

2P-225

セリシンの細胞へのストレスに対する保護効果

○寺田 聡¹, 奥本 光軌¹, 松田 庄平¹, 高橋 潤², 佐々木 真宏², 山田 英幸²
(¹福井大院・工, ²セーレン)
terada@u-fukui.ac.jp

【目的】 血清アルブミンや血清を培地に添加することで哺乳類細胞を効率的に培養することができるが、これら動物由来因子は人獣共通感染症の懸念からバイオ医薬品生産や再生医学には用いることができず、供給も海外に依存している。非動物由来の国内供給可能な因子として、我々は絹タンパク質セリシン加水分解物(以下セリシン)に着目し、セリシンを無血清培地に添加することで様々な細胞の培養が改善されることを報告して来た。本研究では、セリシンがどのようにして培養で生じる様々なストレスから細胞を保護しているかを検討した。【検討1 細胞内シグナル伝達】セリシンの細胞内シグナル伝達経路については、EGF 依存性のケラチノサイトを用いて検討を行った。このケラチノサイトでは、セリシンを添加することで十分な細胞増殖が認められたが、EGF の MAP キナーゼカスケードの阻害剤 U0126 を併用すると、セリシンの細胞増殖促進作用が有意に緩和された。このことからセリシンの増殖シグナルは MAP キナーゼカスケードを介していると考えられる。【検討2 細胞へのストレスの緩和】通常よりも高い温度で処理した場合に生じる細胞死を血清アルブミンは抑制できる。そこで、セリシンも抑制できるか検討した。【謝辞】 本研究は、次世代バイオ医薬品製造技術研究組合からの再委託を受けて実施した。

Protective effect of sericin on mammalian cell culture
○Satoshi Terada¹, Koki Okumoto¹, Shouhei Matta¹, Jun Takahashi², Masahiro Sasaki², Hideyuki Yamada²
(¹Grad. Sch. Eng. Fukui Univ., ²Seiren)

Key words sericin, mammalian cell, stress, albumin

2P-226

昆虫細胞による抗体分泌生産のための小胞体移行シグナル配列の改変

○大室 (松山) 有紀^{1,2}, 山地 秀樹^{1,2}
(¹神戸大院・工, ²MAB組合)
ohmuro@harbor.kobe-u.ac.jp

培養細胞による抗体医薬などのバイオ医薬品の生産性を高めるために、細胞工学技術を利用し、遺伝子導入、転写プロセス、翻訳後分泌・修飾プロセス等の改変が検討されている。これまでに、シャペロン等のフォールディングに関わる因子の共発現、目的タンパク質をコードする遺伝子のコドンの最適化、プロモーター・小胞体移行シグナルの選択等が試みられているが、小胞体移行シグナルのアミノ酸配列の改変についてはほとんど検討がなされていない。小胞体移行シグナルは、ポジティブチャージをもつアミノ酸を含む類似のアミノ酸からなる N 末端領域、疎水性残基をもつアミノ酸を多く含む中央部領域、および極性アミノ酸を含む場合が多い C 末端領域からなる。昆虫細胞は、哺乳動物細胞と比較して、本来の機能や構造を保持した組換えタンパク質の生産性が高く、無血清培地での浮遊懸濁培養が容易であることから、抗体タンパク質の生産宿主として有望である。本研究では、抗体 Fab フラグメントの L 鎖に付加した *Drosophila* 由来の Bip シグナルの各領域に特徴的なアミノ酸の種類・数を変化させ、昆虫細胞 *Trichoplusia ni* BTI-TN-5B-4 (High Five) による Fab の分泌生産量を比較した。その結果、27 種類の改変シグナル配列の中から、分泌生産量が増加する 7 種類の配列を同定した。

Variations in ER signal sequence for antibody secretion from insect cells
○Yuki Ohmuro-Matsuyama^{1,2}, Hideki Yamaji^{1,2}
(¹Grad. Sch. Eng. Kobe Univ., ²MAB)

