



BioJapan 2025

# CHO-MK細胞の研究開発・社会実装の最先端

2025.10.10

Chitose Laboratory Corp.

# CHO-MK細胞の新規樹立に関する論文

- CHO-MK細胞の樹立に関する論文が、Journal of Bioscience and Bioengineering誌に発表されました。
- 第一三共の増田博士、ちとせ研究所の窪田みち氏の両名が筆頭著者、大政先生が責任著者の論文です。
- 2025年度の生物工学論文賞を受賞したことで、現在、数か月間限定でフリーアクセスで閲覧できます。
- 本論文には、200LスケールのFed-batch培養における高い抗体生産性を示すデータが掲載されています。

## Establishment of a novel cell line, CHO-MK, derived from Chinese hamster ovary tissues for biologics manufacturing

Kenji Masuda,<sup>1,2,†</sup> Michi Kubota,<sup>2,3,†</sup> Yuto Nakazawa,<sup>1</sup> Chigusa Iwama,<sup>2,3</sup> Kazuhiko Watanabe,<sup>1</sup>  
Naoto Ishikawa,<sup>1</sup> Yumiko Tanabe,<sup>1</sup> Satoru Kono,<sup>1</sup> Hiroki Tanemura,<sup>1</sup> Shinichi Takahashi,<sup>1</sup>  
Tomohiro Makino,<sup>1</sup> Takeshi Okumura,<sup>1,2</sup> Takayuki Horiuchi,<sup>3</sup> Koichi Nonaka,<sup>1,2</sup> Sei Murakami,<sup>2</sup>  
Masamichi Kamihira,<sup>2,4</sup> and Takeshi Omasa<sup>2,5,\*</sup>

*Biologics Division, Biologics Technology Research Laboratories I, Daiichi Sankyo Co., Ltd., 2716-1 Kurakake, Akaiwa, Chiyoda-machi, Gunma 370-0503, Japan,<sup>1</sup> Manufacturing Technology Association of Biologics, 2-6-16 Shinkawa, Chuo-ku, Tokyo 104-0033, Japan,<sup>2</sup> Chitose Laboratory Corp., KSP EAST511, 3-2-1 Sakado, Takatsu-ku, Kawasaki, Kanagawa 213-0012, Japan,<sup>3</sup> Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Kyushu University, 744 Motoooka, Nishi-ku, Fukuoka 819-0395, Japan,<sup>4</sup> and Department of Biotechnology, Graduate School of Engineering, Osaka University, 2-1 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan<sup>5</sup>*

Received 7 December 2023; accepted 18 February 2024

Journal of Bioscience and Bioengineering Volume 137, Issue 6, June 2024, Pages 471-479

Download here: [10.1016/j.jbiosc.2024.02.005](https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2024.02.005)

# CHO-MK細胞の樹立とホストセルバンクの作製

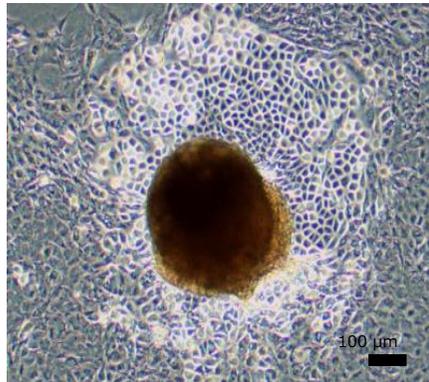
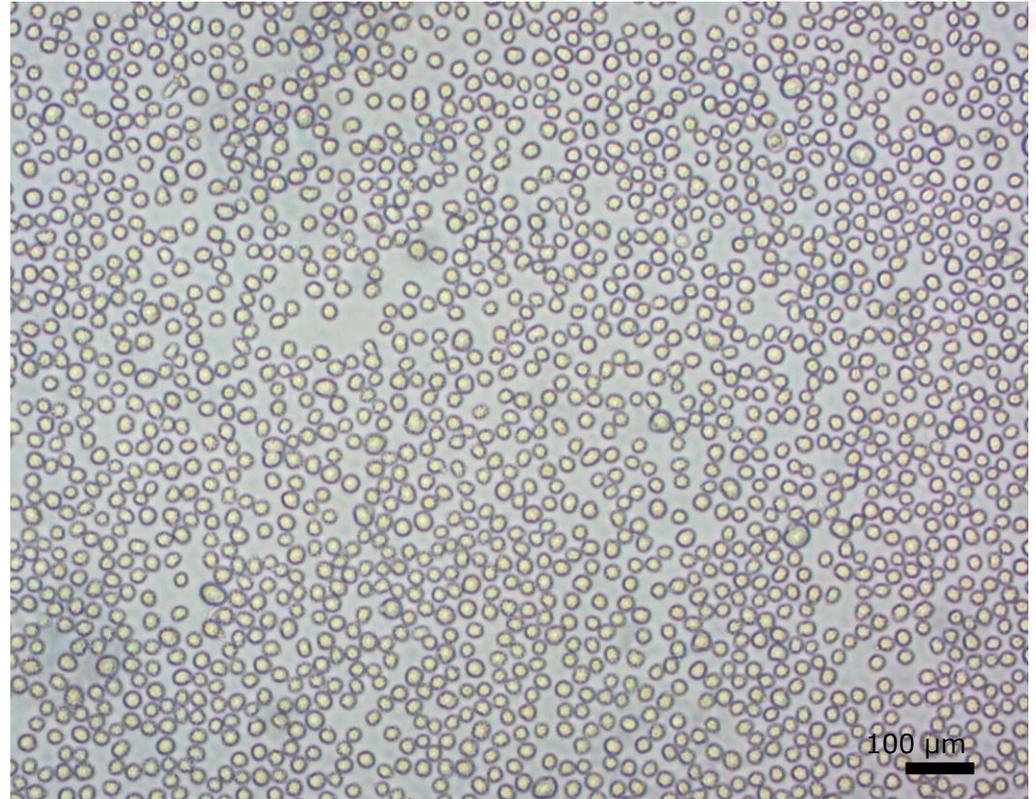
チャイニーズハムスター♀



