

【生産技術開発テーマ名】

バイオリクターを用いての中規模細胞培養技術の開発

【中核企業】

株式会社アブクルクスバイオフィクトリー



【沖縄県工業技術センターとの共同研究テーマ】

抗体の凍結乾燥技術の開発

【背景と目標】

株式会社アブクルクスバイオフィクトリーでは、「ラボスケール以上～医薬品製造スケール未満」に対応する中規模の培養の受託製造を行っている。数年前まで抗体製造は0.1L～0.5L程度の小規模な製造依頼がほとんどであったが、この1～2年で製造1回での培養液量が5～7Lと規模の大きい依頼が増えており、より大きな培養スケールへの対応や、培養の効率化が必要となっている。そこで、自社保有バイオリクター（培養装置）を改修し中規模の細胞培養技術を確立することによって、現状の時間あたりの生産性2L/10日間に7L/10日間に拡大することを目指す。さらに、製造量の増加に伴い必要となる安定的な保管・輸送を実現する抗体の凍結乾燥の技術を、沖縄県工業技術センターの協力を得て開発する。

【成果】

■バイオリクターでの抗体製造

自社保有バイオリクターについて、補修整備に加えてTFF（中空糸フィルター）を用いたパーフュージョン（灌流）培養に対応する改修を行なった。バイオリクターによるバッチ培養およびフェドバッチ培養において各種データを取得し、これらの知見を元に実施したパーフュージョン培養で、目標の 1.0×10^7 /mLの細胞密度を超える、 1.4×10^7 /mLの高い細胞密度を得ることができた。



構築したパーフュージョン培養対応バイオリクターシステム

■抗体の凍結乾燥技術の開発

抗体サンプルを凍結乾燥し、添加剤（シュクロース）あり/なし、溶液保存/凍結乾燥、大気/窒素封入の条件で、それぞれ温度を-20℃、4℃、25℃、50℃の条件で保管した。1ヶ月後及び2ヶ月後にバイオアナライザーを用いて解析した結果、品質劣化等の不具合は無かった。今回の凍結乾燥による抗体安定性の評価では、保存期間が短く有意差の把握に至らなかったため、より長期の12ヵ月程の経過を確認する。

	フラスコ	バッチ 3L培養槽	フェドバッチ 3L培養槽	今回実施した パーフュージョン	想定する最大量の パーフュージョン
最高細胞密度 ($\times 10^7$ cells/mL)	1	0.62	0.56	1.4	1.4～
培養時間	～10日	4.8日	10日	10日	20日
抗体生産性	100mg/L	30mg/L	60mg/L	平均120mg/L	平均200mg/L～
開始時の培地量	2L	2L	2L	2.4L	7L
1回に得られる培養上清	2L	2L	2L	6.5L	35L
得られる抗体量	200mg	60mg	140mg	840mg	7000mg～
抗体製造量/日	20mg	12.5mg	14mg	84mg	350mg
向上率	-	-	-	420%	1750%

抗体培養実験結果

プロジェクト開始前

- ・培養量 2L/10日間
- ・液相での保管と輸送（-80℃の超低温管理）

プロジェクト実施内容

- ・パーフュージョン培養に対応したバイオリクターの改修と培養実験
- ・凍結乾燥後の保存安定性試験

プロジェクト成果

- ・培養量 7L/10日間（向上率 250%）
- ・凍結乾燥での2ヵ月保存安定性 OK（継続中）