Key words signal seceqe, antibody, secretory production, insect cell

2P-227

抗体医薬品の抗体依存性細胞傷害 (ADCC) 活性につながる、CHO 細胞培養環境因子の検討

○森下 明彦¹, 鬼塚 正義², 大政 健史^{2,3}, 秦 信子¹
(¹Ig-M・神戸, ²徳島大院・ソシオ, ³阪大院・工)
shata@ig-m.biz

バイオ医薬品開発における抗体生産を目的とした CHO 細胞培養では、培地組成や培養環境の調整は重要な懸案事項であり、ある 1 物質が細胞に吸収され、細胞内代謝の流束 (フラックス) を経て、細胞外に排出されるまでの物質の反応と変化を解析することは重要である。CHO 細胞培養における培養環境因子による培地内 (細胞外) 代謝解析と、細胞内代謝解析を結びつけることにより、一連の代謝メカニズムを網羅的に把握することができる。これにより、抗体高生産性に結びつく因子が解明でき、その結果に基づいて目標 (ターゲット) とするタンパク質について、それぞれの特性に特化した培養プロセスの構築を導き、高品質・高生産につながる可能性を秘めており、このような抗体産生細胞の検討が、遺伝子組換えによる目的タンパク質生産性向上に向けての製造設計に有意に結び付くと考えられる。また抗体医薬品と成った製品を用いて、ヒト血液の末梢血単核細胞 (PBMC) の T 細胞及び B 細胞応答を測定する *in vitro* (*ex vivo*) Assay を行った。この Assay により、投与レジメン、投与期間、患者の遺伝的な背景、医薬品の品質の他、生産の製造プロセスにおける宿主細胞などの潜在的な免疫原性を評価することができ、抗体依存性細胞傷害 (ADCC) 活性の安定性評価につながるものと期待する。

Leading to antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) activity of the antibody drugs, study of CHO cell culture environment factors
○Akihiko Morishita¹, Masayoshi Onitsuka², Takeshi Omasa^{2,3}, Shinko Hata¹
(¹Ig-M Co., Ltd., ²Inst. Technol. Sci., Tokushima Univ., ³Grad. Sch. Eng., Osaka Univ.)

Key words CHO cells, Cell mechanism, Antibody productivity enhancing factor, Antibody-dependent cellular cytotoxicity

2P-228

次世代バイオ医薬品製造のための培地開発

○江原 幸和^{1,2}, 鶴成 萌^{1,2}, 佐伯 尚史^{1,2}
(¹JX 日鉱石油エネルギー, ²次世代バイオ医薬品製造技術研究組合)
hisashi.saeki@noe.jx-group.co.jp

【背景と目的】 バイオ医薬品製造プロセスの構築では、細胞の生産能力を最大限に発揮させる為の培養条件の設定や生産物である糖タンパク質の品質制御といった要素技術が重要な役割を担うこととなる。しかしながら、高い生産性と品質制御の両立を可能とする製造技術基盤は確立されているとは言い難い。そこで本検討では、次世代バイオ医薬品製造技術研究組合で開発された細胞の生産能力を最大限に発揮させるための培地開発を行うと共に、培地組成により生産物の品質制御を可能とする技術の確立を目指し検討を行った。【方法と結果】 抗体を産生するモデル細胞を用い、まずフラスコを用いた 10 日間のバッチ培養にて、当社が保有するプロトタイプ増殖培地 19 種から 3 種類の培地を選定した。更に選定した培地の組成の改変を行い、3 種類の改良培地を取得した。次に、14 日間のフェッドバッチ培養により、最適化した 3 種類の増殖培地と当社保有の 5 種類のフィード培地の組み合わせから、最適な増殖培地 JX G019-MAB01 とフィード培地 JX F003 の組合せを選定した。この選定条件を 7 種類の異なる抗体産生モデル細胞を用いてフェッドバッチ培養で評価した結果、コントロールとしたカタログ培地と比較していずれも約 1.3~2.8 倍の生産性向上が認められた。現在、この培地の組合せを基にして、フィード培地や培養条件の最適化を進めている。また、培養実験と並行して、生産された抗体の電荷変異体プロファイルのデータと糖鎖プロファイルのデータを取得し、培地の種類や培地成分濃度との関連性の有無を継続的に解析している。

Development of culture media for next-generation biopharmaceutical production
○Yukikazu Ehara^{1,2}, Moe Tsurunari^{1,2}, Hisashi Saeki^{1,2}
(¹JX Nippon Oil & Energy, ²Manufacturing Technology Association for Biologics)

Key words biopharmaceutical, media, productivity, quality control