

# 培地性能の最適化： サプリメントによるファインチューニング

J. Manwaring, K. Johnson, E. Garner, L. Wilkerson, and M. Wight

GE Healthcare, Logan, UT, USA

## 要約

フィード用の濃縮サプリメントはフェドバッチ培養戦略において不可欠な要素です。本ポスターでは、サプリメントの代替利用法について調べました。サプリメントは、浮遊細胞のバッチ培養用のベース培地の栄養価を高めるため、また接着細胞に必要な基礎培地中の血清濃度を低下させる血清補強剤として用いられてきました。種々なベース培地中で5~30% (v/v) の濃度範囲で、6種の市販されている細胞培養用サプリメントを調べました。CHO細胞、ハイブリドーマ、昆虫細胞、およびHEK293細胞などの細胞種を調査しました。サプリメントで強化されたベース培地のバッチ培養では、ピーク生細胞密度でコントロールの300%を上回る増加が見られました。

## 材料および方法

HyClone SFM4CHO-Utility, ADCF-MAb, SFM4Insect, SFM4HEK293などの培地を調査しました。調べたサプリメントは、6種類のHyClone Cell Boost製品 (CB1~6) です。製造メーカーの指示に従って、3.5% (w/v) の濃度でサプリメントを溶解し、0.2 μmのフィルターを通して過しました。細胞種として、CHO細胞株、SP2/0ハイブリドーマ誘導体、SF9昆虫細胞、HEK293細胞を使用しました。5~30% (v/v) の溶解したCell Boostサプリメントを培養時にベース培地に添加しました。コントロールは、サプリメントなしのベース培地のみとしました。125 mL振とう培養フラスコに入れた35 mLの培地にさまざまな細胞数の細胞株を播種し(図の説明文に記載)、培養を行いました。培養液を一定量、2日目から毎日回収し、トリパンブルー色素排除試験法によりVi-CELL自動細胞計数器(Beckman Coulter)で細胞数および生存率を測定しました。

ピーク生細胞密度を決定したのち、生存率が50%未満に低下するまで培養を継続しました。IMMUNO-TEK ヒトIgG ELISAキット(ZeptoMetrix, 米国)およびOctet QK 384システム(Pall Corp.)上でProtein Aプローブを用いる生体分子間相互作用解析を用いて、CHO培養液のサンプルの生産(IgGベースのタンパク質)力価を調べました。

## 考察

Cell Boostサプリメントを添加した場合、評価した4種の細胞種/ベース培地の組合せのすべてで細胞増殖の増加が見られました。増加の程度は、細胞種およびベース培地の栄養成分量によって変化しました。最適なサプリメントおよびその最適濃度を決定するには、初期の用量調節試験が最適な方法であり、その試験により用量反応曲線を作成することができます。一般的に、このファインチューニングアプローチにより、ベースの培地をより最適な培地に変えることができます。

このバッチプロセスのアプローチは、フェドバッチ戦略に容易に適応させることができます。より高密度の細胞培養では、さらに多くのサプリメントをフィード添加することができます。以前の研究では、ベース培地の濃縮および複数のフィードの組合せにより、50%を超えるサプリメント濃度レベルを実現できました。

## 結果

結果は、サプリメント無添加のコントロールとの比較パーセントとして表示しています。各試験で観察されたピーク生細胞密度の最高値は、各図の説明文に記載しています。6種のCell Boost製品すべてが、SFM4CHO-Utility中のCHO生細胞密度を増加させ(図1)、サプリメント無添加のコントロールと比べて最大で375%の増加が見られました。同様に、ADCF-MAbにおいてもすべてのサプリメントがSP2/0細胞数を増加させましたが(図2)、SFM4CHO-Utilityほど増加程度は高くありませんでした(約200%)。この培地中ではサプリメント濃度をより高くすることで細胞増殖が阻害されました。

物流上の問題のため、6種のサプリメントのうち4種のみをSFM4Insect中のSF9細胞で試験しました(図3)。細胞の増加程度は高くなかったものの、有効な値を示しました(最大50%の増加)。図4は、SFM4HEK293中のHEK293細胞を検討した結果を示しています。この条件では、最も広範囲のサプリメント濃度をカバーし、わずかな増殖から増殖阻害に至るまで良好な用量反応曲線を示しました。ベース培地単独よりも300%を上回るピーク生細胞密度の増加が見られました。

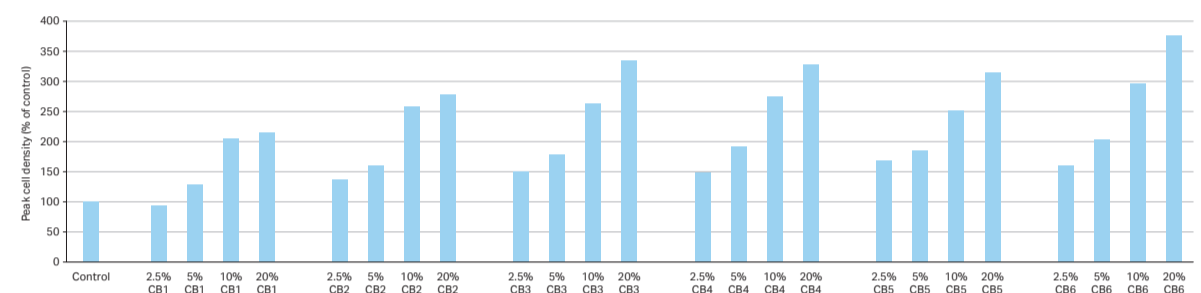


図1. SFM4CHO-Utilityにさまざまなサプリメントを添加した際に見られるピーク生細胞密度の増加。播種密度は $0.2 \times 10^6$  cells/mLでした。表示されているピーク生細胞密度の最大値は $8.4 \times 10^6$  cells/mLです。

