

論文内容要旨

報告番号	甲 先 第 219 号	氏 名	中村 剛
学位論文題目	バイオリジックス生産に適したCHO細胞株の育種プロセス構築		
<p>内容要旨</p> <p>抗体医薬に代表されるバイオリジックス（バイオ医薬品、蛋白質医薬品、生物学的製剤、バイオリジカルズ）は、次世代の医薬品として大変注目されている。これらは、高度な糖鎖修飾を含む転写後修飾などで、活性を持つ立体構造を取る必要があるため、その多くが動物細胞宿主により製造される。そのバイオリジックス生産用宿主細胞のなかでも、現在では、浮遊培養に馴化したチャイニーズハムスター卵巣細胞（Chinese hamster ovary: CHO細胞）が主に使われている。このCHO細胞を用いたバイオリジックス生産では、目的タンパク質産生株の早期樹立が、早期の臨床試験開始のためのクリティカルパスであると同時に、その品質や安全性および生産性（将来の製造コスト）に与える影響が非常に大きい工程となっている。本研究では、医薬品企業で実際に用いられる生産細胞樹立（育種）プロセスの最適化を行った。</p> <p>まず、これまでの主流である限外希釈法による生産株取得を複数の抗体分子を例に実施したケースの解析を試みた。主に、クローニング時の培養条件を変えたことでの取得効率や取得されるクローンの特性に違いがあることの確認を行い。これまでより効率的な限外希釈法でのプラットフォーム的な条件を割り出した。</p> <p>さらに、限外希釈法の欠点である効率の悪さや、細胞株樹立までの期間を短縮するのに好ましい特性を備えた、シングルセルベースクローニング機器を、実際の細胞株樹立に用いるために最適化を行った研究である。このとき、半固形培地上に単細胞を播種して、クロナリティ（単細胞由来性）を確保した上で蛍光標識を用いて細胞の目的産物産生量を確認して、任意の細胞株を取得できる機器を用いた。その際、半固形培地の処方改善と、半固形培地に播種する迄の条件を最適化することで評価対象の細胞集団を早く広く評価できるようになった。その結果、高生産の細胞株樹立が一段と効率的に行えるようになった。</p> <p>そして次に、実際の細胞株樹立の上で欠かせないサブクローニングについて検討の検討をまとめた。遺伝子導入された細胞株を一度だけクローニングしたいわゆる親株より、その親株を再度クローニングするサブクローニングで得られる娘株は、親株よりもクロナリティが高くより遺伝的に安定であり、選抜の結果、高生産が得られるとされているが、その結果を報告した事例は少ない。本研究では、親株ごとの違いを網羅的に見てみた。さらに、シングルセルベースのクローニング機器を用いたサブクローニングをも実施した。</p> <p>最後に、従来法と新規法の比較を含め、本研究で明らかになった結果を総括して、実際のプロセスについて言及し、今後の課題とともに業界の傾向と研究の展望についてまとめた。</p>			

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 先 第 219 号	氏 名	中村 剛
審査委員	主査 中村 嘉利 副査 櫻谷 英治 副査 大政 健史		
学位論文題目			
バイオロジックス生産に適したCHO細胞株の育種プロセス構築			
審査結果の要旨			
<p>抗体医薬に代表されるバイオロジックスは、次世代の医薬品として大変注目されており、その生産系として、チャイニーズハムスター卵巣細胞 (Chinese hamster ovary : CHO細胞) が主に用いられている。このCHO細胞を用いたバイオロジックス生産では、目的タンパク質産生株の早期樹立が、実際の製造過程構築における非常に重要な工程の一つとなっている。そこで本研究ではCHO細胞を対象として生産細胞樹立 (育種) プロセスの最適化を行った。</p> <p>これまで汎用されてきた限外希釈法による生産株取得において、複数の抗体分子を例に実施し、解析した。その結果、クローニング時の培養条件の変更により取得効率や取得されるクローンの特性に違いがあることを見出し、より効率的な限外希釈法でのプラットフォームとなり得る条件を確立した。次に、限外希釈法の欠点である効率の悪さや、細胞株樹立までの期間を短縮するのに好ましい特性を備えた半固形培地上における一細胞を基本としたスクリーニングシステムを用いて、半固形培地における播種条件を最適化することにより、評価対象の細胞集団を早くかつ広範に評価し、効率的な細胞株構築条件を確立した。さらに、実際の細胞株樹立の上で欠かせないサブクローニングについて検討した。遺伝子導入された親細胞株を再度クローニングするサブクローニングで得られる娘細胞株は、親株よりも単一細胞性が高くより遺伝的に安定でありと言われているが、その結果を報告した事例はほとんど無い。そこで、本研究では、親株ごとの違いを網羅的に検討し、得られた細胞の性質を比較した。最後に、従来法と本論文において確立した手法との比較を含め、本研究で明らかになった結果を総括して、実際のプロセスについて言及し、今後の課題と展望を総括した。</p> <p>以上本研究は、バイオロジックス生産における基盤的な育種プロセス構築に関して新たな知見が得られており、本論文は博士 (工学) の学位授与に値するものと判定する。</p>			