

ヒメツリガネゴケ培養における誘電率を用いた細胞密度測定

評価実施場所：GREENOVATION Biopharmaceuticals社、ドイツ

評価報告書著者：Jonas Koch, Michael Müller, Dr.Holger Niederkrüger

分野：生物製剤 生産工程

測定対象：ヒメツリガネゴケ培養の制御

測定器：誘電率方式細胞密度測定器（インサイトセンサー）

治療タンパクの生産

モノクローナル抗体（mAb）および治療用タンパク質は、現代では最も実用的で重要な生物製剤の一つとされています。このような製品を製造するには、製造業として必要な堅牢性、再現性のある工程を確立することが必要です。

生物製剤産業において、哺乳類の細胞を用いた培養は、近年の工程管理技術の発展に伴い生産性の向上が図られ製造技術として発展しています。しかし、それより再現性があり、取り扱いが容易で、より生産費用を抑えた手法の開発の必要性が依然として強くあります。

そのような中、ドイツの企業のGreenovation社は、バイオ医薬品生産のためのコケ（原糸体細胞）培養を用いた次世代のcGMP準拠製造技術 BryoTechnology（苔培養技術）を開発しました。その技術は、広範囲な生物医薬品の生産を可能にする植物システムとして、ヒメツリガネゴケの特有な点を活用しています。

このコケを用い生産された第1世代の生物製剤は、2017年11月に第I相臨床試験を無事完了しました。この次の段階として、すべての生産プロセス（哺乳類および原糸体細胞ベース）で、成長率、生産率、収量が重要になります。この場合、光や栄養など培養状態を保つ多くの項目を調整し、原糸体細胞収量への影響を検証していくことになります。この検証過程で生存細胞密度を迅速かつ確実に測定することは非常に重要です。細胞密度測定結果は実際の製造プロセスの最適化のための基礎的な資料として用いますが、培養での生産量（基準）を定めることで、培養工程以降のプロセスにおける製品の歩留まりの確認、改善、調整のためにも必要になります。細胞密度測定は培養の進行速度からオフライン測定では時間がかかりすぎ、バイオリアクター内の原糸体細胞密度の状態を正確に反映することは困難です。時間がかかる原因として、原糸体細胞の培養では細胞は糸状に成長し凝集を引き起こす問題があります。細胞が固まって存在するため、細胞を数える方式のオフライン測定器の測定値は、

図1 コケ培養装置



現場の実際の細胞密度の状態と不一致を発生しやすくなります。またFDAで提唱されているPATに基づく培養制御の方法としてもリアルタイム測定を行えることが理想です。このため、リアルタイム測定を本アプリケーションで検討する場合、その基準として生細胞の誘電率測定を用い、従来の細胞密度計測方法である全乾燥細胞密度 (g/L) との比較をすすめ、二つの測定値の比較を通じインラインでの培養状態の判断が可能かを検討してみます。また、このインライン細胞密度測定値 (誘電率値) を、プロセス最適化のための重要な栄養素の濃度、pH、光強度など他のプロセスパラメータと比較するようにし、今後のプロセス制御に向けての参考とします。

細胞密度と乾燥重量の相関関係

バイオリアクターのセットアップで得られたインライン生細胞密度測定 (誘電率値)、およびオフライン総細胞密度の値 (乾燥密度) を図2に示します。

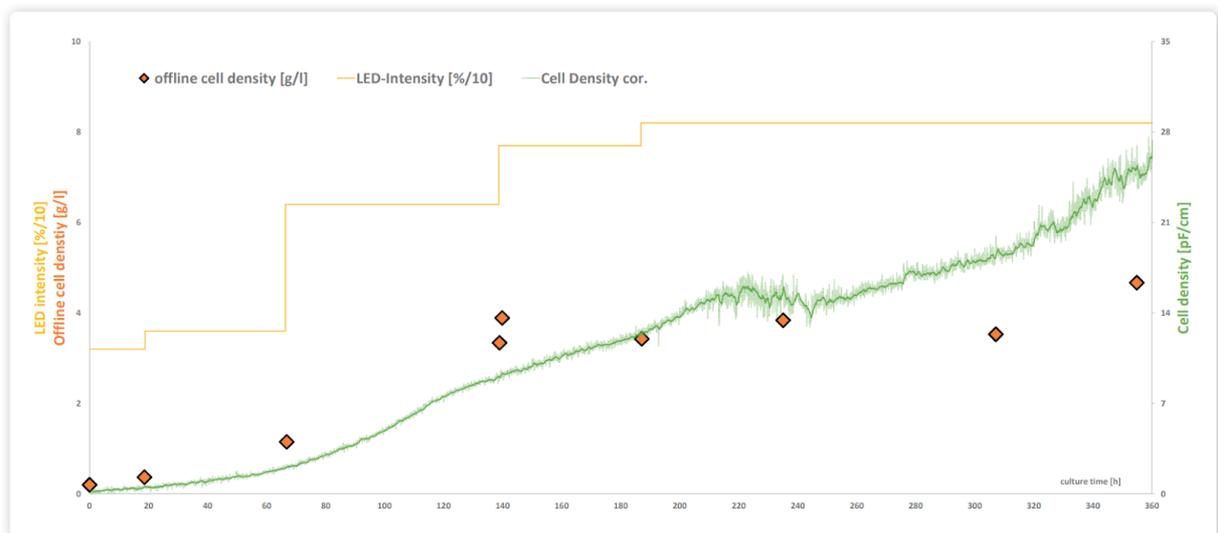


図2 インラインによる誘電率測定値(pF/cm)とオフライン細胞密度測定値 (g/L) 比較

緑色の先はインラインでの誘電率の変化を示します。オレンジの菱形の点はオフラインによる全細胞密度数の g/L 値を示しています。オレンジの線はLEDの光量を示しています。

図2より誘電率のインライン測定とオフラインの乾燥重量値との相関性が認められます。偏差の原因としてインライン測定における生存細胞の測定値に対し、オフライン測定では全乾燥細胞測定によるものと推定され、相関性の検証結果は有効と判断しました。この結果から管理方法の検証のための培養を実行していくこととなります。また誘電率の変化の特徴から、試験条件に対し極端な変化が無いことを示していることも分かります。この測定の安定性を活かしプロセス制御システムへの統合、収穫と連続培養処理自動化に必要な基準の策定を進めています。

GREENOVATION

Biopharmaceuticals

Authors

Jonas Koch
Michael Müller
Dr. Holger Niederkrüger

Company

Greenovation Biotech GmbH
Hans-Bunte-Str. 19
79108 Freiburg
Germany

Phone: +49 761 470 99 0
Fax: +49 761 470 99 190
info@greenovation.com
www.greenovation.com

製品情報

http://www.tactec.jp/PC_type_Cell_Density.html

バイオプロセス用DO、pH、導電率センサー

http://www.tactec.jp/arc_sensor_package.htm

ラボ用pHセンサー

http://www.tactec.jp/hamilton_lab_ph.html

製品についてのお問い合わせ先
株式会社ティ・アンド・シー・テクニカル
取手事業所内 商品開発部門

pd_contact@tactec.jp

Tel 0297-83-0721