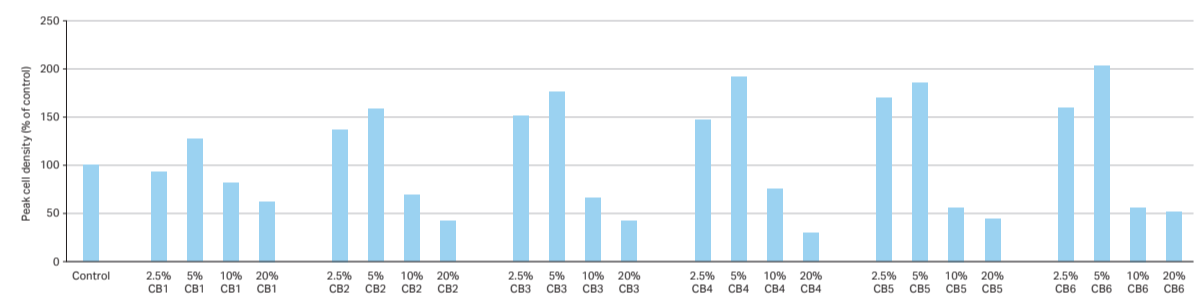


図2. ADCF-MAbにさまざまなサプリメントを添加した際に見られるピーク生細胞密度の増加。播種密度は $0.25 \times 10^6$  cells/mLでした。表示されているピーク生細胞密度の最大値は $4.5 \times 10^6$  cells/mLです。

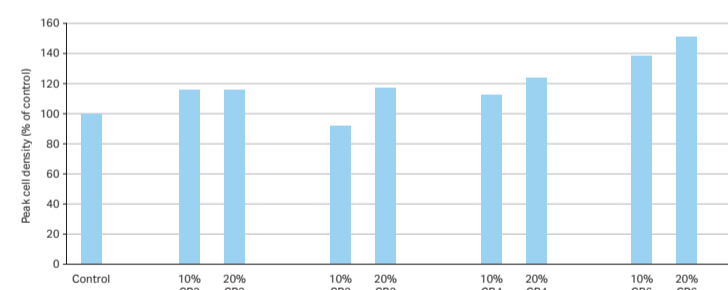


図3. SFM4Insectにさまざまなサプリメントを添加した際に見られるピーク生細胞密度の増加。播種密度は $0.75 \times 10^6$  cells/mLでした。表示されているピーク生細胞密度の最大値は $23.5 \times 10^6$  cells/mLです。

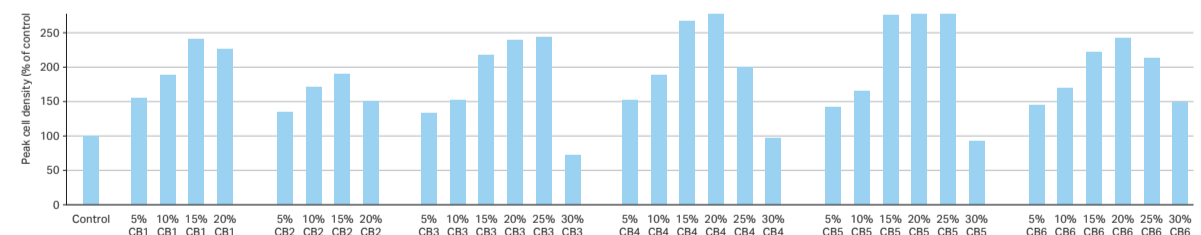


図4. SFM4HEK293にさまざまなサプリメントを添加した際に見られるピーク生細胞密度の増加。播種密度は $0.2 \times 10^6$  cells/mLでした。表示されているピーク生細胞密度の最大値は $13.5 \times 10^6$  cells/mLです。

※記載されている所属は、執筆/取材当時のものです。

Cytiva (サイティバ)

グローバルライフサイエンステクノロジー株式会社  
〒169-0073

東京都新宿区百人町3-25-1 サンケンビルディング

お問合せ: バイオダイレクトライン

TEL: 03-5331-9336 FAX: 03-5331-9370

e-mail: Tech-JP@cytiva.com



Intertek  
ISO 9001:2015  
認証取得

掲載されている内容および価格は2019年2月現在のものです。価格は希望小売価格(消費税は含まれておりません)であり、単なる参考価格のため、弊社販売代理店が自主的に設定する販売価格を何ら拘束するものではありません。掲載されている製品は試験研究用以外には使用しないでください。掲載されている内容は予告なく変更される場合がありますのであらかじめご了承ください。掲載されている社名や製品名は、各社の商標または登録商標です。お問合せに際してお客さまよりいただいた情報は、お客さまへの回答、弊社サービスの向上、弊社からのご連絡のために利用させていただく場合があります。