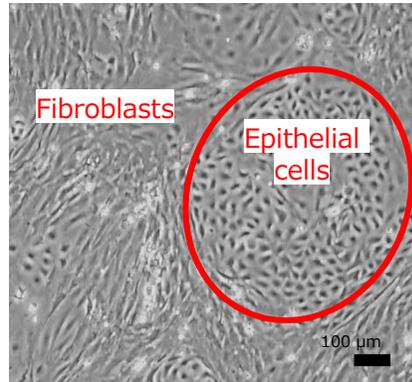
摘出した卵巣



無血清浮遊化したホストセルバンク



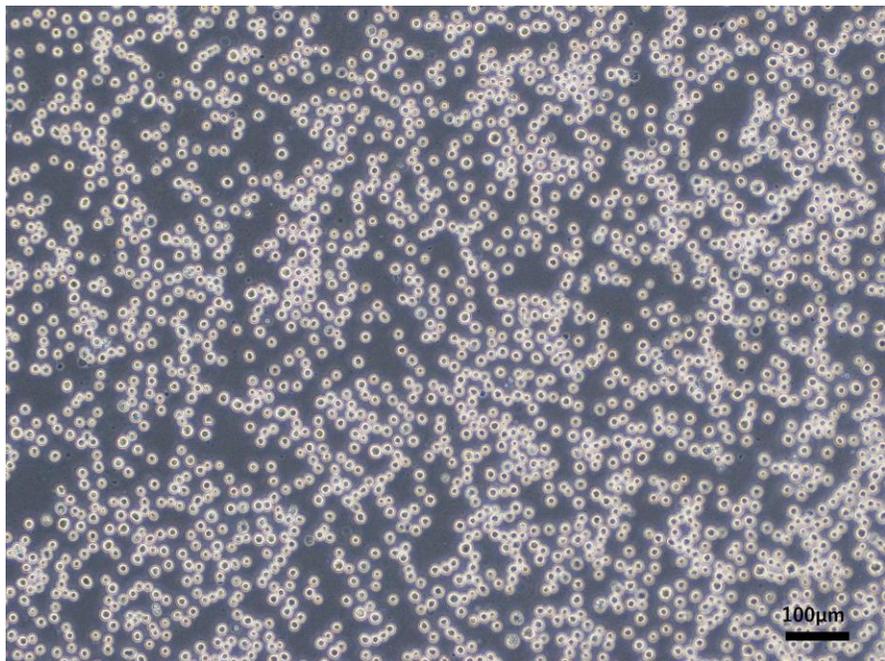
組織片からの初代培養



上皮様細胞の不死化

CHO-MK細胞は、AMED課題番号「JP18ae0101054」の支援のもと、次世代バイオ医薬品製造技術研究組合で行われた開発の成果です。

# 医薬品製造用のホストセルバンクとして整備



- ✓ 完全無血清培地に馴化したCHO細胞
- ✓ 凝集性がきわめて低い浮遊細胞
- ✓ PDL管理したホストセルバンクとして凍結保存
- ✓ 使用した原材料に関するCoA/CoOを含む関連資料の保管
- ✓ ホストセルバンク構築までの培養履歴
- ✓ 細胞特性を詳述したCoAを添付

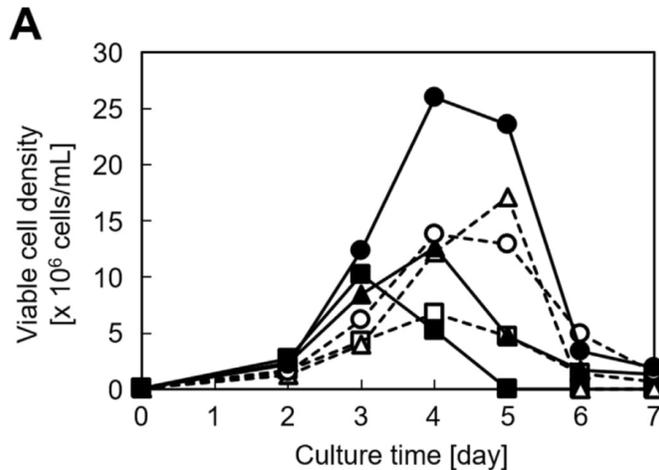
## ✓ ウイルス汚染に関する安全性試験を通過

Assay Number	Assay Name	Result
020000GMP.BUK	Cell Growth and Sample Preparation (GMP)	Pass
510635GMP.BUK	Sterility Testing by Direct Inoculation Method (EP, USP and JP) - pool, max 10 units	Pass
510636GMP.BUK	Qualification for sterility Testing by Direct Inoculation Method (EP, USP and JP)	Pass
102062GMP.BUK	Qualification of the Test Article for the Detection of Agar-Cultivable Mycoplasma in accordance with USP/EP/PTC Requirements (Without Avian Controls)	Pass
102063GMP.BUK	Test for the presence of Agar-cultivable and Non Agar-cultivable Mycoplasma (USP, EP, 1993 PTC) (without Avian Controls)	Pass
003004GMP.BUK	28 Day In vitro Assay for the Detection of Viral Contaminants - 4 Detector Cell Lines	Pass
005051GMP.BUK	In vivo assay - using suckling, mice, adult mice & eggs	Pass
150107GMP.BUK	Subcontract Quantitative transmission electron microscopy of sections for the detection of viruses, fungi, yeasts, bacteria and mycoplasmas (200 cell profiles).	Not found
108601GMP.BUK	CO1 Barcode Assay for Cell Line Identification	CHO
032930GMP.BUK	Detection of Viral Contaminants in Bovine Serum According to CPMP & US 9CFR Requirements, Also Meets EP Requirements as per the Tech Spec.	Pass

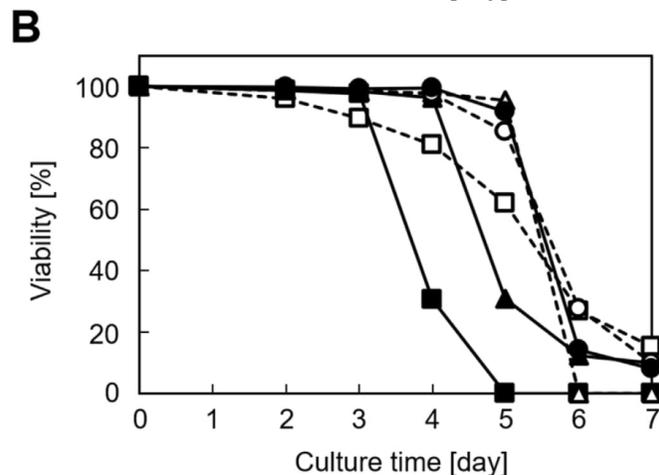
上記試験のほか10試験を含む Host Cell Bank testing package for CHO (バイオリライアンス社) をクリアしている (CoA完備)

