

バイオ医薬品用のセルライン構築のために開発された画期的な製品

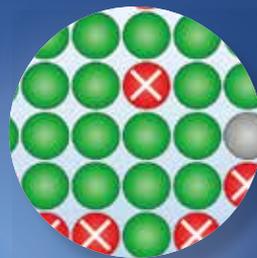
# VIPS & Cell Metric CLD

単一細胞の高効率播種とクローナリティを補強する  
アシュアランスデータの作成・規制当局向けの文書作成で  
これまでのワークフローを劇的に改善します

単一細胞の播種



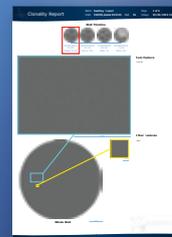
効率良くプレートへ播種



アシュアランスデータの高速取得



細胞生育のトラッキングと  
規制当局向けの文書作成



# クローナリティの重要性

新規バイオ医薬品やバイオシミラーの開発のためには安定発現株の構築が必要です。クローナリティの評価は、その過程において依然として重要な要素を占めています。

クローナリティが重要視される理由は現在のところ、以下の2点に基づいています：

- 規制当局 (FDAやEMAなど) からの要求
- 科学的な見地からの妥当性

## 規制当局からの要求

これは医薬品開発企業・組織における重大な懸念事項であり、FDAやEMAを含む各国の規制当局によって行われるものです。IND (Investigational New Drug application) のプロセスの一部としてクローナリティを示す文書の作成が奨励されているだけでなく、BLA (生物製剤承認申請) 時まで実施をすることが要求されています。

*“It is expected that clonal cell lines are developed as referenced by ICH Q5D and EMA/CHMP”*

Rachel Novak, US FDA, Jan 2017\*\*

## 科学的な見地からの妥当性

### 製品の品質と均質性

*“Assurance of production cell bank clonality ensures consistency of product quality and process performance throughout the lifecycle of a product” Rashmi Rawat, FDA, Apr 2016\**

### 下流のプロセスへの影響

*“To minimise the heterogeneity within the master cell bank (MCB) to allow for a consistent manufacture of a product” Rachel Novak, US FDA, Jan 2017\*\**

## クローナリティにおけるプロバビリティ (Probability) とアシュアランス (Assurance) とは

プロバビリティ (数学的な確率) は、規制当局がクローナリティの評価において依然として重要であると考えている要素の1つです。これまでプロバビリティは主に理論上の計算 (例: 限界希釈法の場合はポワソン分布、フローサイトメトリーによる播種方法の場合は単一細胞になる確率を調べた予備実験からの予測) に基づいていました。

近年、規制当局はクローナリティの補強データとしてプロバビリティと共にアシュアランスのデータを添付しても良い、という声明を出しています。代表的なアシュアランスのデータとしてウェル全体の画像の撮影が広く受け入れられています。

\* Rashmi Rawat presentation: Regulatory Consideration for the Biotechnology Products: Clonality of the Production Cell Bank. April 2017, Informa Conference, Vienna, Austria.

\*\*Rachel Novak presentation: Regulatory Perspective on the Evaluation of Clonality of Mammalian Cell Banks. January 2017, WCBP Conference, Washington, USA

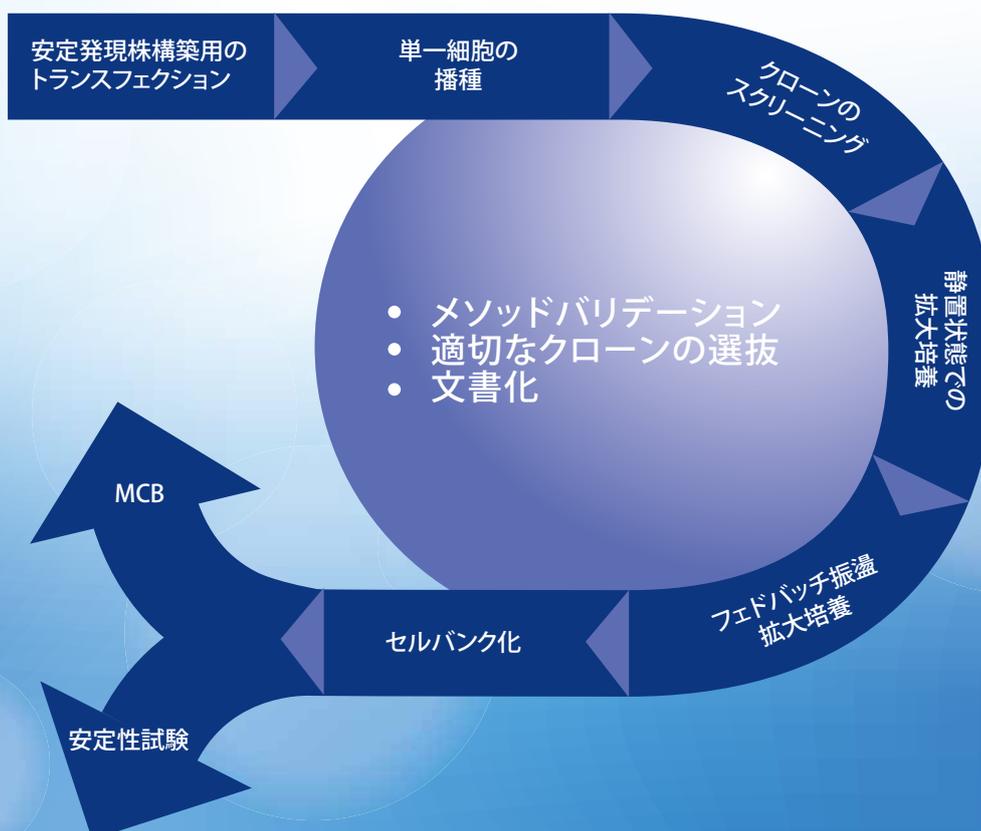
## セルライン構築のワークフロー

近年、セルライン構築 (Cell Line Development: CLD) のワークフローは劇的に変化しました。その理由はボトルネックが解消され、プロセスが改良されたためです。セルライン構築に特化したウェル全体を撮影できるイメージングシステムの出現により、サブクロニングの必要性が完全に無くなりました。加えて、正確な遺伝子編集技術が利用できるようになり、より少ないクローン数でのスクリーニングが可能になりました。現在では1つのプロジェクトを4,000クローン(384ウェルプレート換算で約10枚)以下で完結させることが可能になりつつあります。

従来のセルライン構築では、様々な機器を駆使しワークフローの各作業こなしていました。これらの機器は本来別のアプリケーション用に開発されたものが多く、セルライン構築に使用した場合、使い勝手やデータ品質などに問題がありました。更に、各装置からのデータは形式がバラバラで、それぞれを関連付けて管理することは困難でした。

そのため、セルライン構築に特化したこれまでに無いような統合型のシステムに対するニーズが高まってきています。そのようなシステムで得られたデータは連続性と統合性を担保するだけでなく、全体のワークフローの効率を目に見えて改善することが期待されています。

### ワークフロー



# 単一細胞播種のスペシャリスト VIPS™の登場です

Solentimは高効率で単一細胞播種が可能なシステムVIPS (Verified *In-situ* Plate Seeding)を開発しました。VIPSはマルチウェルプレート内のウェルに単一細胞を播種した直後に、その中の細胞を画像により確認します。

VIPSは空のウェルに細胞を含む液滴を分注した後、画像を取得し、培地を添加します。



VIPS™システムは小型のベンチトップサイズの機器です。そのため、一般的な安全キャビネットの中に設置し、無菌状態を保つことが可能です。VIPS内部のパーツで細胞を含む培地溶液が触れるものは全て交換が可能です。また、それらを滅菌処理することも可能です。

VIPSは一般的なセルソーターとは異なり、SMART LD™と呼ばれる手法により単一細胞を穏やかに播種します。本機器は細胞を含む培地を入れたリザーバーから、プレート内の空ウェルの中心部分を目掛けて、1滴の液滴を分注します。その後、この液滴を明視野で撮影し、自動的に単一細胞の有無を検出します。

- 液滴の中に単一もしくは複数の細胞の存在が確認されると、自動的にウェルの中に培地が添加されます。
- 液滴の中に細胞の存在が確認できない場合、再度液滴の分注が行われ、一連の操作を繰り返します。処理は規定の回数まで実行されます。

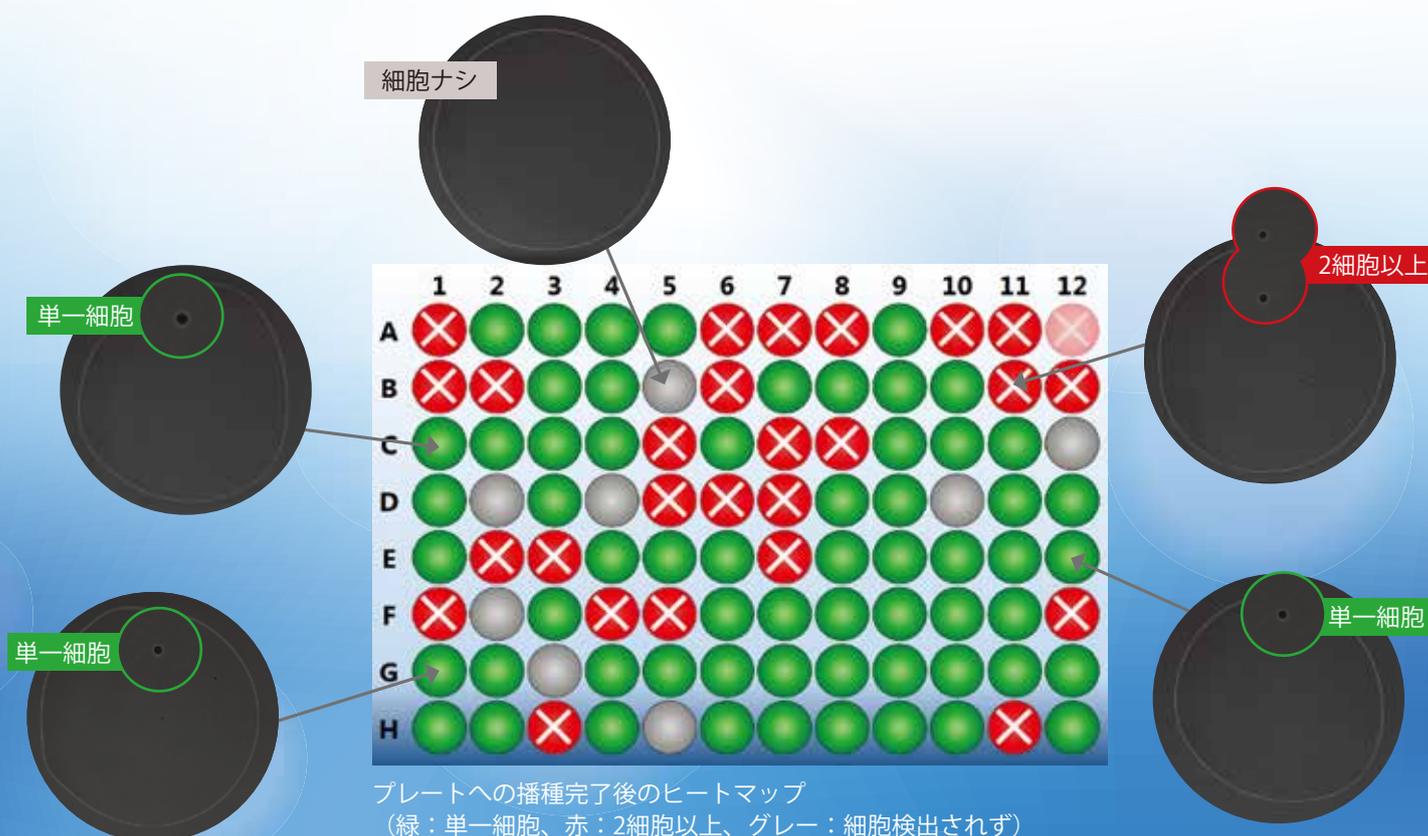
通常、96ウェルプレートへの単一細胞の播種は10分程で終わります。ソフトウェア上のプレートマップに細胞ナシ・単一細胞・2個以上のウェルであることを示す結果がリアルタイムで表示されます。

VIPSを使用すると、分注後の細胞を画像で確認できるため、既存方法と比較し、高いプロバビリティーで単一細胞を播種できます。

## メソッド バリデーション

どのようなクローン化手法であっても、バリデーションが可能であるということは非常に大事なことです。これは何枚かのプレートを測定して統計値を算出し、クローナリティーのプロバビリティーを計算することで実施可能です。

VIPSでは明視野の細胞だけでなく、蛍光ラベルした細胞を検出することもできます。ラベルした細胞を播種し、液滴の中に単一細胞が含まれていることを確認することができます。



# クローンのスクリーニングには シングルセルイメージャーCell Metric CLD

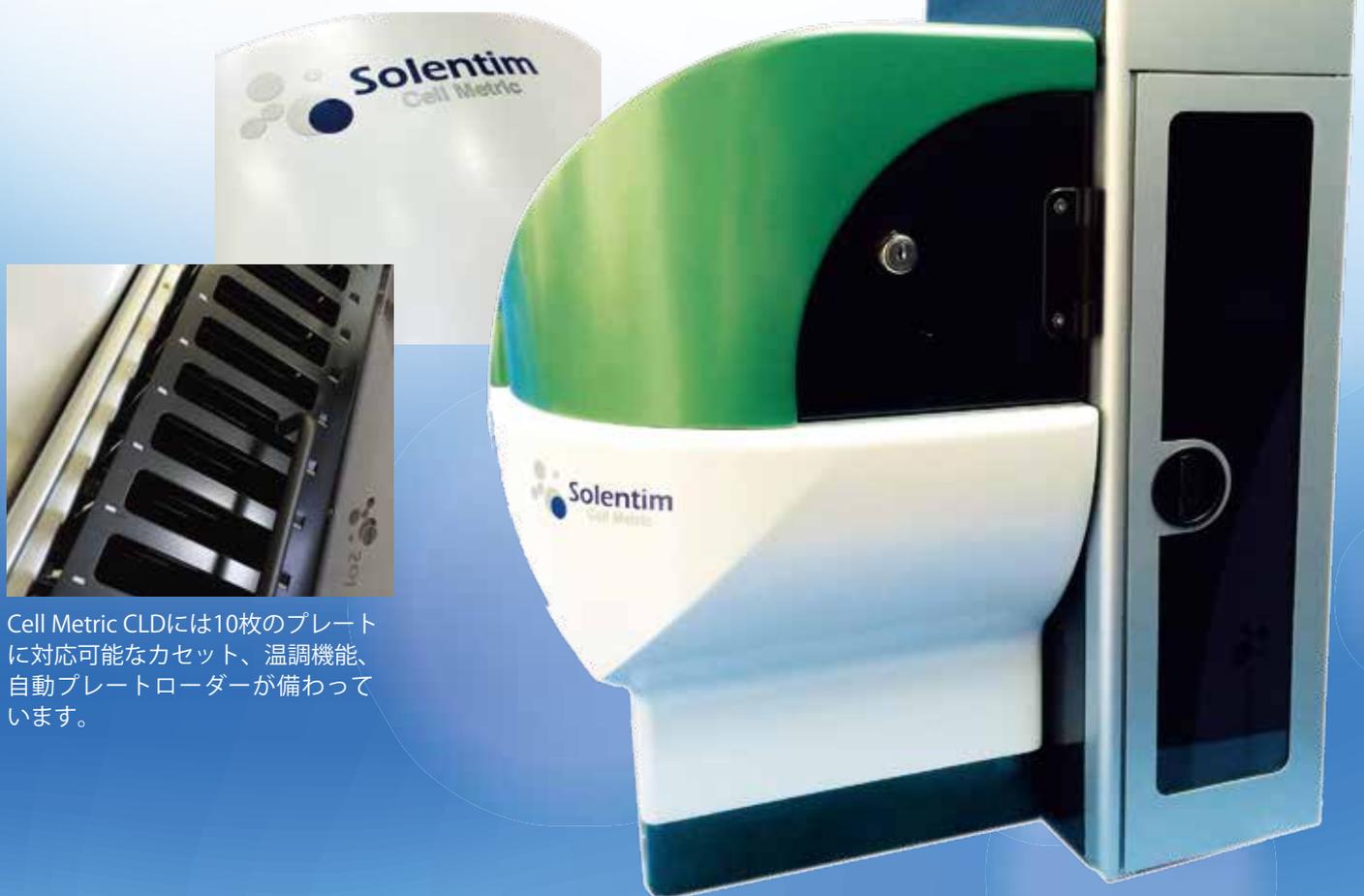
Cell Metricはクローナリティのアシュアランスデータを得るための要として働き、またコロニーの生育モニタリングが可能なイメージングシステムです。96ウェルや384ウェルプレートのスキャンは高速、かつシングルセルを判断できるほどの解像度で自動的に高コントラストのウェル全体の画像が撮影されます。実際に使用する場合は、細胞が播種されたプレートのDay 0の画像を得た後、定期的に撮影を実行します。全体の撮影期間は細胞種にも依りますが、10-21日間です。

