

Studies on Optimization of a pH-shift Control Strategy for Producing Monoclonal Antibodies in Chinese Hamster Ovary Cell Cultures using a pH-Dependent Dynamic Model

鳳桐, 智治

<https://doi.org/10.15017/1931972>

出版情報 : 九州大学, 2017, 博士 (農学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

氏 名 : 鳳 桐 智 治

論文題名 : Studies on Optimization of a pH-shift Control Strategy for Producing Monoclonal Antibodies in Chinese Hamster Ovary Cell Cultures using a pH-Dependent Dynamic Model
(動的数理モデルを用いた抗体生産 CHO 細胞培養における pH 制御の最適化に関する研究)

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

医薬品市場の大きな規模を占めている抗体医薬品の多くは、チャイニーズハムスター卵母細胞 (CHO 細胞) を用いた流加培養法によって製造されている。流加培養において、一般的に pH は感受性の高い制御変数であり生産性の最適化のためには細かい時間刻みで厳密に制御されるべきであるが、pH を時間変数として検討することは難しく、ほとんどの先行研究で pH は培養期間を通じて一定か、あるいは1度の変更のみで制御されているのが現状である。

本論文では、抗体生産量の向上のために、培養時間中に pH を時間的に制御する手法を構築した。抗体生産培養を記述するために、pH の最適化に最低限必要な6つのシステムコンポーネント (抗体生産量、生細胞数、アポトーシス細胞数、死細胞数、培養体積および pH) からなる動的数理モデルを提案した。pH のみが独立変数であり、残りの5つのコンポーネントは図1に示すように変動することとした。すなわち、生細胞数は自己複製によってのみ増加し、初期アポトーシスおよび死滅によって減少する。アポトーシス細胞数は初期アポトーシスによって増加し、後期アポトーシスによって減少する。死細胞は生細胞の死滅およびアポトーシス細胞の後期アポトーシスによって増加し、崩壊によって減少する。抗体は生細胞およびアポトーシス細胞によって生産され、培養体積は細胞の培地消費に伴う流加によって増加する。いずれのパラメーターも pH に依存的に変化するとした。いずれのコンポーネントも、一般的な培養実験設備にて容易に測定可能であり、各抗体医薬品における各 CHO クローンの評価過程において十分応用可能である。

まず、モデル中の反応速度定数は、pH を 6.6, 6.8, 7.0 あるいは 7.2 で一定とした4回の培養実験の各コンポーネントの経時変化データを用いて推定した。反応速度定数の数は41個であったが、遺伝的アルゴリズムより推定し、4つの培養実験結果を高い精度で再現できることを確認した。

次に、構築したモデルを用いて pH を 6.6 から 7.2 の範囲で時間的に変化させたシミュレーションを行い、遺伝的アルゴリズムを用いて、培養終了時点での抗体濃度を最大化する pH 時間制御方法 (pH を 6.89 から 6.96 への逐次的に増加) を見出した (図2 a)。見出された pH 制御方法は、先述の pH 一定条件の方法に比べて約 40%抗体生産濃度が向上することがシミュレーションから推定された (図2 b)。また、この結果は CHO 細胞を用いた流加培養実験によって支持された (推定の平均誤差は 5%未満であった)。

本研究を通じて、CHO 細胞による抗体生産のための流加培養における pH の時間的最適化は、わずか6つのシステムコンポーネントから成る pH 依存的な動的数理モデルによって実用可能であることが示唆された。また、pH の時間的最適化は抗体生産効率に対して大きなインパクトを持つことが示された。

