



Increased recombinant protein production owing to expanded opportunities for vector integration in high chromosome number Chinese hamster ovary cells

染色体数の多いCHO細胞におけるベクター挿入箇所の増加による
組換えタンパク質生産の向上

(JBB, Vol. 122, No. 2, 226-231, 2016)

山野 範子¹・高橋 舞²・Seyed Mohammad Ali Haghparast³
鬼塚 正義⁴・隈元 信貴⁵・Jana Frank⁶・大政 健史*

Chinese hamster ovary (CHO) 細胞は、バイオ医薬品生産を司る主要な宿主細胞である。これまでに当研究室では、CHO-DG44由来細胞株からゲノム bacterial artificial chromosome (BAC) ライブラリーを作製し、BAC-fluorescence *in situ* hybridization (FISH) 法と組み合わせることにより、産業利用されている主なCHO細胞株であるCHO-DG44、および、CHO-K1の核型を、チャイニーズハムスターゲノムと比較してきた。そしてそれらの比較から、CHO細胞の染色体が複雑に組み換わっており、染色体不安定性を持つことを明らかにした^{1,2)}。本論文では、染色体不安定性の中でも、世界で初めてCHO細胞の染色体異数性に着目して行った研究結果を報告している。

組換えタンパク質を生産するCHO細胞を構築するには、一般的に、組換えタンパク質の発現ベクターを細胞に導入後、薬剤選択を行ったヘテロセルプールから単一クローンの選抜を行い、抗体分泌量を指標に高生産細胞を選択する。これまでの結果より、限界希釈により得たシングルセル由来の培養上清中に含まれる抗体量を測定すると、抗体濃度の高いものから低いものまで、幅広い分布が得られる。この分布が何に起因するのかを明らかにすることは、より高生産な細胞株を効率よく樹立するための道標となると考えられる。

筆者らは、染色体数の違いに着目し、18本、19本、20本、30本以上の異なる染色体数の細胞をhGM-CSF生産CHO-DG44細胞から単離したところ、染色体数が30本以上の細胞において、高い比生産速度を示すこと

を明らかにした。発現ベクターの挿入をFISH解析により確認すると、染色体数が30本以上の細胞では、ベクター導入箇所が増加していることが示された。しかし、ベクター導入の後にベクター挿入部位を含めた染色体数が増加したのか、染色体数の多い細胞にベクターが複数箇所導入されたのかについては不明であった。そこで次に、組換えタンパク質を生産しないCHO-DG44細胞から、染色体数が20本と39本の細胞を単離し、抗体(IgG3)発現ベクターを導入する実験を行った。その結果、染色体数が39本の細胞を宿主細胞とすると、20本の細胞を宿主とするよりも、高い抗体濃度と比生産速度を得た。また、染色体数39本の細胞を宿主とした細胞の半数で、ベクター導入箇所の増加が認められた。

本論文ではまた、染色体数が30本以上のCHO細胞は、少なくとも3か月にわたってその高染色体数を維持するものの、20本前後のものと比較すると染色体数の増減が起りやすく、核型が変化しやすいことを示している。現在は、1-10番、また、X染色体の各染色体の安定性の違いについての解析を行い、より安定な染色体にベクターを導入する試みを行っている。それらの検討により、長期間の安定的な発現が保証されれば、積極的に異数性細胞を利用することが、CHO細胞を用いた組換えタンパク質生産における今後の選択肢の一つと成ると期待される。

- 1) Omasa, T. *et al.*: *Biotechnol. Bioeng.*, **104**, 986 (2009).
- 2) Cao, Y. *et al.*: *Biotechnol. Bioeng.*, **109**, 1357 (2012).

* 著者紹介 大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻 (教授) E-mail: omasa@bio.eng.osaka-u.ac.jp

¹ 徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部 (特任助教), 現・次世代バイオ医薬品製造技術研究組合 (主任研究員), 大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻 (特任助教)

² 徳島大学大学院先端技術科学教育部 (修士課程学生), 現・大塚製薬株式会社

³ 大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻 (修士課程学生), 現・京都大学

⁴ 徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部 (特任助教), 現・徳島大学大学院社会産業理工学研究部 (助教)

⁵ 徳島大学大学院先端技術科学教育部 (修士課程学生), 現・沢井製薬株式会社

⁶ 徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部 (研究員), 現・大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻 (特任助教)