

## バクテリオファージ増幅に関する事例集

### ■ サルモネラ・エンテリカ エンテリティディス バクテリオファージの増幅効率 Page1～

バクテリオファージが細菌感染症の予防と治療において注目を集めています。

Proteon Pharmaceuticalsは、獣医学分野における革新的な治療法、医薬品、ワクチンの製造に取り組んでおり、農場動物におけるサルモネラ感染予防のためのバクテリオファージカクテルの開発を進めています。CellMakerは、細菌培養にも適した使いやすいエアリフト型シングルユースバイオリクターです。このため、Proteonはサルモネラ・エンテリティディス培養におけるバクテリオファージの生産に関してこのシステムを評価しました。

### ■ KU Leuven大学による作物保護のためのファージ増幅 Page3～

アグロバクテリウムは、いくつかの植物種に感染を引き起こすグラム陰性の植物病原菌です。農業における細菌感染症は、これまで使用されてきた化学薬品が望ましくなく、また持続可能な解決策ではないため、治療が困難になっています。

バクテリオファージは特定の細菌を殺す自然に存在する物質であり、作物を細菌病原体から守るための有効な代替手段を提供します。

ベルギーのルーヴン大学のロブ・ラビーニュ教授の研究室では、CellMakerを用いてバクテリオファージを増幅しています。ラビーニュ教授は過去20年間にわたりファージの研究に取り組み、大学内で複数のバクテリオファージ研究プロジェクトを監督しています。そのうちの一つのプロジェクトでは、アグロバクテリウムに対する独自のファージを作物保護用途に利用しています。

### ■ CellMakerを使用したバクテリオファージ増幅結果 Page5～

Cellexusはこれまでに多数の企業とバクテリオファージ研究分野で協力しています。ここではファージ増幅に成功したいくつかの事例をご紹介します。

- 事例1 細菌感染症に対するコスト効率の高い治療法のデモンストレーション
- 事例2 CRISPR技術を用いた抗菌製品のデモンストレーション：独自ファージの増幅確認
- 事例3 独自ファージの増幅検証：緑膿菌と黄色ブドウ球菌を用いた二重発酵実験

### ■ バクテリオファージ増幅の最適化(バクテリアに対するファージの増幅結果まとめ) Page7～

サルモネラ、アグロバクテリウム、大腸菌 (Escherichia coli)、シュードモナス (Pseudomonas syringae) を対象とした実験における接種時および最終的なファージ濃度、ならびに増幅倍率をまとめています。サルモネラでは、最大50,000倍の増幅結果が確認されています。

### ■ 参考：インタビュー資料 Proteon Pharmaceuticals社 - Capsid&Tail誌 Page9～

ファージ関連の専門誌Capsid&Tailの発行者でPhageDirectoryのJessica Sacher氏が、Proteon Pharmaceuticalsの生産ディレクターである Dr. Arkadiusz Wojtasik氏に、同社がどのようにCellexus社のCellMakerを活用し、畜産業用のファージを製造しているのかについてインタビューを行いました。

# Application Note:

## サルモネラ・エンテリカ エンテリティディス バクテリオファージの増幅効率

### はじめに

現在、獣医療における抗生物質の使用が制限される中で、バクテリオファージが細菌感染症の予防と治療において注目を集めています。ポーランドの企業であるProteon Pharmaceuticalsは、獣医学分野における革新的な治療法、医薬品、ワクチンの製造に取り組んでおり、農場動物におけるサルモネラ感染予防のためのバクテリオファージカクテルの開発を進めています。

CellMakerは、細菌培養に適した使いやすいエアリフト型シングルユースバイオリアクターです。

このため、Proteonはサルモネラ・エンテリティディス培養におけるバクテリオファージの生産に関してこのシステムを評価しました。

### 方法

CellMakerバイオリアクターには5LのLB培地を注ぎ、37°Cに予熱しました。その後、S. enterica Enteritidis株の一晚培養した培養液を加えました。バイオリアクターには毎分5Lの空気を供給し、温度は37°Cに安定して保たれました。細菌の光学密度を30分ごとに測定しました。光学密度がOD<sub>600</sub>で0.4~0.5（細菌接種から2時間後）に達したとき、サルモネラに特異的なバクテリオファージの接種液を5×10<sup>7</sup>PFU（Plaque Forming Units）添加しました。その後、バクテリオファージが増幅するのを待つために、さらに3時間培養を続けました。バクテリオファージの濃度（PFU/ml）と細菌の光学密度を測定するためにサンプルを採取し、同じ条件でバクテリオファージを使用しないプロセスも対照群として実施し、細菌の成長を比較しました。

### 結果

結果を以下の表に示します。

Time	S. Enteritidis growth control [OD <sub>600</sub> ]	S. Enteritidis growth with bacteriophages [OD <sub>600</sub> ]	Titre of bacteriophages [PFU/ml]
0h	0.101	0.020	
30'	0.103	0.046	
1h	0.197	0.072	
1h30'	0.456	0.276	
2h	0.937	0.480	5.00E+04
2h30'	1.960	0.933	
3h	3.020	1.290	6.80E+08
3h30'	3.910	0.580	
4h	4.500	0.332	8.50E+09
4h30'	4.620	0.356	
5h	4.700	0.440	1.00E+10

細菌を単独で培養した場合と、ファージを添加した場合の光学密度 (OD) の動態を比較し、その結果を以下のグラフに示しました。

水色の線は細菌を単独で培養した場合の成長曲線を示しており、紺色の線はファージを培養開始2時間後に添加した際の光学密度の変化を表しています。

さらに、緑色の線はファージの増殖数の推移を示しています。

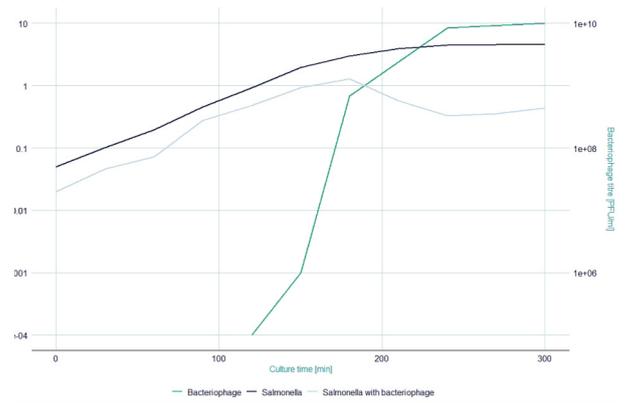


図1. CellMakerバイオリアクターにおけるサルモネラ・エンテリティディスの増殖とバクテリオファージの増幅、ならびに単独培養時のS. エンテリティディスとの比較

## お客様の声

CellMakerは、バクテリオファージの生産において非常に使いやすい即使用可能なシステムであり、シングルユースのCellMakerバイオリアクターは、細菌培養前に滅菌が不要な点で従来のバイオリアクターに代わる優れた選択肢です。統合された制御ソフトウェアにより、バイオリアクター内の条件をリアルタイムで監視できるため、システムを停止することなく、培養中にサンプルの採取が可能です。試験結果により、CellMakerバイオリアクターシステムがサルモネラ・エンテリカ エンテリティディス血清型の培養とファージの高効率な増幅に成功することが証明されました。さらに、ファージ収量を向上させるためのプロセス最適化が行われ、現在はこのプロセスが生産工程として採用されています。データ提供者: Justyna Klimczak氏、Arkadiusz Wojtasik氏 (Proteon Pharmaceuticals SA)



“

CellMakerシステムを正確に設置していただき、ありがとうございます。**Proteon Pharmaceuticals** (ポーランド) では、CellMakerが信頼性が高く、操作が簡単であり、私たちの製薬プロセスにおいて非常に重要な役割を果たしていることを実感しています。

私たちの専門チームは、この使い捨て技術の利点を最大限に活用し、CellMakerバイオリアクターとの作業を楽しんでいます。

CellMakerは、私たちが求めるバクテリオファージの量と品質を安定的に生産しており、4台のCellMakerシステムは、革新的なBAFASAL®製品の製造プロセスに欠かせない存在となっています。

**Dr. Arkadiusz Wojtasik, Project Director, Proteon Pharmaceuticals SA**

# Application Note:

## KU Leuven大学による作物保護のためのファージ増幅

### はじめに

アグロバクテリウムは、いくつかの植物種に感染を引き起こすグラム陰性の植物病原菌です。農業における細菌感染症は、これまで使用されてきた化学薬品が望ましくなく、また持続可能な解決策ではないため、治療が困難になっています。

バクテリオファージは特定の細菌を殺す自然に存在する物質であり、作物を細菌病原体から守るための有効な代替手段を提供します。

ベルギーのルーヴェン大学のロブ・ラビーニュ教授の研究室では、CellMakerを用いてバクテリオファージを増幅しています。ラビーニュ教授は過去20年間にわたりファージの研究に取り組み、大学内で複数のバクテリオファージ研究プロジェクトを監督しています。そのうちの一つのプロジェクトでは、アグロバクテリウムに対する独自のファージを作物保護用途に利用しています。

**KU LEUVEN**

### 方法

CellMaker Regular 8Lシステムを使用してファージの増幅を行いました。

まず、5Lの低ナトリウムLBブロスにCellMakerバイオリアクターバッグにポンプで注入し、アグロバクテリウム接種液を加えました。

光学密度(OD)は600nmで測定され、開始OD値は0.05と記録されました。

温度は、エンクロージャーユニットの背面に取り付けられたペルチェプレートによって25°Cに維持されました。

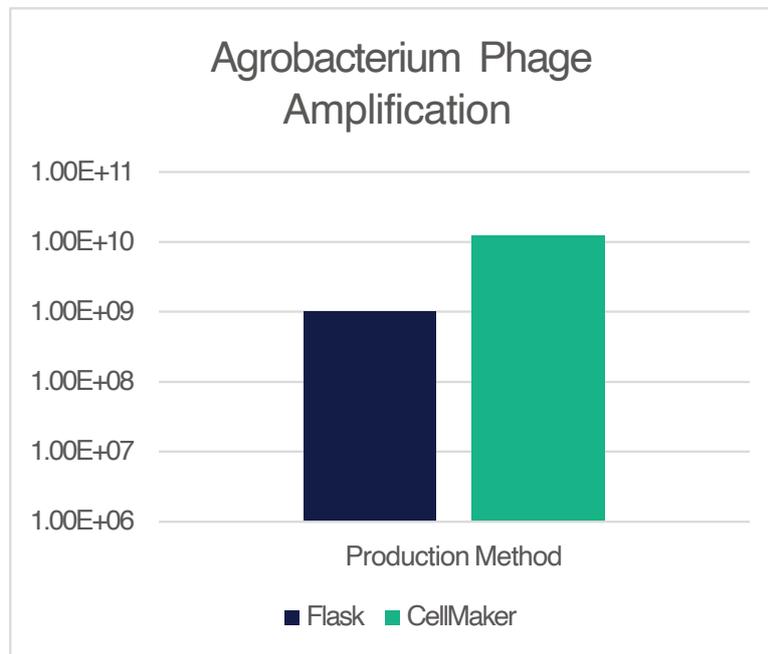
8時間後、細菌のODは0.2に達しました。この時点で、バッグの側面にある接種ポートからファージを添加しました。感染時のバッグ内の濃度は10<sup>8</sup>PFU/mLでした。



CellMaker Regular 8Lシステム

## 結果

実験は、ファージによる感染から約15時間後の翌朝に停止しました。最終的な溶出液の濃度は $1.25 \times 10^{10}$ PFU/mLでした。



## 考察

これまで、ルーヴェン大学では500mLの三角フラスコでファージの増幅を行っていました。通常、細菌はODが0.3に達するまで一晩培養し、その後ファージ接種液を加えます。上のグラフに示されているように、これにより通常は最終的な溶出液の濃度が $10^9$ PFU/mLに達します。

同じプロセスをCellMakerで行った結果、最終的な溶出液の濃度は12.5倍高く、細菌ホストの濃度が低い状態で接種されたにもかかわらず、この結果が得られました。これは、温度などの条件をより良く制御できたことに起因する可能性があります。

CellMakerは統合されたペルチェヒーター・クーラーシステムを使用しており、温度の変動があるインキュベーターでの保管が不要になります。また、ガスバブルからの一貫した攪拌も、結果の違いを説明する要因となります。

さらに、高濃度だけでなく、CellMakerが一度のバッチで迅速に生産できる溶出液の量も重要です。複数の500mLフラスコで培養するのに対し、8LのCellMakerバイオリクターバッグは3Lから8Lまでの作業容量で運用できます。

また、50LのCellMakerバイオリクターバッグも利用可能で、この場合、作業容量は10L~50Lです。

結論として、CellMakerはアグロバクテリウムに対するバクテリオファージの増幅を、従来のフラスコ法よりも高い効率と利便性で実現するシンプルで理想的なソリューションを提供します。

この研究に関するご質問は、Jeroen Wagemans at [jeroen.wagemans@kuleuven.be](mailto:jeroen.wagemans@kuleuven.be) までご連絡ください。

# Application Note:

## CellMakerを使用したバクテリオファージ増幅結果

CellMakerバイオリアクターシステムは、バクテリオファージ増幅の主なアプリケーションの1つとして広く使用されています。当社はこれまでに多数の企業と協力しており、ここでは、ファージ増幅に成功したいくつかの事例をご紹介します。

