

医薬用タンパク質の超電導高勾配磁気分離装置の開発

Development of Medical Protein Screening System using High Gradient Magnetic Separation by Cryocooler-cooled LTS Magnet

植田 浩史(阪大); 柁川 一弘(九大); 上岡 泰晴(コールドテック); 我妻 洸(早大);

淵野 修一郎, 古瀬 充穂(産総研); 飯塚 倫尋, 中村 秀一(NETS)

UEDA Hiroshi (Osaka Univ.); KAJIKAWA Kazuhiro (Kyushu Univ.); KAMIOKA Yasuharu (ColdTech);

AGATSUMA Koh (Waseda Univ.); FUCHINO Shuichiro, FURUSE Mitsuho (AIST);

IITSUKA Tomohiro, NAKAMURA Shuichi (NETS)

E-mail: heuda@rcnp.osaka-u.ac.jp

1. はじめに

ポストゲノム時代にむけた医薬・創薬において、高速・高効率・高精度の抗体や分子細胞・タンパク質の分離精製技術のニーズが強くなってきており、新しい分離精製技術の確立が望まれる[1,2]。特に、ヒト免疫機能を使う抗体医薬は高い効能が期待できる上、副作用も比較的少ないため、今後の医薬の主流になるとされ、我が国の製薬会社各社は開発・実用化で先行している欧米勢への対応を急いでいる。この抗体医薬やワクチンの開発・実用化に欠かせない技術が医薬用タンパク質(モノクローナル抗体や免疫グロブリンなど)の大量・高速・連続の分離精製技術である。そこで、我々は、目的物質を固定化した磁性ナノビーズを分離精製濃縮できる、小型超電導マグネットを用いた高勾配磁気分離装置(HGMS: High Gradient Magnetic Separation)を提案している[3]。

本講演では、1) 高速励磁消磁マグネット及び電気回路の開発、2) 超電導マグネット冷却装置の開発、3) 高勾配磁気分離用フィルターの仕様の決定・試作、4) 以上を組み合わせ高磁場磁気分離装置を動作させて装置としての性能を確認した結果について報告する[4]。

2. 高勾配磁気分離装置用冷凍機伝導冷却超電導マグネットの開発

2.1 小型高性能冷却システム設計

今回は、市販の小型冷凍機(RDK205D@50 Hz, SHI)1台を使用することとした。この冷凍機の冷凍能力で、装置小型化のために重要な熱損失を最小にする電流リードの最適設計[5]を検討した。電流リードはクライオスタット内で、クライオスタット外槽の電流導入端子(300 K)から第一ステージ(熱シールド:温度 55 K)までの間(銅リード)と、熱シールド(55 K)から第二ステージ(超電導マグネット端子および冷却板:温度約 4 K)までの部分(高温超電導リード)の二段階に分かれている。設計の結果、径 3 mm、長さ 450 mm の銅製の電流リードを採用した。また、熱侵入を最小にするために超電導マグネットと熱シールド間の支持機構と熱シールドと外槽間の支持機構を設計・製作した。

2.2 マグネット設計

次に、高勾配磁気分離システム用の超電導マグネットを設計した[6]。磁性フィルターを配置するために、30 mm 径の室温ボアを確保し、中心磁場を 3 T とした。マグネット巻線用の線材として、NbTi 線材を準備した。線径 0.642 mm で、銅の母材中に 636 本の NbTi ファイラメントが配置された、銅比 1.3、ツイストピッチ 70 mm の線材である。臨界電流は、温度 4.2 K、6, 7, 8 T の磁場中でそれぞれ 279, 217, 146 A である。設計した超電導マグネットの諸元を Table 1 に示す。

2.3 消磁回路

磁性細線からなるフィルターを用いて高勾配磁気分離により捕捉した磁気ビーズを効率的に回収するためには、磁性フィルターの消磁が必要であると考えられる。そこで、Fig. 1 に示すような超電導マグネットを利用した RLC 消磁制御回路を用いて、フィルターの消磁方法を考案した[7]。

Table 1. Specifications of the superconducting magnet.

	Design	Fabrication
Inner diameter, $2a_1$	60.0 mm	60.0 mm
Outer diameter, $2a_2$	99.9 mm	98.5 mm
Height, $2b$	82.0 mm	82.2 mm
Number of turns, N	4546	4311
Self-inductance, L	0.886 H	0.787 H
Current, I	60.0 A	63.1 A
Magnetic field at center, B_0	3.0 T	3.0 T

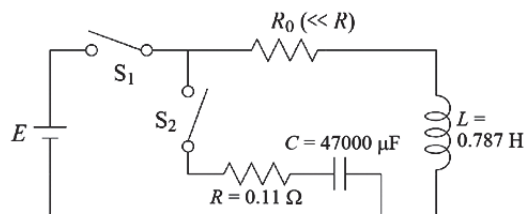


Fig. 1. Electric circuit for excitation of the LTS magnet and degaussing of the magnetic filter.

