

日本医療研究開発機構
次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発事業
(国際競争力のある次世代抗体医薬品製造技術開発)
事後成果報告書

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 高性能国産細胞株を用いたバイオリジクス製造プラットフォーム構築に関する研究
開発)

(英語) Construction of manufacturing platform for biologics using Japan-made high
performance mammalian cell line

研究開発実施期間: 令和3年8月1日～令和8年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 大政 健史

(英語) Takeshi Omasa

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:

(日本語) 次世代バイオ医薬品製造技術研究組合・プロジェクトリーダー

(英語) Manufacturing Technology Association of Biologics (MAB)・Project leader

II 研究開発の概要

本研究全体の目的は、日本国内で開発されているバイオ医薬品シーズ（創薬シーズタンパク質）に対して、高性能国産細胞である CHO-MK 細胞を宿主細胞とする抗体製造プロセスの実証試験を実施して、堅牢な製造基盤として確立するための課題を検証し、抗体製造プラットフォームの実用化・一般化を推進することである。

CHO-MK 細胞は、本研究開発の実施機関である次世代バイオ医薬品製造技術研究組合の組合員所有の施設を用いて、本技術研究組合の有するチャイニーズハムスター卵巣(Chinese hamster ovary: CHO)細胞から新たに樹立した高生産／高増殖を実現可能な国産細胞株である。我々は目標実現のために、この CHO-MK 細胞株を用いて「(1) CHO-MK 細胞による抗体医薬品の国内製造拠点整備開発」を進め、更には組合員所有のモデル抗体産生細胞を用いた「(2) CHO-MK 細胞を用いた製造プラットフォーム技術の拡充」により、実際の産業レベルでの製造を見据えた 2,000L までスケールアップ可能な製造プロセスを構築すると共に、並行して「(3) 国産抗体医薬品シーズの製造実証研究」を進め、組合員所有のモデル抗体だけでなく、外部機関の創薬シーズの製造実証試験を実施した。各項目の開発結果は以下のとおりである。

(1) CHO-MK 細胞による抗体医薬品の国内製造拠点整備開発

まずは本課題に参画している製薬企業から技術移転先の CDMO へ CHO-MK 細胞の提供を行うための環境を整備し

た。次世代バイオ医薬品製造技術研究組合と参画製薬企業（組合員）の間で締結している「CHO-MK 細胞等の取扱規約に関する覚書」を改訂し、「試験委託目的で、第三者である試験受託機関に提供することが可能」及び「参画 CDMO についても、製薬企業と同等の義務を負うことを確認する」としたことで、参画 CDMO(組合員)に CHO-MK 細胞を提供することを可能とした。

本課題に参画している製薬企業は、CHO-MK 細胞によるモデル抗体を産生する preMCB を樹立し、これは 7 日間の培養期間で 5g/L の抗体生産を達成した。国内製造拠点整備開発を実施するため、この preMCB を前述の「CHO-MK 細胞等の取扱規約に関する覚書」を適用して CDMO(組合員)に提供した。提供を受けた CDMO(組合員)にて、新たに Cell Bank 生産体制を確立し、GMP MCB の製造を完了した。ここで完成した Cell Bank について、国内 CRO との協業によって純度試験を実施した。また技術移管に向けて、CDMO(組合員)にて製造設備の整備、SOP（標準作業要領書）等の文書整備、原材料の発注を完了した。同時に、技術移転元の製造プロセスに基づいて MBR (Master Batch Record) 等の GMP 関連文書を整備した。その後、技術移転された製造プロセスに基づき 2,000L スケール培養での製造実証試験を実施し、MBR 等の GMP 関連文書に記録した。培養データのうち、開示可能なデータを用いて従来の CHO 細胞と CHO-MK 細胞のスケールアップデータを比較し、優位性検証、関係者内共有、成果公表を行った。