# CHO-MK細胞の優れた増殖特性 (1/2)

- 冒頭で紹介した樹立に関する論文において、CHO-MK細胞の増殖性についての記載があります。
- CHO-MK細胞が増殖する際の倍加時間はおよそ10時間であり、他のCHO細胞と比較して非常に高い増殖特性を有することが示されています。



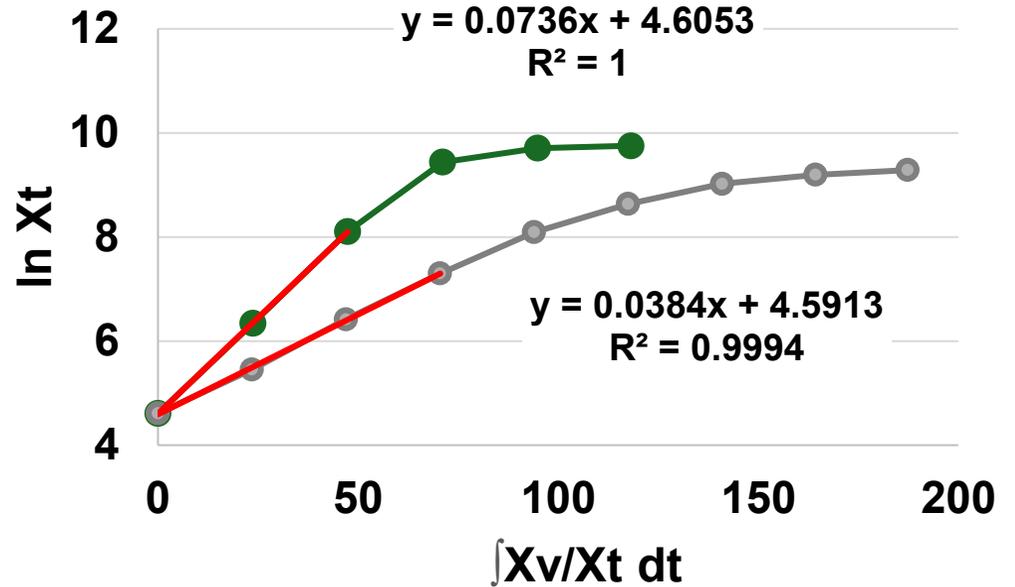
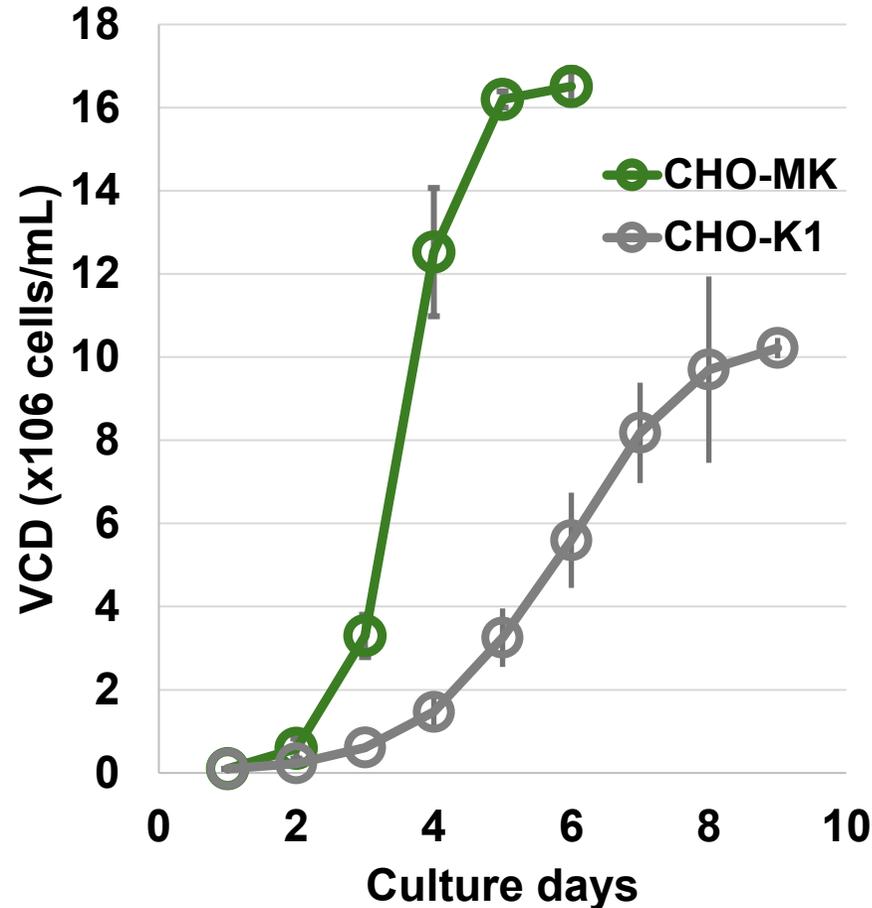
**Cell bank preparation and characterization of CHO-MK5 cells** We selected CHO-MK5 cells, which showed best growth among the series of CHO-MK cell lines, for further studies. CHO-MK5 cells were continuously cultured to reach PDL157 and designated as CHO-MK5 PDL157. In addition, CHO-MK5 PDL157 continued to be cultured up to PDL273 and the resulting cells were stored as a seed cell for preparing a host cell bank. Finally, a master host cell bank was prepared and designated CHO-MK5 PDL305. The doubling time of CHO-MK5 PDL305 was calculated to be approximately 10 h, which was much shorter than that of the conventional CHO cells.