### 事例 1

Cellexusは、細菌感染症に対するコスト効率の高い治療法を提供する臨床段階の企業に対してデモンストレーションを実施しました。pHや溶存酸素のモニタリングは重要なポイントではなかったため、CellMaker Regular 8Lを使用して同社の独自ファージの増幅を試みました。滅菌済みのTSB培地4リットルをバイオリアクターに導入し、温度が設定温度に達した後に大腸菌（E. coli）20mLを接種しました。

温度 : 37°C  
気流 : 5L/分

Time (mins)	OD
0	0.010
30	0.025
60	0.084
75	0.153
85	0.227
105	0.568

ファージは85分後（緑色で表示）に導入されましたが、成長期は105分まで続きました。この時点以降、OD値が急激に減少し、溶液は透明になりました。生成物は超遠心分離および0.2μmフィルターを用いて精製され、最終的なファージ濃度は $2 \times 10^{10}$  PFU/mLとなりました。

これは初回試験として有望な結果であり、消泡剤の添加やプロセスの最適化により、さらに高い収量が期待されます。CellMakerは、このバイオテクノロジー企業に対して、迅速かつ低コストで効果的にファージを製造する方法を提供しました。

### 事例 2

Cellexusは、CRISPR技術を用いた抗菌製品を開発しているバイオテクノロジー企業でのデモンストレーションを実施し、CellMakerが同社の独自ファージをどの程度増幅できるかを確認しました。

滅菌済みのLB培地3.75リットルをCellMaker Regular 8Lに導入し、消泡剤を添加しました。その後、大腸菌を接種し、120分間培養しました。

温度 : 37°C  
気流 : 5L/分

Time (mins)	OD
5	0.01
30	0.01
60	0.05
90	0.19
120	0.60

120分後にファージが導入され（緑色で表示）、導入時のファージ濃度は $1 \times 10^6$  PFU/mLでした。このランは4時間持続され、最終的な濃度は $3.0 \times 10^{10}$  PFU/mLに達しました。

これは導入時の濃度の30倍であり、同社のこれまでで最も高い増幅結果でした。プロセス開発によりさらに改善される可能性があることも示されています。結論として、このケースでは大腸菌の迅速な成長と高濃度のファージ生産により、市場への投入までの期間が大幅に短縮されることが明らかになりました。

## 事例 3

北米のバイオテクノロジー企業が、CellMaker Regular 8Lを用いて2つの異なる発酵を実施し、同社の独自ファージの増幅を検証しました。1回目のランでは緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、2回目のランでは黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) を接種しました。両実験において、滅菌済みのTSB培地4リットルを使用し、消泡剤を添加しました。

温度 : 37°C

気流 : 5L/分

ファージ感染 : 緑色で表示

1回目のランでは、最終的なPFU濃度は $1.5 \times 10^{10}$  PFU/mLとなり、同社がすでに生産している100リットルバッチと同じ動態が得られました。これにより、CellMakerのスケラビリティが実証されました。

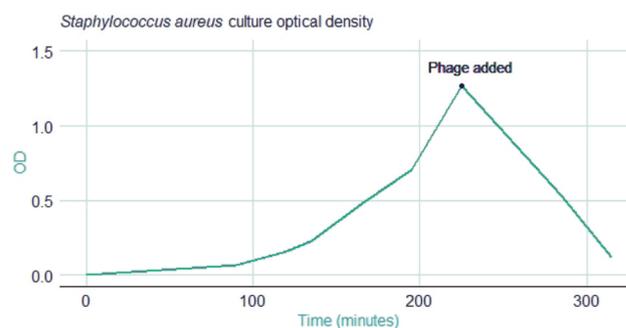
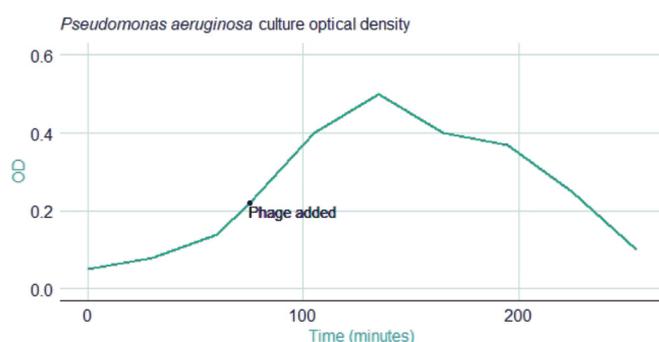
2回目のランでは、最初に導入されたファージ濃度が不十分だったため、225分後に再度ファージを導入しました。精製後の最終濃度は $2.5 \times 10^7$  PFU/mLとなり、こちらも同社の150リットルバッチと同様の動態が確認されました。結論として、初期結果は有望であり、最適化によりさらに改善が見込まれます。また、大規模な生産バッチと同様の動態を示したことから、CellMakerを使用したスケラブルなプロセスの可能性が示されました。