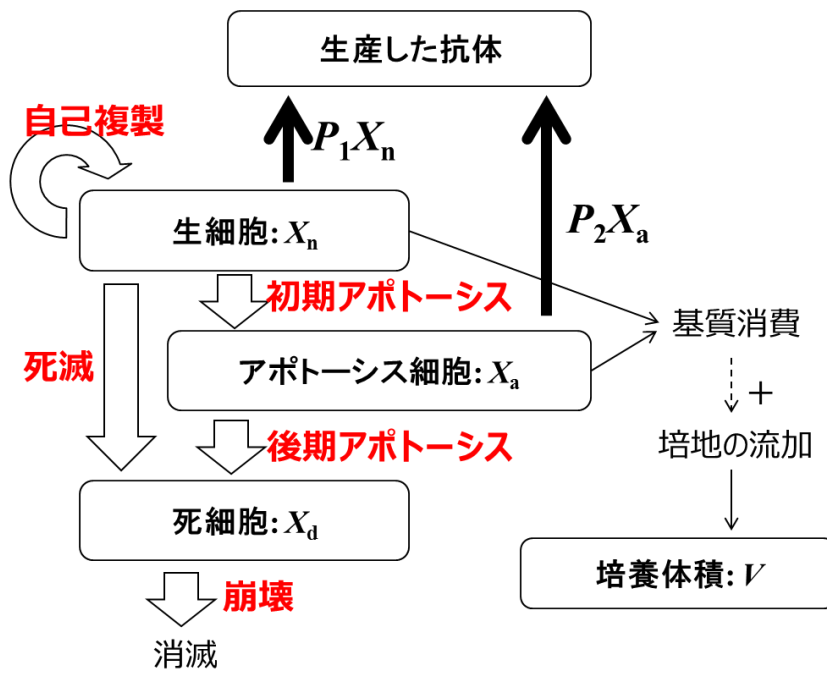


図 1. CHO 細胞の流加培養における抗体生産の動的数理モデル

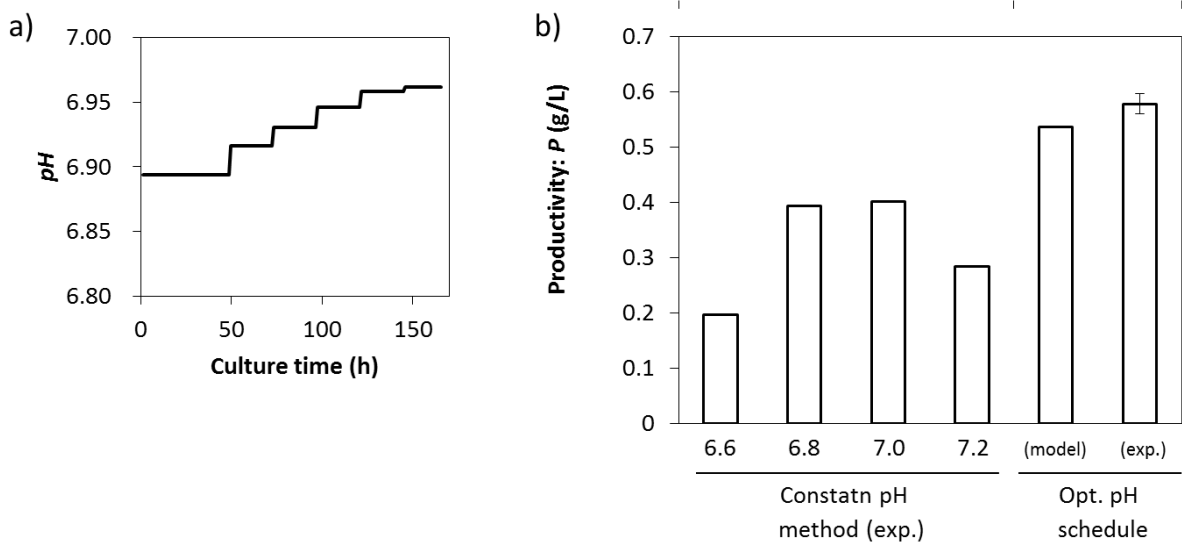


図 2. pH 条件最適化の結果. a) 計算された最適 pH 制御方法, b) pH 一定条件における抗体生産濃度と, 計算された最適 pH 制御を用いた場合の生産濃度. 最適 pH 制御は, シミュレーション推定値と実験結果をそれぞれ併記した.