(2) CHO-MK 細胞を用いた製造プラットフォーム技術の拡充

参画企業間の協業によって国際競争力のある国内製造インフラ構築を成し遂げることを目指し、CHO-MK 細胞で構築された細胞基材を使用する GMP 製造に向けての製造環境の整備、並びに製造概要書等の技術移転文書の整備を進めた。まずは製薬企業が確立した製造プロセス（培養・精製）、培養上清回収法の検討結果を反映させた製造プロセス概要書を製造サイトである CDMO（組合員）へ提供、共有し、プロセス図の作成、原材料リストの作成、長納期品の発注、機材の発注を円滑に行った。また作業手順書、マスターバッチレコードについても作成に着手した。初案は CDMO(組合員)で作成し、これを製薬企業で確認した。その後、集中研にて技術移転事項、2000L スケールの運転データ項目を確認し、以降の創薬シーズ開発に向けてプラットフォーム化する範囲の検討、及び方針を決定し、大容量スケール GMP 製造技術共通部分の集中研へのフィードバックを完了した。

また CHO-MK 細胞が国際的にも優位性があることを示すため、従来型の CHO 細胞、及び米国 NIST が配布する標準細胞 NISTCHO と宿主細胞由来タンパク質（HCP）及び内在性ウイルスの観点で比較し、優位性を示すデータを得た。まず、次世代バイオ医薬品製造技術研究組合モデル抗体ならびにアカデミア発の次世代抗体（二重特異性抗体、低分子抗体等）のクローン化した発現細胞株を構築し、SWATH-MS 法による精製抗体中ハイリスク HCP の測定に向けて、各細胞株由来検体の IDA 測定を実施した。得られたデータをもとに、イオンライブラリ構築に用いるアミノ酸配列データベースの比較検討を行った。また CHO-MK 細胞のウイルス安全性評価体制を構築するため、同細胞のゲノム配列と付随するウイルス様配列アノテーション情報、およびウイルスをスパイクインした細胞の RNA-Seq データを用いた解析を実施した。CHO-MK 細胞由来 RNA-Seq には含まれず、CHO-K1 または CHO-S 細胞由来 RNA-Seq に含まれるウイルス様配列の種類とリード数を整理した。さらに、CHO-K1 および CHO-MK 細胞の培養上清について透過型電子顕微鏡（TEM）観察を行い、ウイルス様粒子の探索を実施した。CHO-K1 細胞では 20 視野中 2 個のウイルス様粒子が確認されたのに対し、CHO-MK 細胞では観察されなかった。

従来型 CHO 細胞で開発した生産細胞構築技術を応用し、CHO-MK 細胞でのターゲットノックイン用細胞プラットフォームを作製した。あわせて、目的遺伝子の発現に人工転写因子を用いた人工プロモーターシステムを導入した細胞を作製した。また、深層学習による細胞機能判別のための AI システムを構築し、細胞同定や高生産細胞スクリーニングへの適用可能性を評価した。これらの技術により、CHO-MK 細胞の同定技術も確立することができた。

このほか、抗体医薬等のバイオ医薬品製造技術の動向調査を行い、本分野の国際的な最新研究開発動向における本課題成果の位置付けを確認した。

(3) 国産抗体医薬品シーズの製造実証研究

国産抗体医薬品シーズの製造実証研究として、「製薬企業から移転するプロセスの製造実証」を実施するにあたり、まずは CHO-MK 細胞の培養プラットフォーム構築に必要な各種装置（細胞構築に関する機器、培養装置、培養パラメーターおよび抗体評価のための分析機器）を集中研に設置し、整備した。並行して、上市予定の抗体医薬シーズを持つ3つの外部機関と CHO-MK 細胞の利用について交渉し、そのうち2機関（アカデミア）と CHO-MK 細胞の社会実装を目的とした共同研究契約を締結した。各創薬シーズの安定発現細胞プールを構築し、さらに発現細胞（preMCB）を完成させた。構築した細胞は、各アカデミア機関と試料提供契約を締結した後、研究用途に限定し提供した。

preMCB について、15～250mL スケールで安定的な高生産を達成する培養条件及び培地組成等を検討した。創薬シーズの製造プラットフォームの実用化・一般化を進めるためのデータ共有範囲の表を作成すると共に、創薬シーズを持つアカデミアと MTA（材料提供覚書）締結協議を進め、契約締結した。このシーズを発現する複数の発現細胞株クローンから、200L スケールの製造を行うシーズを選定して preMCB とした。集中研にて選定・構築したこの発現細胞株クローンについて、組合員分室にて初期の培養プロセス開発を行い、プロセス概要書の提供などによって CDMO（組合員）へ技術移管した。CDMO（組合員）にて 200L スケール実証培養実験を実施した結果、200L 培養設備においても、集中研と同等の培養結果が得られた。

