

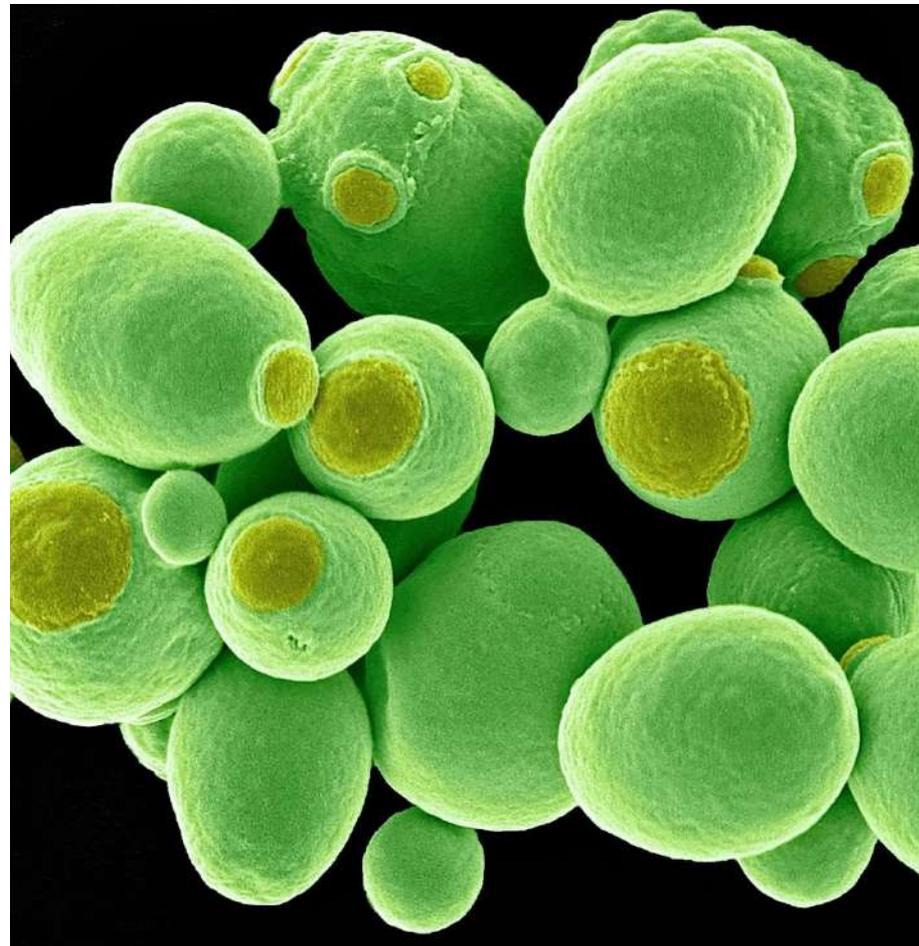
アプリケーション – マイクロスケールの低pH プロファイル

pH プロファイルを利用した*H. polymorpha* の蛋白質発現の最適化

- メタノール資化酵母
- 組換え蛋白質生産のホストとして広く利用されています。
- 利点
 - 蛋白質の糖付加経路
→ 過剰な糖付加はされない
 - 強力で限定できる発現制御
→メタノール誘導プロモーター
 - 発現量
→ g/L という強力な発現を有する
- 小スケール培養時には、最大収率のための最適 pH 範囲の評価が難しい

ボトルネック：pH関連が謎に包まれている

マイクロスケールの低pHオンラインセンサーがお役に立ちます。



アプリケーション - マイクロスケールの低pH プロファイル

BioLector® II/Proの低pH(4-6)光学センサー pH測定幅を広げます

- 低pH光学センサーは、pH4-6の範囲で再現性の高いpH測定が可能
- 専用プレート：
MTP-MF32-BOH3
フラワープレート32 濁度・蛍光・DO・pH測定用
(Type3 マイクロ流路付)
- pH制御は、NaOHとHClをマイクロ流路で送液
- 蛋白質発現量は、蛍光（GFP）を測定することで検出可能
- 強力なメタノール誘導プロモーターの利用
ギ酸デヒドロゲナーゼ（FMD:Formate dehydrogenase）
メタノールオキシダーゼ（MOX:methanol oxidase）
グルコース枯渇時の抑制解除により、GFP発現が開始されます。