### Run 1: *Pseudomonas aeruginosa*

Time (mins)	OD
0	0.050
30	0.080
60	0.140
75	0.220
105	0.400
135	0.500
165	0.400
195	0.370
225	0.250
255	0.100

### Run 2: *Staphylococcus aureus*

Time (mins)	OD
0	0.001
90	0.070
120	0.160
135	0.230
165	0.480
195	0.710
225	1.27
285	0.53
315	0.12



# バクテリオファージ増幅の最適化

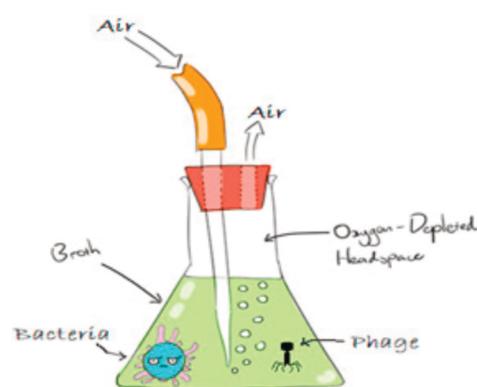
## はじめに

バクテリオファージ（ファージ）の増幅において、低いPFU/ml(プラーク形成単位)は、世界中の研究者が直面する一般的な問題です。開発初期段階では品質を優先するものの、製品試験やフルスケールの製造に移行する際に、この問題が顕著になります。この試験・製造段階でPFU/mlを増加させることは、試験用ファージの供給量を増やし、顧客への販売量を拡大するためにも重要です。

## フラスコを用いたファージ増幅

研究レベルでは、ファージ増幅は一般的に三角フラスコを使用して行われます。フラスコ内の培地には、図に示すようにピペットを介して空気を送り込み、その後インキュベーターで温度制御が行われます。

この手法はファージを生成しますが、PFU/mlが低く、また一貫性に欠ける結果を引き起こす固有の問題があります。



## フラスコ作業における課題

- 経験的な操作に依存しており再現性のある制御が困難
- インキュベーター内での温度制御が困難
- 最適なガス流量を維持できない
- 汚染リスクが高い
- 手間のかかる作業
- 実験ごとの洗浄・滅菌作業による大幅なダウンタイム
- スケールアップが難しい

## 技術の導入

お客との共同研究を通じ、ファージ増幅を最適化するためには、以下の3つの要素が特に重要であることがわかりました:

1. 温度の正確な制御
2. ガス流量の適切な調整
3. 汚染リスクの低減

これらの課題を解決し、重要なパラメータに基づいてファージ製造を改善するため、当社は新しい革新的なソリューションとしてCellMakerをお勧めします。CellMakerは、特許取得済みのエアリフト技術を採用し、最適な通気を実現します。さらに、シングルユース技術を活用することで、ダウンタイムを大幅に削減し、洗浄の必要もなくなりました。



CellMakerには、ファージ増幅を最適化するためのいくつかの重要な利点があります:

1. エンクロージャーユニットに配置されたペルチェプレートにより、 $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ の高精度な温度制御が可能.
2. マスフローコントローラーにより、ガス流量を正確に管理.
3. 滅菌済みバイオリアクターにはチューブや接続部が装備されており、「プラグ&プレイ」で簡単に利用可能. 汚染リスクが軽減されます.
4. シングルユース技術により、洗浄・滅菌の必要がなくなり、ダウンタイムを削減.
5. 3Lから50Lまで対応可能な柔軟な運用容量.
6. 21CFR part 11 準拠 ソフトウェア.

