

細胞培養によるモノクローナル抗体の生産

モノクローナル抗体の生産方法は、目的の抗体を産生するハイブリドーマ細胞をマウスの腹腔内に接種する方法、あるいは細胞培養により行われます。

どちらの方法を選択するかは、抗体の使用目的により決められます。

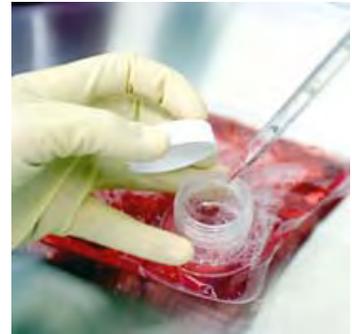
抗体医薬に用いられる抗体は当初、マウス腹水を用いて生産されましたが、外来性ウィルスの混入を防ぐためには細胞培養で生産することがただ一つの選択肢です。

目的が診断用医薬品あるいは精製用のアフィニティマトリックス担体としての抗体の場合にはいずれの方法も用いる事ができますが、細胞培養法は大規模な生産が可能な事から使用量(生産規模)により選択する事が出来ます。

細胞培養法には小規模生産用フラスコから大規模生産用のローラーボトル、タンクあるいは中空糸システムに及ぶ様々な方法があります。

パイロットスケールでの抗体生産(1mg~10mg)は、セットアップが容易で柔軟な対応ができるフラスコあるいはバッグコンテナーでおこなわれることが一般的です。

特にディスポーザブル細胞培養バックは、コンタミネーションの危険を大幅に軽減し、大きな設備投資を必要としません。



小規模な抗体生産(10mg~500mg)は、ローラーボトルかディスポーザブル細胞培養バックでおこなう事ができます。

ローラーボトルおよびディスポーザブル細胞培養バック中のモノクローナル抗体の収量は使用するクローン、その成長および抗体産生レートに依存します。

大規模な抗体生産(500mg~)は、細胞培養中に抗体を濃縮すると同時に新しい培地を連続的に供給する事が可能な中空糸システムあるいはタンクでおこなう事ができます。

一般的には大規模生産を始める前に各細胞系の至適条件を決定するために小規模な試験生産がおこなわれます。



これらの方法において serum-free あるいは protein-free の培地を用いる事により抗体の精製を容易にしますが、ストレスの多い条件下においても生育できるように細胞を適応させるための期間を必要とします。

典型的な適応化のプロトコルでは、添加する血清を段階的に減少させ4継代する事で細胞を環境に適応させます。

典型的な適応化のプロトコルでは、添加する血清を段階的に減少させ4継代する事で細胞を環境に適応させます。

ベリタスではモノクローナル抗体の生産に適した細胞培養製品を取り扱っています。

LAMPIRE OMNI C3[®] Cell Culture Bag

Lampire Biological Laboratories の OMNI C3 バッグは、細胞の培養、回収、保存の全てができる、ガス透過性の細胞培養バッグです。

- ・ガス透過性、USP Class VI material (医療グレードプラスチック) の素材を利用
- ・クラス 10,000 のクリーンルーム内の クラス 1000 タイプクリーンベンチで作成しています。

- ・ 全てのバッグで空気漏れの試験済み。4%のバッグをサンプリングして液体漏れの確認試験を行っています。
- ・外袋に封入して電子線照射滅菌しています。(30-70kGy)



【特長】

- ・ OMNI C3 は従来の Lampire Cell Culture Bag とは異なる新しい素材で作られています。
- ・ 高いガス透過性ととも、2000 x g での遠心が可能です。
(1L のバッグは通常の Beckman 遠心機ローターに収まる仕様です。)
- ・ -196°Cにも耐久性のある素材で、細胞の凍結保存にも利用可能です。
- ・ 広口タイプのバッグにはスポンジ等細胞培養用の各種基材を簡単に入れる事ができます。GEMsTM 等の基材を入れる事で接着性の細胞も培養可能です。
- ・ CHO, HEK-293 では振盪により増殖速度が向上します。
- ・ 昆虫細胞は振盪して、バッグ中に空気ポケットを作る事で培養可能です。

使用細胞例:

- ・ Hybridomas
- ・ CHO K-1
- ・ HEK293
- ・ Jurkats
- ・ Stem cells (embryonic and adipose-derived)
- ・ sf-9 insect
- ・ CHO-S
- ・ plant cells.

FiberCell Systems 社の中空糸による細胞培養装置

FiberCell[®] System は、直径約 200 μm の、多孔質の中空糸膜(MWCO: 5 kD-1 μm)から構成されたカートリッジで細胞を培養するシステムです。細胞はカートリッジ内の中空糸膜の外側に留まって培養されますが、グルコースや乳酸、酸素、CO₂などは中空糸膜を通過します。

装置はコンパクトですが、中空糸膜が非常に大きな表面積(～200 cm²/mL)を提供するため、*in vivo* に近く高密度な細胞培養 (>1 × 10⁸/mL) が可能です。細胞の分泌生成物は、中空糸膜外側の小さなスペースに滞留するため、フラスコやローラーボトルによる培養に比べて 100 倍以上の濃度で回収することができます。また、高密度培養により、血清使用量の削減や無血清培地(CDM-HD で代替)の適用が可能です。

【特長】

- 分泌タンパクや抗体を 100 倍以上に濃縮
- 6 か月以上の長期連続培養例が多数
- 細胞の生存率向上、アポトーシス低減
- 培地中の老廃物を簡単に除去
- 閉鎖系培養による安全性の向上
- 最大 10¹¹ 個の細胞を高密度(>10⁸ 個/mL)で培養

接着細胞と浮遊細胞をどちらも効率よく培養
膜の MWCO の選択が可能
培養条件を正確に制御、容易にモニタリング
培養カートリッジを 2 個同時に設置可能
培地使用量の削減

モノクローナル抗体の製造では 0.5-5 mg/mL の高濃度で、1 ヶ月あたり 100 mg - 1 g 以上の高力価なモノクローナル抗体を製造できます。