CHO-MK細胞の倍加時間は、  
従来のCHO細胞と比較してかなり短く、  
およそ10時間ほどである。

# CHO-MK細胞の優れた増殖特性 (2/2)

- CHO-MK細胞とCHO-K1細胞の増殖性に関する比較データ (Shaken flaskを用いたBatch培養) を示します。
- 左のグラフでみられるように、CHO-MK細胞はより短い期間でよりピークトップに達します。
- グラフの傾きから比増殖速度と倍加時間を算出して右下表にまとめました。



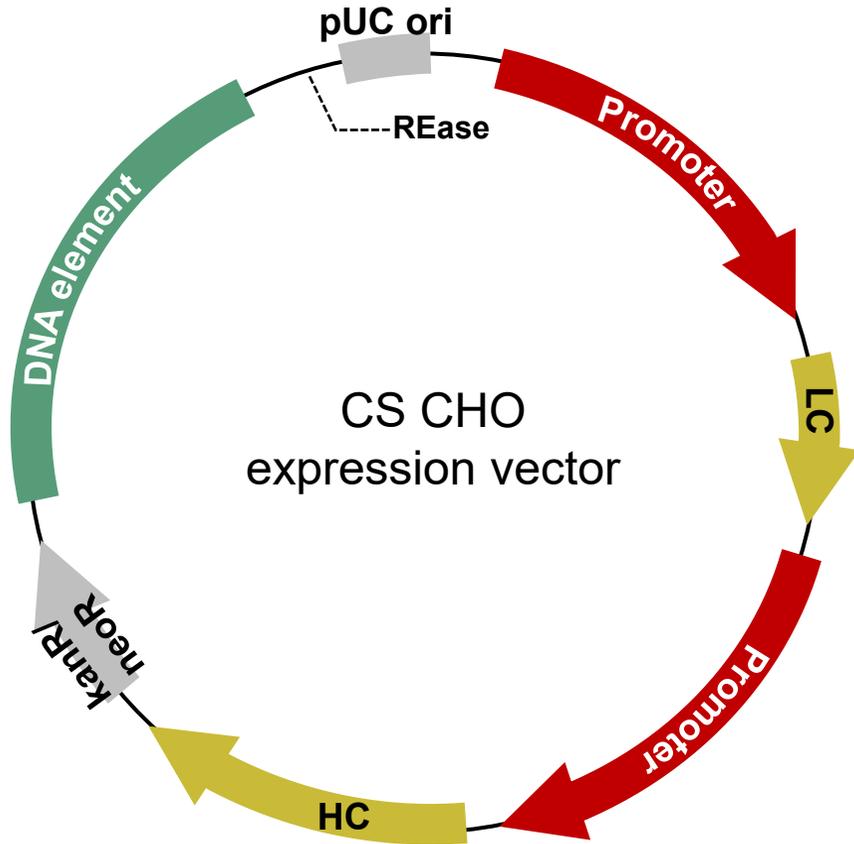
	CHO-MK	CHO-K1
Relative Growth Rate( $\mu$ )	0.074	0.038
Doubling time (hour)	<b>9.3</b>	18.5

# CHO-MK細胞を用いたCLD受託サービス



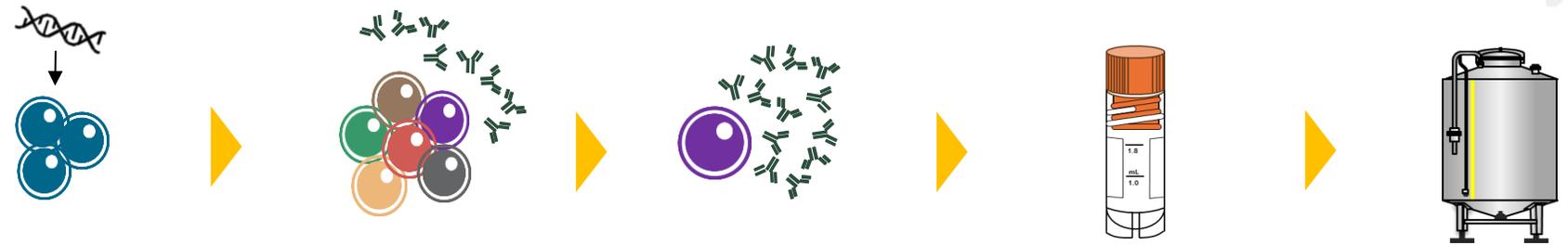
ちとせ研究所は、MAB組合の認定事業者として  
CHO-MK細胞を用いたCLD受託サービス事業をおこなっています。

# CS CHO expression vector system



- ✓ ちとせ独自の発現ベクターシステムであり、第三者の知財は用いておりません
- ✓ Geneticinを選択マーカースとするDual発現型のベクターです
- ✓ CHO-MK細胞で最適な発現が得られるようにプロモーターやシグナル配列を設計しています
- ✓ ベクターを直鎖化し、ランダムインテグレーションにより細胞染色体に挿入します