## CellMakerでの結果

当社の技術は多様な業界で活用されており、現在は、特に動物衛生、食品安全、作物保護、薬剤探索などの分野で利用されています。CellMakerは、E. coli、サルモネラ、アグロバクテリウム、リステリア、シュードモナス・アエルギノーサ、シュードモナス・シリング、黄色ブドウ球菌、ヤーシニア・ルケリなど、さまざまな細菌に対するファージ増幅で優れた成果を挙げています。以下に一部の結果を示します。:

Bacteria	Inoculum PFU/ml	Final PFU/ml	Amplification factor
<i>Salmonella</i>	$2 \times 10^5$	$1 \times 10^{10}$	x 50,000
<i>Agrobacterium</i>	$5 \times 10^5$	$1.25 \times 10^{10}$	x 25,000
<i>Escherichia coli</i>	$1 \times 10^6$	$3 \times 10^{10}$	x 30,000
<i>Pseudomonas syringae</i>	$1 \times 10^6$	$3 \times 10^{10}$	x 30,000

## 製造コストの削減

製品の成功には、製造コストの管理が非常に重要であり、プロセスのスケールアップに適した技術を選ぶことが鍵となります。CellMakerは、プロセスパラメータの精密な制御、シングルユース技術による迅速さと利便性、そして効率的なエアリフト技術により、ファージ増幅で優れた成果をもたらします。

これにより、市場投入までの時間が短縮され、最適化されたプロセスを通じて、より高濃度かつ効果的なファージ製品が安定して得られます。

弊社ウェブサイトのその他、ケーススタディもぜひご覧ください。



Proteon Pharmaceuticalsのチームは、ファージ製造技術の最適化に Cellexus CellMakerを使用しています。

写真提供: Proteon Pharmaceuticals

ユーザーインタビュー:

## Proteon Pharmaceuticalsの事例 (“Capsid & Tail”誌掲載) 畜産業用ファージ製造に関するインタビュー

ファージ関連の専門誌Capsid and Tailの発行者でPhageDirectoryのJessica Sacher氏がProteon Pharmaceuticalsの生産ディレクターである Dr. Arkadiusz Wojtasik氏に、同社がどのようにCellexus社のCellMakerを活用し、畜産業用のファージを製造しているのかについてインタビューを行いました。

(以下、敬称略)

**ジェシカ:** まず、アルカディウシュさんの経歴についてお伺いします。どのようにしてProteonに入社されたのですか？現在の役割についても教えてください。

**アルカディウシュ:** 私は微生物学と微生物遺伝学の学位を取得し、その後、バイオテクノロジーの博士号を取得しました。その後、ポーランド科学アカデミーで数年間研究者として働き、微生物学や遺伝学、バイオインフォマティクスのスキルを高めました。そして2009年に、ファージ療法製品を開発することを目指していた創業初期のバイオテクノロジー企業、Proteon Pharmaceuticalsに参加する機会を得ました。ファージを基盤とする抗菌剤には大きな未来があると感じ、私の役割は、最適なファージを選定するために、遺伝学やバイオインフォマティクスの深い分析を行うことでした。当時は、Proteonでのファージ研究は主にラボで行われていましたが、数年後に工業規模でのファージ製造技術を開発する必要性が出てきました。産業規模での生産は新しい挑戦であり、私が博士課程で培ったスキルを基に、ファージ製造の道を一から構築してきました。現在は生産ディレクターとして、チームやプロセス、供給管理、そしてProteonのファージ製造のさらなる発展に取り組んでいます。

ジェシカ: **Proteonはファージをどのように活用していますか？取り扱っているファージの種類や、目指している用途について教えてください。**

アルカディウシュ: Proteonは、マイクロバイーム（微生物叢）の保護において、精密なバイオロジーを活用しています。私たちの目標は、動物や人の健康を改善し、環境の持続可能性を高め、不要な抗生物質の使用をなくすことです。私たちは特許取得済みのファージプラットフォーム技術から開発された、自然で安全なソリューションを使用しています。畜産分野で農家と協力し、経済的効率性を高めると同時に、環境に優しい解決策を提供することに重点を置いています。畜産業に焦点を当てているため、最初の製品であるBAFASALは、家禽（かきん）農場でのサルモネラ菌の除去に効果があります。この製品はインドと東南アジアですでに登録されており、現在、欧州、北米、南米でも最終的な登録手続きに入っています。

ジェシカ: **ファージ製品を飼料添加物として登録するプロセスはどのようなものでしたか？**

アルカディウシュ: 私たちの製品は登録する国すべてで新しい用途となりますので、多くの労力がかかります。たとえば、私たちはヨーロッパで最初にファージ製品を飼料添加物として登録しようとしている企業だと思っています。このような製品をどのように分類するのか、どのような試験が必要かなど、多くの疑問が生じます。それでも成功を収めており、現在、他の製品の登録も始めています。例えば、水産養殖向けの製品BAFADORは、水産養殖における感染症の予防・除去を目的としたものです。また、BAFACOLは、家禽でのAPEC（病原性大腸菌）株に対抗するための製品です。どちらも飼料添加物であり、世界の特定の市場で登録が進められています。

