaluation of the protein adsorption and aggregates contents on SPR, QCM-D and SEC measurements in other filtration conditions will be useful for improving virus filtration procedures and developing new virus filters.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note: Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).