# Cell Line Development 受託サービスの概要



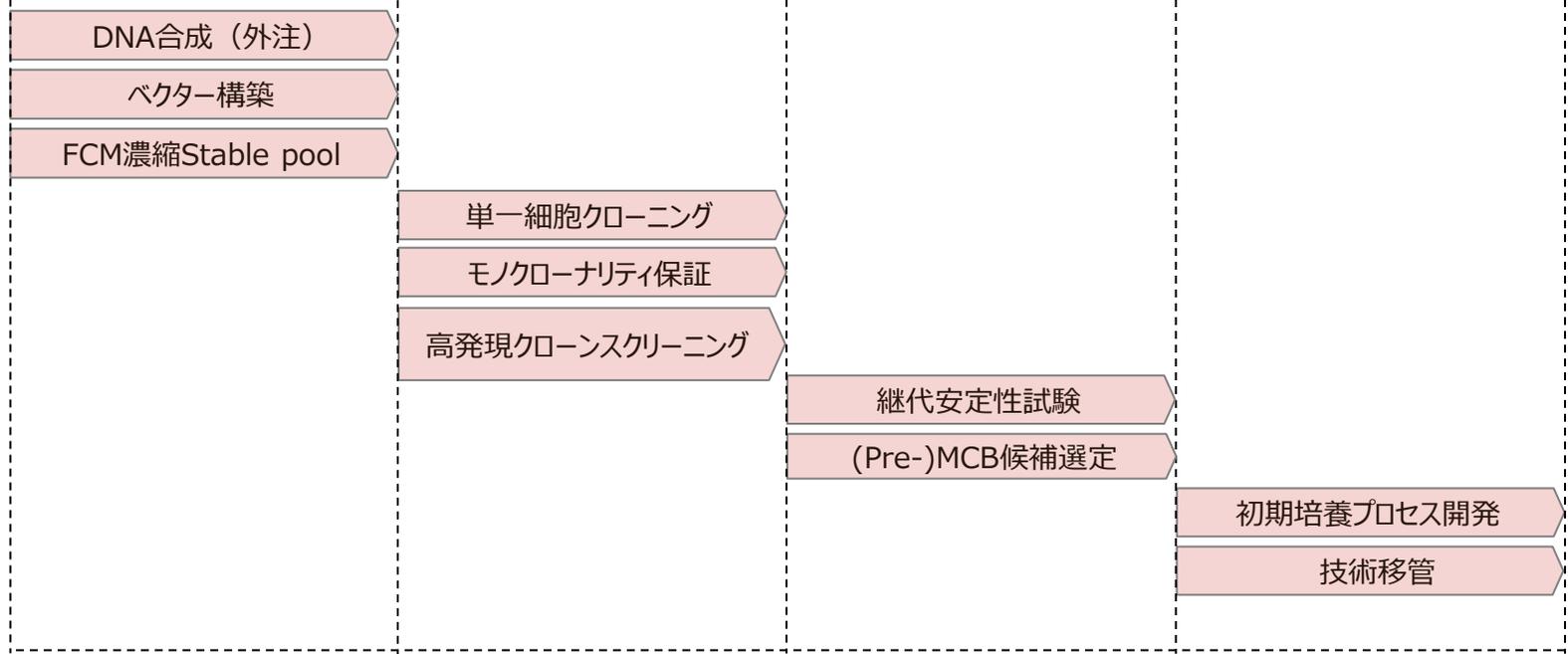
CHO-MK host cell  
CS™ CHO expression vector

Enrichment  
Stable pool

Single cell clone

(Pre-)MCB

CDMOへ



# Cell Line Development プラットフォームの工程表



工程		期間 (週)																														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
	発現ベクター構築	遺伝子設計・合成	■	■	■																											
		クローニング/線状化・精製			■	■																										
1	Stable pool作製	起眠・回復培養/ベクター導入			■																											
		薬剤選択/FCM濃縮				■	■	■	■	■	■																					
		フェドバッチ培養評価							■	■	■	■																				
		シングルセルクローニング							■	■	■	■	■																			
2	RCB作製	クローナリティ担保						■	■	■	■	■																				
		バッチ培養評価											■	■																		
		フェドバッチ培養評価													■	■	■															
		継代安定性試験																	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■				
3	Pre-MCB作製	Pre-MCB選定試験																									■	■	■	■		
		Pre-MCB作製																													■	■

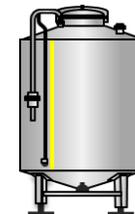
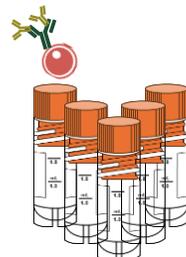
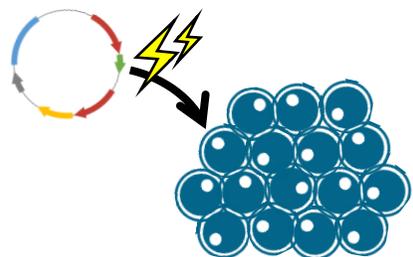
# Speedy プラットフォームの概要



ベクター構築  
~Clone

モノクローナリティ  
~(Pre-)MCB

初期培養プロセス開発  
純度試験・特性解析



CHO-MK host cell  
CS CHO™ expression vector

Clone

Pre-MCB

製造

DNA合成 (外注)

ベクター構築

Clone作製

ステابلプールを作製せず、  
高発現クローンを  
スクリーニングする方法の確立

高生産性クローンの迅速な  
スクリーニング方法の確立  
(特許出願中)

単一細胞クローニング

モノクローナリティ

Pre-MCB作製

高安定性クローンの迅速な  
スクリーニング方法の確立  
(特許出願中)

Pre-MCB特性解析

初期培養プロセス開発

技術移管

# Speedy プラットフォームの工程表



工程		期間 (週)												
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
発現ベクター構築	DNA合成													
	クローニング/線状化・精製				■	■								
Clone作製	トランスフェクション					■								
	FCMスクリーニング					■	■	■						
	高生産性クローン選定 (特許出願中)							■	■					
Pre-MCB作製	シングルセルクローニング							■	■	■	■	■		
	クローナリティ担保							■	■	■	■	■		
	高安定性クローン選定 (特許出願中)											■	■	
	Pre-MCB作製												■	■

# 関係企業との連携構築によるトータルサービスのご提供



製薬（試薬・診断薬）企業

培地メーカー

CROs

CS CHO  
Cell Line Dev.

サプライヤー企業

CDMOs

# CHO-MK細胞のための専用培地

- 富士フィルム和光純薬株式会社の研究チームが、CHO-MK細胞に関する論文（Saeki et al., 2025）を発表しました。
- 2Lスケールのバイオリアクターを用いたFed-batch培養試験において、わずか7日間の培養で12.6 g/Lもの抗体を産生することに成功しています。

Cytotechnology (2025) 77:1

ARTICLE

## Enhancing monoclonal antibody production efficiency using CHO-MK cells and specific media in a conventional fed-batch culture

