



Title	Advanced Control of Reaction Selectivity via High-speed Micromixing Flow Processes : A Breakthrough Approach to Protein Functionalization [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	中原, 祐一
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第15635号
Issue Date	2023-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/90795
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	NAKAHARA_Yuichi_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（理学） 氏名 中原 祐一

学位論文題名

Advanced Control of Reaction Selectivity via High-speed Micromixing Flow processes:

A Breakthrough Approach to Protein Functionalization

(マイクロフロー高速混合プロセスによる反応選択性制御：

タンパク質の高機能化に向けた検討)

人類が目覚ましい進歩は科学技術の進歩によってもたらされてきた。中でも化学材料は自動車、エレクトロニクス、医薬品、消費財、建設など多くの分野でなくてはならない重要な役割を果たしている。化学材料はさらなる高機能化を実現するとともに、マテリアルズインフォマティクス(MI)や自動化を活用した高速開発、環境調和を両立し、よりよい社会を実現していく必要がある。フローマイクロリアクタ(FMR)はこれらを実現するプロセス化学技術として重要である。

FMR はマイクロ空間で特異的に生じる現象を利用したフロー型の反応装置として、従来バッチ型の反応器では制御が困難であった混合や反応熱を精密に制御することができる技術として近年、アカデミアとともに産業界でも注目されている。化学反応は、原料の混合・拡散とともに反応により生じる熱の移動、外部との熱伝達など物理化学的な要素によって成り立っている。これらの過程を解析し、律速となっている過程を理解することは、プロセス化学研究のみならず産業応用の面においても大変重要である。FMR をはじめとしたフロー型の反応装置は製造方法としてだけでなく、反応および物理化学的な現象の把握も容易に行えるなど、プロセス化学研究の面からも重要な手法である。

タンパク質や抗体、核酸をはじめとした生体高分子は近年、幅広い領域で研究開発がすすめられており、製薬や再生医療といった幅広い分野でこれらの研究開発が進んでいる。特に、タンパク質と薬剤を結合させる Bioconjugate はタンパク質の高機能化の有力な手法として検討が進められている。一方で、生体高分子は一般的に不安定であり、熱や pH などの影響を受けやすくタンパク質の機能が失われてしまうケースも多い。このことから FMR のもつ精密な反応場を不安定な生体高分子に適用することはタンパク質の性質の理解と深めたうえでプロセス適用できるメリットがあるなど重要な意義をもつ。

本研究はマイクロ高速混合を基軸とした反応選択性の制御をタンパク質の高機能化プロセスへの適用を行うことを目的とした。本論文全体では 6 つの Chapter から構成されてい

る。Chapter 1 ではフローマイクロプロセス化学における研究の背景と目的について述べた。

Chapter 2 では長短時間反応を実現する Flash chemistry 技術を用いて複数の官能基を持つ化合物に対して有機リチウム種による縮合反応が、マイクロ混合による反応選択性をマイクロミキサの種類、流量と滞留時間の精密制御によって反応選択性の制御が可能であることを確認し、官能基がもつ本来の反応速度に基づいた化学プロセスが構築できることを示した。

Chapter3 では FMR の適用事例の 1 つであるリビングアニオン重合によるポリスチレンの分子量分布が混合性能に依存することに着想を得て、分子量分布を指標とした混合性能の評価系を構築した。本評価系を利用することで従来評価ができなかった 0°C 以下の反応での混合性能の評価に加えて、従来の手法では性能の差異が充分に見られなかったミキサ内径の異なるマイクロミキサなどについても混合性能の比較ができることを示した。

Chapter4 では発熱反応であるイオン液体をフローマイクロリアクタで合成するプロセスについて、反応速度を算出するとともに、流体シミュレーションモデルを構築し、マイクロリアクタ内での混合、反応、発熱と徐熱といった一連の過程をモデリングし内部の反応についてのモデルを構築した。本モデルにおいて、生成したイオン液体に起因して粘度が上昇したことに伴って、原料の物質拡散が低下したことに起因するものであることを解明し、それをプロセスに適用することで生産性の向上を実現した。

Chapter5 ではタンパク質の高機能化の手法の 1 つである PEG 化についてモデルタンパク質である Lysozyme ならびに Interleukin-6 (IL-6) の溶媒露出度に関する分子シミュレーションを行い、それぞれのタンパク質の反応性の比較を行うとともに、予測された反応性に基づいた FMR による PEG 化プロセスを検討した結果、反応時間 1.2 秒という短時間での PEG 化の反応選択性を高めた反応条件を見出し、g-スケールでの連続運転を実現した。

Chapter6 ではタンパク質の機能化の一手法であるリフォールディングプロセスへの FMR の適用を行った。タンパク質のリフォールディングプロセスは変性したタンパク質を再び立体構造を有した機能性を回復されるプロセスである。タンパク質リフォールディングは疎水性相互作用や水素結合、イオン結合、ジスルフィド結合をはじめとした非共有結合によって 3 次元立体構造を形成するプロセスであり、それぞれの形成に至適な条件が異なることから精密制御を行う必要がある。モデルタンパク質として選択した IL-6 では従来のバッチプロセスでは機能を持たない凝集体が発生しやすいなどの課題もあったのに対して、変性溶剤の低減プロセスと pH のシフトを FMR による高速混合と滞留時間を精密制御することによって IL-6 の凝集体生成を回避し高い収率を得ることができた。