Cell Metric CLDは世界トップ10の製薬企業の多く、またバイオ医薬品関連CRO/CDMOにて既にお使い頂いています。撮影される明視野の画像の品質は非常に高く、蛍光ラベルを施さなくてもウェルの底にいるシングルセルのみならず、ウェルのエッジ部分にいる細胞でさえ精細に撮影することができます。

Cell Metric CLDには内部の温調機能の他に、プレートを10枚格納するカセットを装着することができます。搭載されているプレートローダーがカセットより自動的にプレートをスキャン部まで運びます。これにより、外部ロボットを接続すること無く、複数ユーザーによる使用・複数プロジェクトの同時進行に対応し、高速での測定が可能になります。

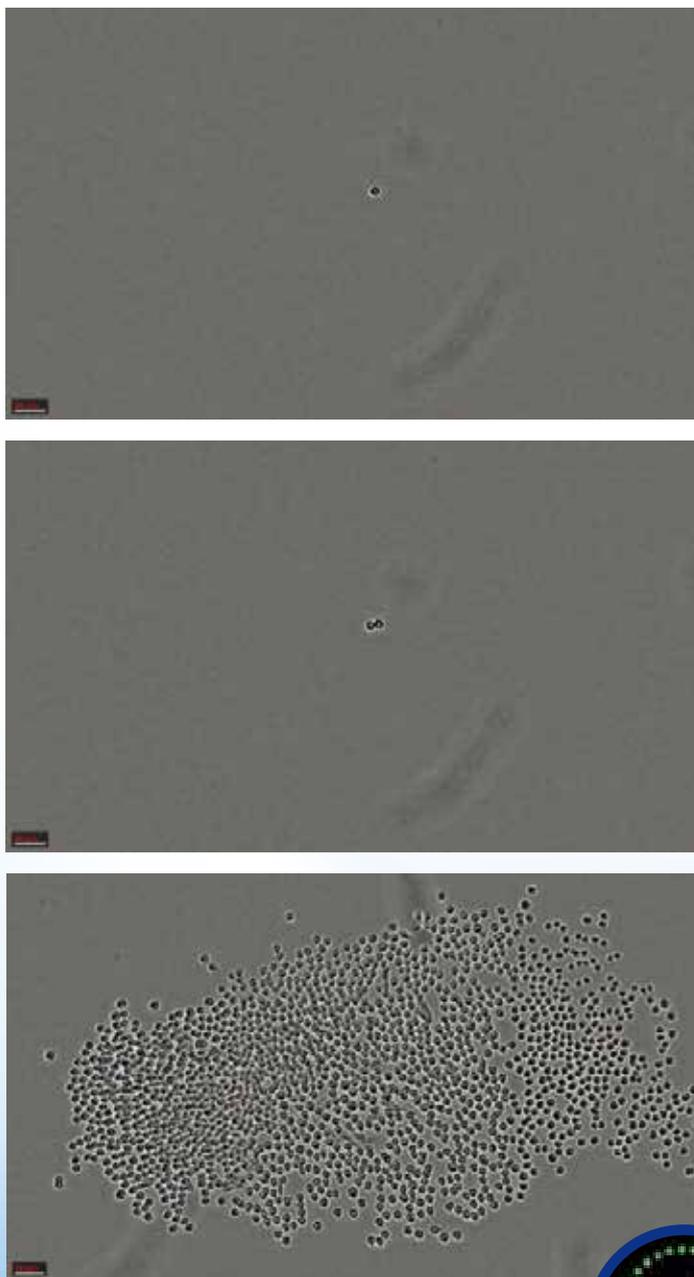
ソフトウェアには撮影日時を含む各ウェルの画像ライブラリが構築されるため、簡単に撮影日時の異なる画像を閲覧することができます。最後に撮影したコロニーからスタートし、時間を遡って最初の単一細胞の画像まで順々に閲覧することができます。