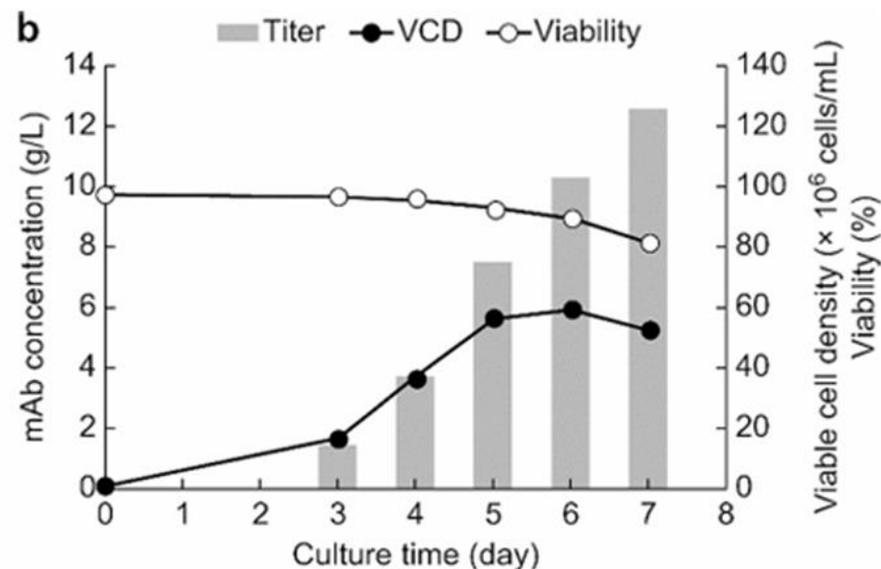
Hisashi Saeki<sup>1</sup> · Kaori Fueki<sup>1</sup> · Naoki Maeda<sup>1</sup>

Received: 19 June 2024 / Accepted: 3 November 2024  
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2024

### Abstract

Chinese hamster ovary (CHO) cell lines, derived as subclones from the original CHO cell line, are widely used hosts for current biopharmaceutical productions. Recently, a highly proliferative host cell line, CHO-MK, was established from the Chinese hamster ovary tissue. In this study, we assessed the fundamental culture characteristics and capabilities of CHO-MK cells for monoclonal antibody (mAb) production using specified chemically defined media. To achieve this, we established fed-batch cultures of model CHO-MK cells in shake flasks and ambr15 and 2 L bioreactors under various conditions. The mAb-producing CHO-MK cell line A produced 12.6 g/L of antibody within 7 days in the fed-batch culture using a 2 L bioreactor, with a seeding density of  $1 \times 10^6$  cells/mL. This performance corresponded to a space–time yield of 1.80 g/L/day, representing a productivity level that could be challengingly attained in fed-batch cultures using conventional CHO cells. In addition, when we subjected six different mAb-producing CHO-MK cell lines to fed-batch culture in the ambr15 bioreactor for 7 days, the antibody production ranged between 5.1 and 10.8 g/L, confirming that combining CHO-MK cells and specified media leads to enhanced versatility. These discoveries underscore that CHO-MK cells combined with specified media might represent a next-generation production platform, which could potentially respond to an increasing demand for antibody drugs, reducing production costs, and shortening antibody drug development times. This study is expected to serve as a benchmark for future production process development using CHO-MK cells.