2.4 高速励磁・消磁のための渦電流対策

高速励磁消磁時に発生する熱を速やかに冷却するため伝熱構造と高速励磁消磁時の渦電流防止構造が必要となる。そこで、超電導マグネットの冷却で最も重要な、超電導マグネットの巻棒と冷凍機コールドヘッドとの間の伝熱板は、巻棒と一体型のアルミ削り出しとして接触抵抗をなくした。また、渦電流防止構造として、マグネットの巻棒を 2 分割し(Fig. 2(a)参照)、熱シールドもフランジ部、円筒部を中心まで 2 分割にした。

2.5 熱収支

Table 2 に、支持機構および断熱真空、電流導入リード、渦電流、交流損失による熱負荷の計算結果を示す。第一ステージ(熱シールド部)の侵入熱は 63 A 通電時で 5.6 W、第二ステージ(超電導マグネット部)の侵入熱は 150 秒励磁で 0.068 W、60 秒励磁で 0.31 W、63 A 通電時で 6.1 mW が見込まれ、熱負荷は冷凍能力の範囲内であることが分かる。

Fig. 2(b)(c)にスリット入り伝熱板およびボビンに巻いたコイルと超電導高勾配磁気分離装置をそれぞれ示す。装置のサイズは、幅 517 mm × 奥行 617 mm × 高さ 1000 mm である。

3. 磁性フィルターの検討

磁気ビーズを効率的に分離・回収するためには、目詰まりしない高回収率のフィルターの研究開発も重要課題である。今回、磁性細線フィルター周囲の磁気力解析を行った結果、メッシュの開口部にも十分に磁気力が分布する、径 30 μm の 350 Mesh の平織を 200 枚重ねたものを採用した。

4. 磁気分離実験

磁気ビーズは、多摩川精機製の FG beads® で、径約 50 nm の磁気ビーズ 3 個程度をポリマーで被覆した外径約 200 nm のものを使用した。この磁気ビーズを純水に懸濁した液体で磁気分離・回収実験を行った。

Table 2. Calculated heat load.

	1 st Stage (55 K)	2 nd Stage (4.1 K)
Support	0.02 W	5 mW
Vacuum insulation	0.21 W	0.14 mW
Power leads (Heat leak + Joule heat)	5.4 W (current: 63 A)	1.0 mW
Eddy current loss in bobbin and flange	-	2.0 mW (Ramp up time: 150 s) 6.0 mW (Ramp up time: 60 s)
AC loss in LTS winding	-	0.06 W (Ramp up time: 150 s) 0.3 W (Ramp up time: 60 s)
Total heat load	5.6 W (current: 63 A)	0.068 W (Ramp up time: 150 s) 0.31 W (Ramp up time: 60 s) 6.1 mW (current: 63 A)
Cooling capacity	~ 6.5 W	~ 0.45 W

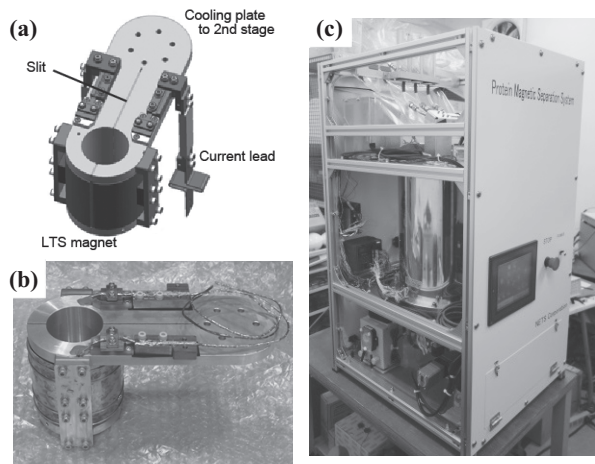


Fig. 2. (a) 3D design of the fabricated LTS magnet. Photograph of (b) the fabricated LTS magnet and (c) the prototype HGMS system.

4.1 実験手順

- (1) バッファ液にビーズを懸濁し、200 mL の分析試料を製作する。
- (2) 磁場を印加せずに、分析試料を磁気分離装置のフィルターを通して流して回収し、この回収液を比較元の原液と規定し、この回収液を比較元の原液と規定し、分光光度計 (V-630, JASCO Corporation) で濃度を測定する。
- (3) 超電導マグネットを 3 T に励磁し、この状態で、先程の回収液を磁気分離装置のフィルターを通して流して回収し、分離後の回収液の濃度を測定する。
- (4) 超電導マグネットを 3 T に励磁した状態で、バッファ液でフィルターを洗浄し、回収液の濃度を測定する。
- (5) 超電導マグネットを 0 T に減磁し、この状態で、バッファ液でフィルターを洗浄し、回収液の濃度を測定する。
- (6) 超電導マグネットを 1 T に励磁し、この状態から消磁回路を作動させてフィルターを消磁し、この状態で、バッファ液を流してフィルターを洗浄し、ビーズの回収を図る。回収液の濃度を測定し、ビーズの回収率を測定する。

4.2 実験結果

Fig. 3 は実験の各プロセスの回収液の様子を示した写真である。Fig. 4 は一連の磁気分離・回収実験の結果をまとめたものである。3 T の磁場を印加した状態で、懸濁液をフィルターに通すと高勾配磁気分離により 97.8 % の磁性ビーズが捕捉された。回収プロセスでは、磁場 3 T 印加状態で洗浄すると 0.1 %、磁場をゼロにして洗浄すると 8.5 % の磁性ビーズしか



Fig. 3 Result of solutions in each process: (a) undiluted solution, (b) recovered solution under a magnetic field of 3 T, (c) recovered solution after flushing under a magnetic field of 3 T, (d) recovered solution after flushing in a zero magnetic field and (e) recovered solution after demagnetization of the filter and flushing.

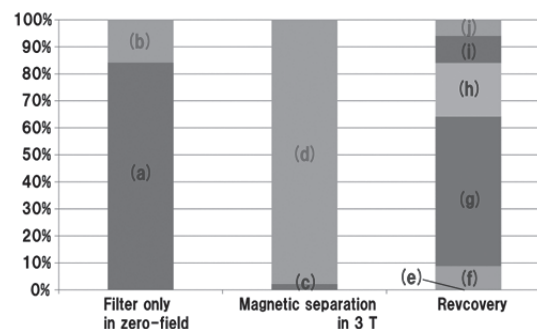


Fig. 4. Ratios of trapping and recovery of nanobeads: (a) non-trapped beads of 84%, (b) trapped beads of 16%, (c) non-trapped beads of 2.2%, (d) trapped beads of 97.8%, (e) recovery beads of 0.1% applying 3 T, (f) recovery beads of 8.5% in 0 T, (g) recovery beads of 55.4% after applying AC 1 T for the 1st demagnetization of the filter, (h) recovery beads of 19.8% after applying AC 1 T for the 2nd demagnetization of the filter, (i) recovery beads of 10.0% after applying AC 1 T for the 3rd demagnetization of the filter and (j) non-recovery beads of 5.9%.

回収されなかった。その後、消磁回路を動作させ、1 T の交流磁界を印加後、洗浄すると、55.4 % の磁気ビーズが回収された。これは、フィルターの消磁が磁気ビーズの回収率の改善に効果があることを示している。2 回目、3 回目の消磁・洗浄と合わせると 94 % の磁気ビーズが回収された。なお、一連の処理に要した時間は 13 分であった。

5. まとめ

医薬用タンパク質の分離精製を、低コスト、高効率で行う卓上型超電導磁気分離装置の開発のため、高速分離処理に必要な高速励磁・消磁対応した超電導マグネットおよび冷却システム、高勾配磁気分離用フィルターを製作した。磁気分離・回収実験の結果、磁気ビーズの捕捉率:98 %、回収率:94 % という結果を得て、今後の量産対応の実用機開発に向けて大きな成果が得られた。

<謝辞>

本研究の一部は、経済産業省 関東経済産業局 平成 23 年度戦略的基盤技術高度化支援事業(三次補正)の一環として実施したものである。

参考文献

1. 半田 宏 他 監修, 「磁性ビーズのバイオ・環境技術への応用展開」, シーエムシー出版 (2006)
2. T. Nakagawa, et al., *TEION KOGAKU*, **45** (2010) 436-443.
3. H. Ueda, et al., *IEEE Trans. Appl. Superoncd.* **19** (2009) 2157-2161.
4. H. Ueda, et al, *TEION KOGAKU*, **49** (2014) 25-34.
5. M. Furuse, et al., *Cryogenics*, **49** (2009) 263-266.
6. Y. Iwasa, *Case Studies in Superconducting Magnets*, 2nd ed., New York: Springer Science+Business Media (2009) 274.
7. H. Ueda, et al., *IEEE Trans. Appl. Supercond.*, **20** (2010) 949-952.