その他にもメソッドバリデーションのために使用したり、蛍光色素を利用したセルライン構築に関するアプリケーションにもご利用頂けます。

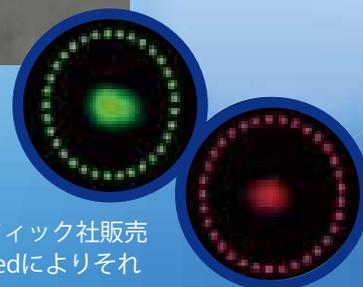


Cell Metric CLDには10枚のプレートに対応可能なカセット、温調機能、自動プレートローダーが備わっています。

単一細胞から増殖しコロニーを形成するまでの画像集。最上段の画像はDay 0に撮影されました。中段の画像はDay 1に撮影されました。



サーモフィッシャーサイエンティフィック社販売のCellTracker GreenとCellTracker Redによりそれぞれラベルされた細胞の実際の画像。



# クローナリティレポート作成機能

近年規制当局より、イメージャーにより得られるアシュアランスデータは一定の基準を満たしている方が良いということが示されています。Solentimはアシュアランスデータをまとめる際に人的ミスなどが発生しないようにクローナリティレポートを作成する機能をCell Metricシステムに組み込み、これを自動化しました。

クローナリティレポートはINDのために提出する一連の書類の一部として使用可能です。このレポートには単一細胞からコロニーを形成するまでの各タイムポイントのウェルを含めることができます。各タイムポイントにはウェル全体の画像と単一細胞を拡大した画像の両方及び撮影日時が含まれます。

画像には単一細胞と思われる旨の注釈及びそれ以外のものと思われる注釈(例:デブリなど)を付与することができます。レポート自体は数分で作成でき、PDFやPowerPoint形式で保存できるため、組織内外との共有も簡単です。

