

2 動植物細胞培養

103 カプセル化動物細胞の長期培養
(雪印乳業 技研) 吉岡俊満、平野了悟、塩谷敏明、椎木靖彦、種谷真一

1) 目的 動物細胞の高密度培養に関する技術は、近年に至りインターフェロン、各種細胞由来の生理活性物質等の研究に支えられ、無血清培地の開発、マイクロキャリーア、ホローファイバー、マイクロカプセル等の応用開発と共に急速に発展してきた。演者らはこれらのうちマイクロカプセルに注目し、ハイブリドームのような生物学的物質をカプセル化する方法を確立した。本研究の目的はカプセル化およびフリーの動物細胞の増殖特性およびカプセル化細胞の長期培養における培地交換の効果を検討することである。

2) 方法 用いた動物細胞は増殖性のモノクローナル抗ウシラクトフェリンIgG産生ハイブリドーム(ATCC HB-8852)で、培地はDulbecco改良Eagle培地とHam's F12培地を等量混合したものを基本とした無血清培地を用いた。動物細胞をキットサンでカプセル化し、カプセル化およびフリーの細胞をスピナーフラスコで攪拌培養して、細胞密度および産生IgG量を測定した。また、培地交換の効果は、一定の間隔で、培地の半分を交換することにより検討した。

3) 結果 培地を毎日交換した系では、培養時間とともに細胞は増殖し、 10^8 に達した。カプセル内のIgG濃度は、毎日交換した系では、培養11日目に約 $120\mu\text{g/ml}$ となり、カプセル外IgG濃度と比較して、約13倍高濃度に蓄積された。産生IgG総量については、培地を交換した系では、培地を交換しない系と比較して、5-7倍高い数値を示したが、培地100ml当りの産生IgG量に換算すると、5日目毎に培地を交換した系が、最もIgG産生効率が良かったことがわかった。

The long-term cultivation of encapsulated mammalian cells
Toshimitsu Yoshioka, Ryogo Hirano, Toshiaki Shiota, Yasuhiko Shiinoki and Shin'ichi Taneya
(Technical Research Institute, Snow Brand Milk Products Co., Ltd, 1-2, Minamidai 1-Chome, Kawagoe, Saitama, 350)

104 動物細胞の高密度培養によるキメラ抗体の生産

(帝人・生物工学研) 高沢美治・渡嘉敷通之

1) 目的 我々は重力沈降によつて細胞と培養液を分離し、パーフュージョン培養を行なう高密度培養法を開発し、これまで種々のハイブリドームの培養に成功した。今回は新たに作成した、V領域がマウス由来、C領域がヒト由来であるキメラ抗体を産生する遺伝子導入細胞をこの培養法に適用し、キメラ抗体の大量生産の可能性を検討した。

2) 方法 細胞はマウスミエロマJ558L及びX63.Ag8.653に抗cALLAマウスIgGのV領域とヒトIgGのC領域のDNAを結合して導入したキメラ抗体産生株2株を用いた。培養槽には培養容積120ml及び1.2lの重力沈降型培養槽を用い、パーフュージョン培養を行なった。培地はITES-eRDF及び10%FCS-eRDFを用いた。キメラ抗体産生の確認はELISAによつた。

3) 結果 J558Lキメラ株は無血清培地で生育可能であったので、ITES-eRDFで容積120mlの高密度培養を行なった。生細胞密度 $8 \times 10^5 \text{ cells/ml}$ から3日目で $2 \times 10^7 \text{ cells/ml}$ に達し、19日間安定に培養された。最高到達生細胞密度は $3.7 \times 10^7 \text{ cells/ml}$ 、抗体産生能は $3 \sim 9 \mu\text{g}/10^6 \text{ cells/day}$ であった。X63キメラ株は無血清で生育しなかつたため、血清培地で120ml及び1.2lの高密度培養を行なった。120mlでは $9 \times 10^5 \text{ cells/ml}$ から3日目で $2 \times 10^7 \text{ cells/ml}$ に達し、16日間安定に培養された。1.2lでは $5 \times 10^5 \text{ cells/ml}$ から6日目で $1 \times 10^7 \text{ cells/ml}$ に達した。抗体産生能はどちらも $0.1 \sim 0.4 \mu\text{g}/10^6 \text{ cells/day}$ であった。X63キメラ株産生のプロテインA精製抗体を抗ヒトIgG及び抗ヒトK鎖抗血清を一次抗体としたELISAで測定したところ、同程度の値が得られ、産生された抗体はキメラ抗体であることが示された。

1) 渡嘉敷・濱本・高沢・市川：日本醗酵工学会 昭和61年度大会講演要旨集 p.156

Production of Chimeric Antibody by Perfused Culture of Mammalian Cells.

Y. Takezawa and M. Tokashiki

Biotechnology Research Laboratory, Teijin Limited.