**Keywords** CHO-MK · Fed-batch culture · Space–time yield · Chemically defined media · Monoclonal antibody production



Download here: <https://doi.org/10.1007/s10616-024-00669-4>

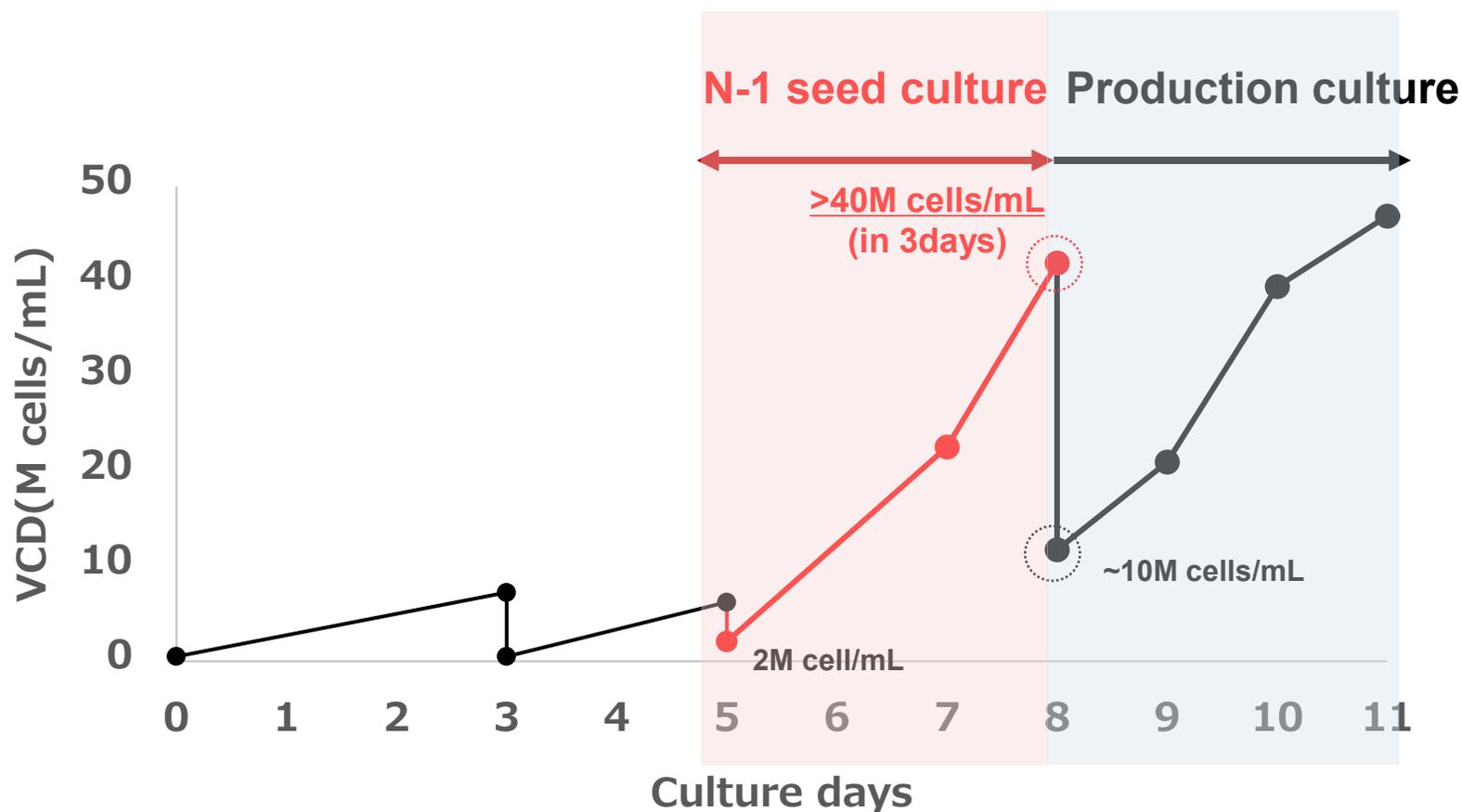
# CHO-MK細胞を用いたHigh-density Seeding培養



CHO-MK細胞の高い増殖性を活かして  
N-1 seed培養を簡略化した  
High-density seeding培養方法を提案します

# 高い増殖特性を活かした High-density seeding 生産培養1/2

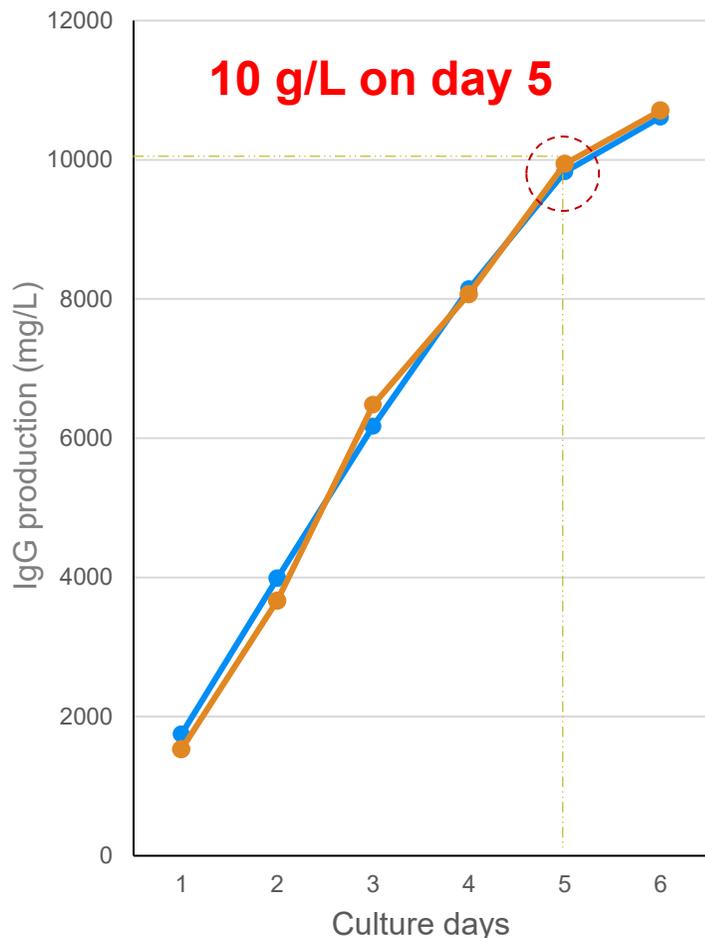
- High-density seeding 生産培養は、10M cells/mLの高い細胞密度で生産培養を開始する方法で、より短時間でより高濃度の抗体を生産することができるため、昨今注目されている培養方法です。しかしながら、前培養で高密度の細胞培養液を準備する必要があるため、難易度の高い培養方法でもあります。
- 我々は、CHO-MK細胞の高い増殖特性を活かすことで、わずか3日間の前培養で、40M cells/mLもの高密度な細胞培養液を準備することに成功しました。



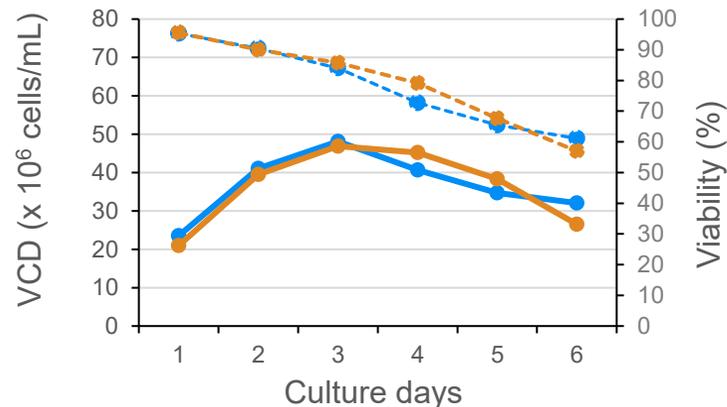
# 高い増殖特性を活かした High-density seeding 生産培養2/2

- バイオリクターを用いて、より最適化した High density seeding 生産培養 (Seed density 10M cells/mL) を行った結果、わずか5日間の培養期間で、10 g/Lもの抗体を産生することに成功した