Cell Metric CLDとオフィスが離れていても、遠隔データビューワーソフトウェアを使用することでデータ解析やクローナリティレポートの作成が可能です。

*“Supporting data should include picture of a single cell and the entire well”*

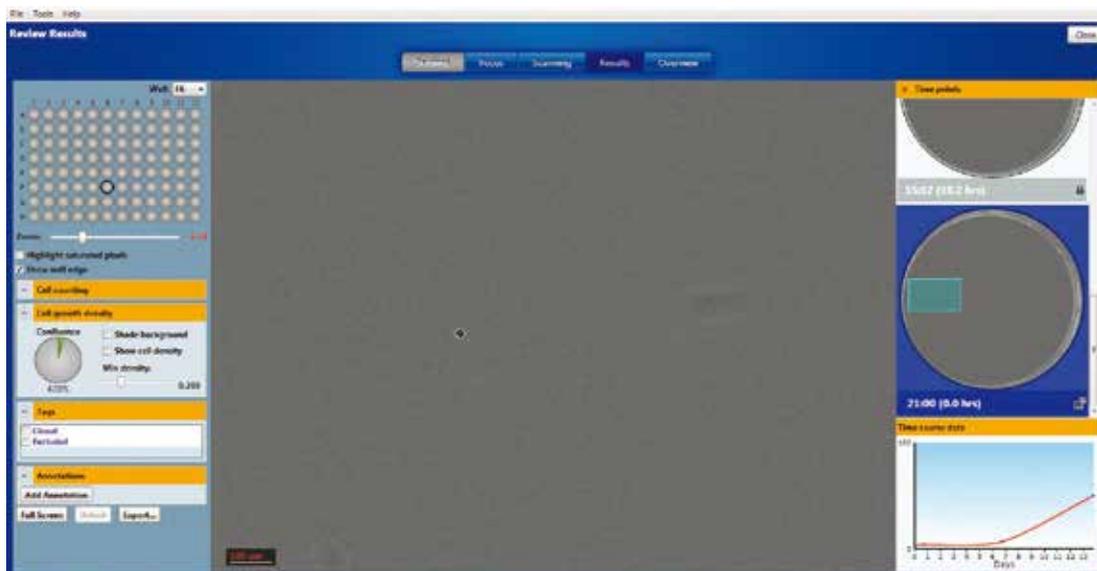
**Dr Rashmi Rawat,**

FDA presentation, Apr 2016\*

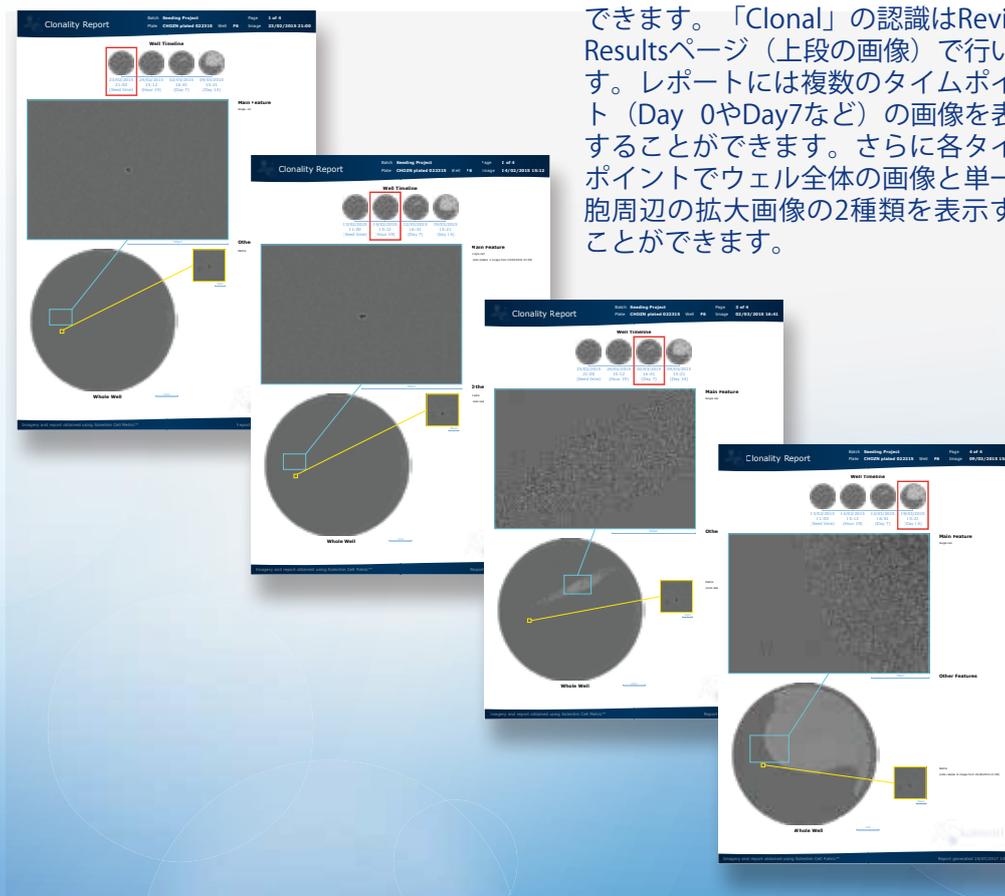
*“The Clonality Report”meets the FDA requirements of whole well image and where single cell feature is located; allows highlighting of other features which can then be described away”*