ジェシカ: **現在、どれくらいの量のファージを生産しているのですか？**

アルカディウシュ: 私たちは大量のファージを生産することができます。小型の8リットルCellexus CellMakerを使用してファージを製造するラインがあり、さらに、50リットルのCellexus機器を使用した開発中のプロセスラインもあります。具体的な生産量はお伝えできませんが、上流および下流のプロセスを考慮すると、この生産能力をかなり活用していることは確かです。

ジェシカ: **ファージ製造において、どのような課題が発生していますか？**

アルカディウシュ: ファージ製造の最大の課題は、他のファージとの交差汚染を防ぐことだと思います。Proteonの製品はすべて複数のファージから成るカクテルです。通常、いくつかのファージが対象の生産株の一部をカバーし、他のファージが別の部分をカバーします。しかし、時には異なるファージが同じ株をターゲットにすることがあり、そのため1つの生産株に対して複数のファージが活性を持つことがあります。このため、交差汚染は大きな課題となり得ます。私の考えでは、すべての作業領域で極めて慎重に行動することが重要であり、使い捨て技術を使用することが一つの方法だと思います。Cellexusはそのような技術を提供しており、交差汚染を防ぐのに役立ちます。

ジェシカ: **なるほど。カクテルにする場合でも、常に各ファージを別々に製造するのですね？**

アルカディウシュ: そうです、各ファージは別々の培養で増幅する必要があります。そしてもちろん、カクテルを作るためには複数の別々の培養が必要です。しかし、交差汚染を防ぐための最も重要な方法は、同じようなファージを続けて製造しないことです。これは難しく聞こえるかもしれませんが、実際にはそうではありません。特に私たちのように、異なるファージを使って3~4つの製品を準備している場合、ファージを交互に生産すればうまくいきます。

ジェシカ: **なるほど。それぞれのファージには異なる宿主菌株があって、それに基づいて増殖させているということでしょうか？それとも、使用している菌株に重複があることもありますか？**

アルカディウシュ: それはその時々で異なります。ファージごとに別々の宿主範囲を持つこともあれば、複数のファージが同じ宿主範囲を持つこともあります。製品によって異なりますね。

ジェシカ: **なるほど。では、この交差汚染の問題に対応するため、特別にCellexus社CellMakerを導入したということですか？**

アルカディウシュ: そうです。7年前に最初のCellMakerシステムを導入しました。当時、使い捨て技術を使ってファージを増幅するためのソリューションを探していました。その時は、微生物の効果的な増幅を保証する適切な装置を見つけるのが非常に難しかったです。市場には細胞培養用のバイオリアクターが主に提供されていましたが、それらは主に気相管理が不十分でした。細胞培養ではそれほど気相管理が重要ではないからです。しかし、Cellexusは『エアリフト』技術を導入しており、これが非常に重要だと思いました。これは他のバイオリアクター製造業者とはかなり異なるアプローチですが、このソリューションにより、細菌およびファージの増殖が可能になります。もちろん市場は変化していますが、私たちはCellexusを導入し、CellMakerは非常に効果的なので、今でもこれらの機械を使用し続けています。

ジェシカ: **他にもCellMakerが役立った点がありますか？**

アルカディウシュ: はい、このシステムは非常にシンプルで、ラボのフラスコからバイオリアクターへの生産移行が迅速に行えます。ただし、すべてはファージ株によります。フラスコで簡単に最適化できるのであれば、バイオリアクターでも迅速に成功を収められると思います。またバッグを購入するための投資は必要ですが、使い捨てバッグ技術のおかげで、機械の滅菌や洗浄に関する問題を多く避けることができます。この方法により、交差汚染のリスクだけでなく、病原微生物を扱う際にオペレーターが細菌に汚染されるリスクも減少します。これは非常に重要な点です。

ジェシカ: **ファージ生産を拡大する際に、他にも直面する可能性のある問題はありますか？例えば、十分な濃度を得るのに苦労することはありますか？**

アルカディウシュ: 増幅は一つの要素であり、培地を変更したり、パラメータを最適化したり、培養時間を延長するなどの解決策を探ることはできますが、バイオリアクターの培養だけが最適化できる要素ではありません。さらに、精製プロセスも非常にデリケートであることが分かっています。特にE. coliの場合、一般的な精製方法ではファージを失うことがあります。そのため、すべてのファージは個別に扱わなければならない、以前の経験に頼ることができても、それだけが重要ではないということです。

ジェシカ: **設置は簡単ですか？新しいCellMakerをラボで注文する場合、生産に関する豊富な経験が必要ですか？それとも、割と「プラグアンドプレイ」のような感じですか？**