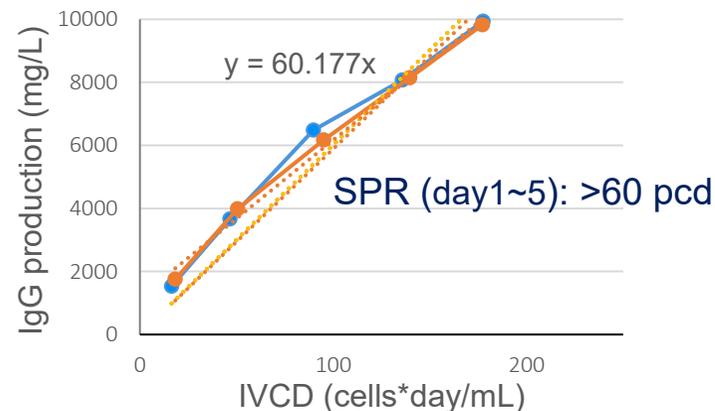
## Production



## VCD and Viability

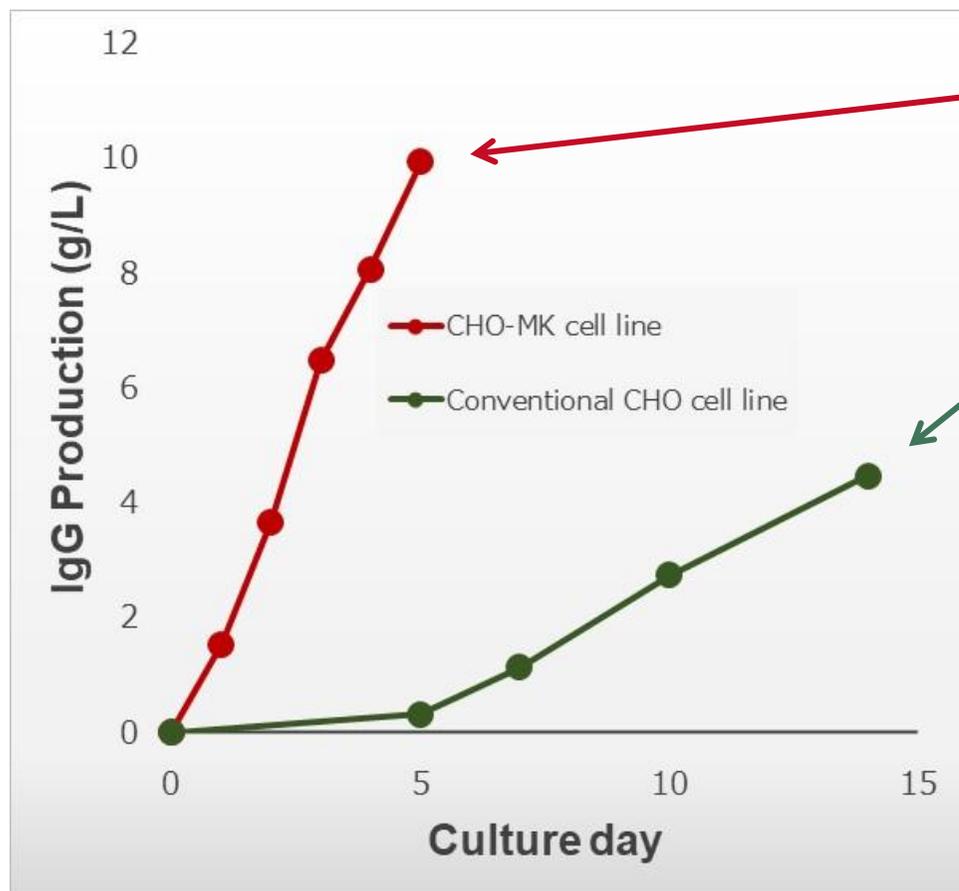


## SPR (pg/cell/day)



# CHO-MK細胞と従来のCHO細胞との生産性の比較

- CHO-MK細胞株は、従来のCHO細胞株に比べ、3分の1の培養期間で2倍以上の抗体産生量を達成します。



CHO-MK細胞株の抗体産生量

従来のCHO細胞の抗体産生量

CHO-MK細胞およびCHO-K1細胞で構築したIgG発現細胞クローンの抗体産生量の比較。2Lスケールのバイオリアクターを用いたFed-batch培養による。

# バイオ製造プロセスのトータルコストの比較

- バイオ製造プロセスのトータルコスト計算ソフトであるBiosolveを用いて、CHO-MK細胞とCHO-K1細胞の製造コストを比較した結果を示します。
- 資料は、富士フイルム和光純薬株式会社の許可を得て、使用しています。

**FUJIFILM**  
Value from Innovation

## Manufacturing Cost Analysis

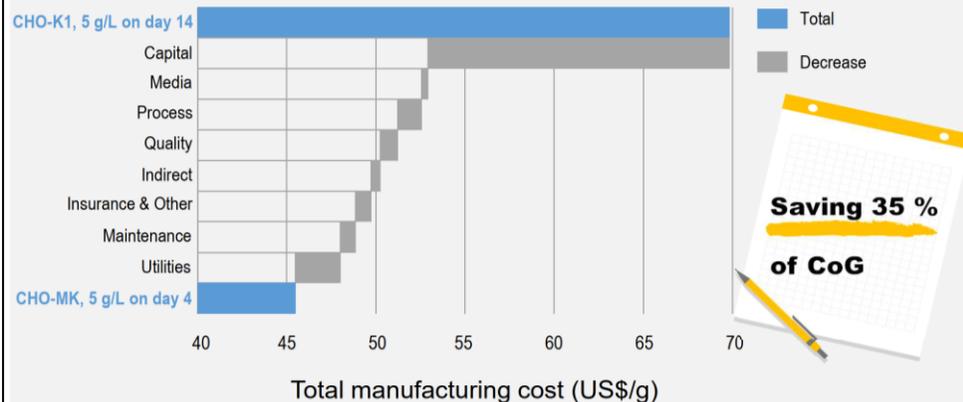
### Model input

- ・ 2 x 2,000L single-use bioreactors installed where 1 harvested per batch
- ・ 1 downstream train
- ・ Use BioSolve\*'s standard cost except culture media

	Scenario 1	Scenario 2	Scenario 3	Scenario 4
Host	CHO-K1	CHO-MK	BioPharm standard	CHO-MK
Product titer	5 g/L	5 g/L	5 g/L	6.5 g/L
Harvest duration	Day 14	Day 4	Day 16	Day 7

### Results

	Scenario 1	Scenario 2	Scenario 3	Scenario 4
Host	CHO-K1	CHO-MK	BioPharm Standard	CHO-MK
Product titer	5 g/L	5 g/L	5 g/L	6.5 g/L
Harvest duration	Day 14	Day 4	Day 16	Day 7
CoG savings (Relative to Scenario 1)	100%	65%	103%	64%



\*Biosolve

Software which calculates total cost of bio manufacturing process was developed by Biopharm Services, which was founded in England to provide technical information on bio manufacturing process in 1998.

Modified from FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation document (2023), with permission



**ご清聴いただきまして、ありがとうございました。**

**堀内 貴之**

**E-mail : [takayuki.horiuchi@chitose-bio.com](mailto:takayuki.horiuchi@chitose-bio.com)**

株式会社ちとせ研究所  
〒213-0012 神奈川県川崎市高津区坂戸3-2-1 KSP R&D棟C432