**Dr Audrey Jia,** Former FDA CMC Reviewer.

IBC Asia, Shanghai, May 2017



クローナリティレポート（下段の一連の画像）では「Clonal」として認識されたウェルのデータを表示することができます。「Clonal」の認識はReview Resultsページ（上段の画像）で行います。レポートには複数のタイムポイント（Day 0やDay7など）の画像を表示することができます。さらに各タイムポイントでウェル全体の画像と単一細胞周辺の拡大画像の2種類を表示することができます。



# ワークフローを劇的に改善 VIPS & Cell Metric CLD

Solentim社はVIPSとCell Metric CLDをワークフローとデータトラッキングの両方の視点から直接リンクさせることで、セルライン構築の上流のワークフローの効率を改善することができました。

VIPS-Cell Metric CLDのコンビネーションにより以下の2点が改善されます：

- マイクロウェルプレートに単一細胞を高効率に播種
- VIPSのデータ(単一細胞の播種画像)をCell Metric CLDのクローナリティレポートに追加することで、アシュアランスデータを更に補強できます(データのトレーサビリティの改善)。

VIPSとCell Metricのソフトウェアは共通のソフトウェアインターフェースを持っているため、扱いやすくなっています。各バッチの情報は一度入力すると、後は自動的に引き継がれます。Cell Metric単独使用時よりもさらに完全なトラッキングとアシュアランスデータを提供するため、VIPSのデータもまたClonality Reportに加えることができます。

## ワークフローの効率改善

広く実施されている単純な限界希釈やセルソーターだけの戦略と比較して、VIPSとCell Metric CDLの組合せはクローニングの戦略とワークフローの効率を大幅に改善できます。

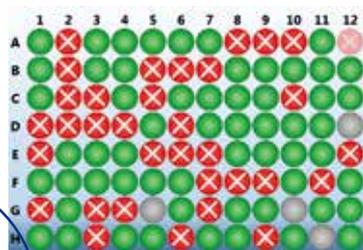


既存のアプローチと比較したVIPS-CLDの組合せによるワークフローの改善案



### 播種

VIPSによる単一細胞の  
高効率播種  
液滴に含まれていた  
単一細胞の画像  
ウェルへの培地の添加



### 確認

Cell Metric CLDによる  
Day 0での単一細胞の  
ウェル全体の画像



VIPSとCell Metric CLDを  
組合せて使用した場合の  
ワークフロー

### 観察

Cell Metric CLDによる  
コロニーの経日変化の  
画像

### レポート

クローンを確認する  
ための画像の見直し  
クローナリティ  
レポートによる文書化



## 輸入総販売元

 **キコーテック株式会社**

<http://www.kiko-tech.co.jp/>

本社 大阪府箕面市船場西三丁目10番3号  
〒562-0036 TEL.072(730)6790(代) FAX.072(730)679E  
東京支社 東京都世田谷区駒沢二丁目11番1号 集花園ビル  
〒154-0012 TEL.03(5787)3323(代) FAX.03(5787)3324  
つくば営業所 茨城県つくば市竹園二丁目3番17号 第1-1SSEビル  
〒305-0032 TEL.029(850)3771(代) FAX.029(856)3887  
神奈川営業所 神奈川県藤沢市藤が岡一丁目8番14号 田中ビル  
〒251-0004 TEL.0466(55)4110(代) FAX.0466(55)4120

## 販売店

[www.solentim.com](http://www.solentim.com)



© Solentim Ltd.

E&OE, Solentim and Cell Metric are registered trademarks of Solentim Ltd.  
Other trademarks property of their respective owners.



Cert No. 12777  
ISO 9001

掲載内容は2017年11月現在のものです。  
掲載内容は予告なしに変更する場合がありますので予めご了承下さい。  
掲載製品は試験研究目的のみにご使用いただけます。