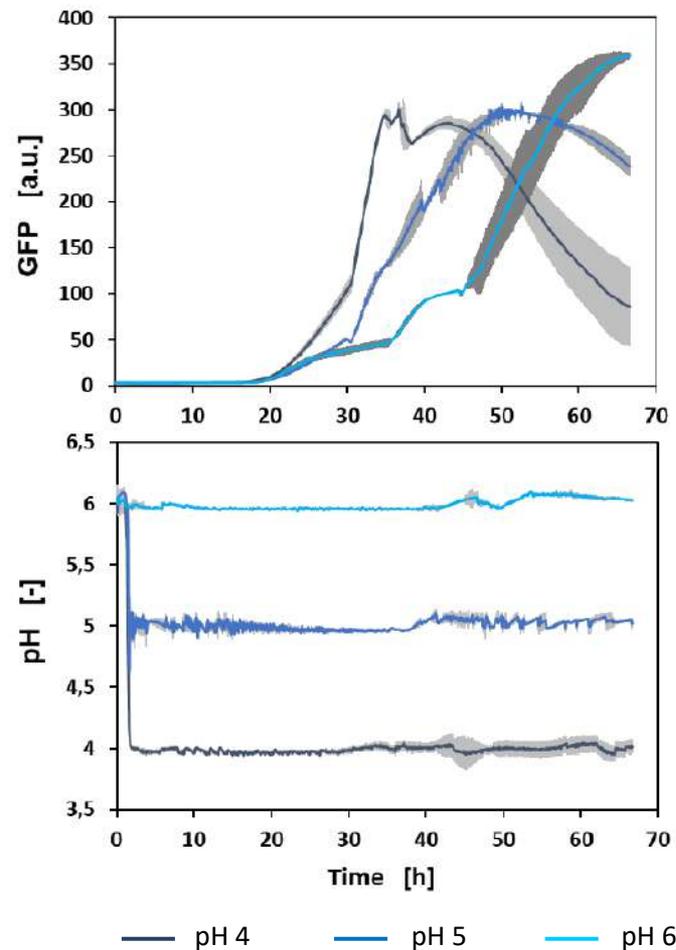


図1 : *H. polymorpha* RB11 FMD-GFP の
マイクロ流路バッチ培養。GFPとpHをオンライン測定
3 M NaOHとHCl でのマイクロ流路2方向pHコントロール

アプリケーション – マイクロスケールの低pH プロファイル

結果 : Space-time yield (STY)

- より低いpHで、単位時間当たりの収率 (STY) が明確に増加
- マイクロスケールでのpH値を初期段階からオンラインスクリーニング
 - 関連するプロセス条件での種のスクリーニングが可能
 - 生理学範囲外のpHプロファイルが可能 (蛍光によって)

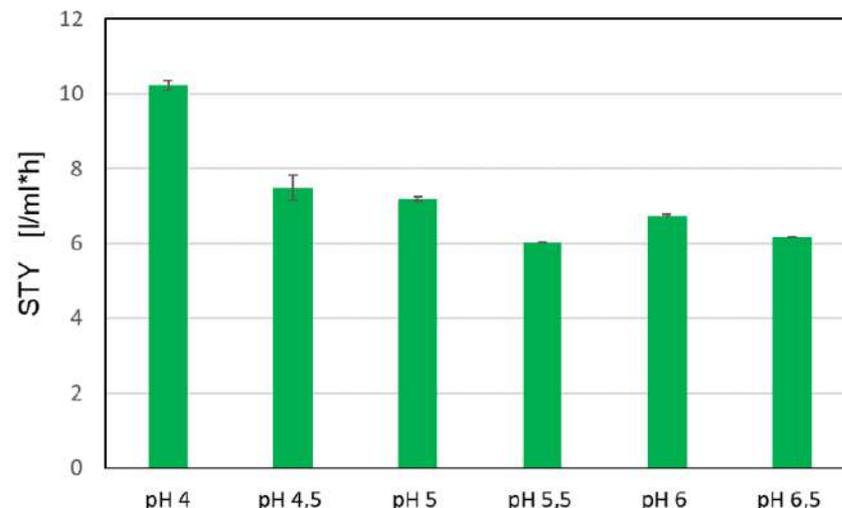


図2 : 違うpH条件でのH. polymorpha FMD-GFP 培養の
GFP 単位時間当たり収率
pH値をマイクロ流路でコントロールできるよう、BioLector® Pro で培養
(FlowerPlate®使用)

GFPの遺伝子配列は他の目的の遺伝子配列に変更することが可能です。

→ 種のスクリーニング結果とプロセスパラメーターの最適化は、その後続く製造段階のpHに適合する条件として利用できます。

アプリケーションノートをご希望の場合は ご連絡ください

public@m2p-labs.com

m2p-labs Headquarters
info@m2p-labs.com

m2p-labs, Inc., NY, USA
infoUS@m2p-labs.com

m2p-labs Ltd, Hong Kong
infoAsia@m2p-labs.com