国産細胞を用いたバイオリジクス製造プラットフォームの構築が実現できた。また国産の CHO-MK 細胞は、実際の GMP 製造にむけて十分な性能並びに実績を有することを示すことができた。

本研究開発により、国際競争力のある次世代抗体医薬品製造技術開発において、日本国内企業の協業によって社会実装可能なプラットフォームを提供できることが明らかになったことも大きな成果である。ここで構築されたプラットフォームは、我が国のみならず、世界からの様々な抗体シーズを受け入れることが可能であり、今後の抗体医薬品製造に向けて非常に重要な研究開発が実施できた。

Summary

The objective of this research project was to validate and establish a robust, practical therapeutic antibody manufacturing platform using CHO-MK cells, a high-performance Japan-made developed Chinese hamster ovary (CHO) cell line. Through demonstration studies of antibody production processes applied to drug discovery seeds developed in Japan, the project aimed to promote the practical implementation and generalization of a next-generation antibody manufacturing platform and to verify its suitability as a reliable manufacturing infrastructure for GMP production.

To achieve this goal, facilities owned by member companies of the Manufacturing Technology Association of Biopharmaceuticals (MAB Association) were utilized. The project advanced three major activities: (1) development of domestic antibody manufacturing hubs using CHO-MK cells, (2) expansion of manufacturing platform technologies based on CHO-MK cells, and (3) demonstration manufacturing studies for domestically developed antibody drug seeds. A key outcome was the successful construction of a practical, industrially applicable manufacturing process scalable up to 2,000 L. In Activity (1), systems were established to enable technology transfer of CHO-MK cells to CDMO. Participating pharmaceutical companies established high-productivity pre-master cell banks (preMCBs), achieving up to 5 g/L within seven days. GMP-compliant master cell banks were successfully manufactured at CDMO, supported by purity testing, preparation of SOPs, facility readiness, and GMP documentation including Master Batch Records. Demonstration manufacturing at the 2,000 L scale confirmed the robustness of the transferred process, and comparative analyses demonstrated performance advantages of CHO-MK cells over conventional CHO cell lines.

Activity (2) focused on expanding the CHO-MK-based manufacturing platform through collaborative development among participating organizations. GMP manufacturing environments and technology transfer documentation were prepared,

enabling smooth process implementation at CDMO site. Advanced analytical studies, including SWATH-MS-based host cell protein (HCP) profiling, were conducted using model antibodies and next-generation antibody formats such as bispecific antibodies. Viral safety evaluations using genome and RNA-Seq analyses, as well as transmission electron microscopy, demonstrated a favorable safety profile for CHO-MK cells compared with conventional CHO lines and reference cell lines such as NISTCHO. In addition, new cell engineering platforms, artificial promoter systems, and deep-learning-based AI tools for cell identification and high-producer screening were developed, further enhancing platform versatility.

In Activity (3), demonstration manufacturing studies were conducted for domestically developed antibody drug seeds, including those originating from academia. Stable expression cell lines were constructed, shared under appropriate agreements, and evaluated across scales from small volumes to 200 L. Technology transfer among multiple facilities was successfully executed, and 200 L-scale cultivation achieved performance equivalent to that observed in smaller-scale development settings.

Overall, the project demonstrated the superiority and practical applicability of the domestically developed CHO-MK cell line. It established that CHO-MK cells possess sufficient performance, safety, and manufacturing track record to support GMP production. The research clarified the feasibility of a socially implementable, internationally competitive antibody manufacturing platform capable of supporting a broad range of domestic and global antibody drug discovery seeds.