アルカディウシュ: バイオリアクターの経験がない場合、どんなバイオリアクターでもすぐに立ち上げるのは簡単ではないですが、CellMakerは追加のシステム、例えば水源やエアレーション、温度管理が必要ないことは特筆すべき点です。どのラボでも簡単に接続して使用できます。技術的には、CellMakerは他のバイオリアクターに比べて始めやすいと思います。

ジェシカ: **CellMakerを使ってファージの研究を検討している人にアドバイスはありますか？これは良い選択肢だと言えるでしょうか？**

アルカディウシュ: もちろん、試してみる価値はあると思います。Cellexusのデバイスやバッグはコスト的にも比較的手頃であることも嬉しい点です。ただ、バイオリアクターでの培養経験がある場合は、エアリフト技術が既に最適化したプロセスに変化をもたらすことがあるので、その点は注意が必要です。また、重要な点として、Cellexusは「Regular」システムというシンプルなバイオリアクターを提供しており、pHや溶存酸素（DO）コントロール機能がないため、非常に安価です。しかし、実際のところ、私たちの一部のファージではこれらのパラメータを全く監視する必要がありませんでした。他のメーカーではpHやDOセンサーを外すことがカスタム製品扱いとなり、結果的に高くなってしまいますが、Cellexusはそうではありません。したがって、すべての高機能な設備が必要でない場合は、Cellexusの安価なオプションでも十分かもしれません。ただし、もし細菌を扱うのであれば、pHの精密なコントロールが必要になるので、より高度なCellMaker Plusを使うべきです。

ジェシカ: **Proteonの今後の展望について、どのような点に期待していますか？**

アルカディウシュ: 新しいファージ製品を引き続き開発していることに興奮しています。乳牛の乳房炎を予防する製品や、カンピロバクターやビブリオ菌による感染症に対抗する製品も開発中です。もちろん、今後どのように生産が進化し、それに伴いどんなアップグレードが必要になるのかも非常に楽しみです。ただ、最大の課題は、現在と将来の需要に応えるために生産能力をさらに拡大する必要があることです。

ジェシカ: **農家の方々は、Proteon社の製品に期待していますか？実際に効果があると感じていますか？**

アルカディウシュ: はい、Proteonの製品には多くの関心が寄せられており、クライアントからも素晴らしい結果を得ています。課題の一つは、ファージ製品が非常に新しいものであるため、全員がその使い方を理解しているわけではないことです。中には抗生物質のように使えると思っている農家もいますが、そうではありません。私たちは彼らをサポートし、抗生物質の使用を減らし製品の利点を活かす方法を教えています。このプロセスでフィードバックを得ることで、農家をより良くサポートできるようになり、お互いに学び合うことができます。私たちの製品は価値があり役立つと感じていますし、クライアントとの対話が皆にとって良い学びになっています。

ジェシカ: **ProteonはファージのバイオインフォマティクスやAIにおいても素晴らしい進歩を遂げているようですが、それはどのように進んでおり、他の活動とどのように統合されていますか？**

アルカディウシュ: バイオインフォマティクスとAIは非常に価値があります。これらは、例えばあるファージが安全かどうか、リゾジェニック（溶原性）かどうかを評価するためのツールとして利用・開発しています。特にファージの遺伝子が既知の遺伝子と似ていない場合、それを判断するのは非常に難しいです。私たちが開発したAIツール「Phage.ai」は、ファージの遺伝子配列をデータベースと比較し、それがリゾジェニックであるかリシティック（溶菌性）であるかを予測することができます。これは商業開発における重要な障害だと考えており、このプラットフォームを研究コミュニティに無料で提供しています。より多くの科学者が参加し、より多くのファージをテストすることで、AIがさらに学び、ファージに対する理解が広がります。

ジェシカ: **それは素晴らしいですね。御社がすでに農家と協力し、さらにAIを取り入れながら活動しているという話を聞くのは本当に励みになります。コミュニティからのデータも取り入れている点が特に賢い方法だと思います。**

アルカディウシュ: そう言っていただけるのは非常に嬉しいです。ありがとうございます。



Dr. Arkadiusz Wojtasikは、Proteon Pharmaceuticalsの生産ディレクターです。Proteonは精密生物学を利用して、動物および人間の健康を改善し、環境の持続可能性を高め、抗生物質の不必要な使用を排除することを目指しています。

Capsid and Tail誌で公開:  
<https://phage.directory/capsid/interview-proteon-cellexus>

