

527

不織布充填型ラジアルフローバイオリアクターに関する研究

(筑波大・応生化) ○本部真樹、有井輝夫、松村正利、村上和雄、片岡 廣
(富士フィルム) 松尾 繁 (キリンビール) 山崎慶紀

1) 目的. 付着性動物細胞を高密度に培養する充填層型バイオリアクターを開発する場合、単位体積当たりの細胞付着面積(S/V比)を大きくすることと、リアクター内における栄養源の濃度勾配を少なくすることが必要である。本研究では、これらの点を考慮して作製した、半径流を有する不織布充填型バイオリアクターを用いて培養条件の検討を行ったのでここに報告する。

2) 方法. 使用した細胞は、レニン産生組換えCHO細胞を用いた。基本培地として、DMEM培地に5%FCSを添加したものをを用いた。担体には、アテロコラーゲンをコーティングしたポリエステル不織布を使用した。担体の検討は、容積15cm³の平板型リアクターに担体(25cm², 2枚)を充填して繰り返し回分培養により行った。また培養条件の検討では、容積60cm³の半径流を有するリアクターに担体(137.5cm²)を渦巻状に充填し、流速44.3cm/hで循環を行い、新鮮培地は350ml/dayで連続的に供給し、生産物質のレニンはRadio Isotope分析法により測定した。

3) 結果. 不織布のコラーゲン濃度と目付け量を変化させて最適な担体を検討したところ、コラーゲン濃度0.03%、目付け量500g/m²のもので最も良い結果が得られ、その最終細胞濃度は 4.8×10^7 cells/g-担体であった。この担体を充填した半径流を有するリアクターで384時間灌流培養を行ったところ、レニン濃度は 60.4×10^3 μ gAI/ml/hとなった。この結果は、担体としてCytodex 1を用いた灌流マイクロキャリア培養での結果と比べて約3倍となり、レニンの生産性及び細胞の増殖も良好であった。

Radial-Flow nonwoven fabrics bed bioreactor for animal cell cultivation.

* M.Motobu, T.Arii, M.Matsumura, K.Murakami, H.kataoka

(Institute of Applied Biochemistry, University of Tsukuba)

S.Matuo(FUJI PHOTO FILM Co.,Ltd.) Y.Yamazaki(KIRIN Brewery Co.,Ltd.)

528

マイクロキャリアー高密度培養によるTPA生産

(旭化成) ○高木 睦、清田 隆夫、上田 一夫

【目的】 マイクロキャリアー培養によるTPA生産において、高密度化に比例した生産速度の増大を得るための生産条件を明らかにする。

【方法】 ヒト胎児肺細胞をマイクロキャリアー(Cytodex 1)に接着し、主として1L容スピナーボトルを用いて培養した。10%FCS含有MEM培地による細胞増殖培養の後、プロテオースペプトン10g/L含有199培地を用いたTPA生産培養を行なった。マイクロキャリアー密度の増加に応じて、グルコースが枯渇しないように、培地交換の頻度を上げた。

【結果】 ①生産培養においてマイクロキャリアー密度を3g/Lから6g/Lにして細胞密度を2倍にしても、約1.5倍の生産量しか得られなかった。

②グルコース、NaHCO₃、プロテオースペプトンなどを除いた生産培地成分の濃度を2倍にすると、6g/Lで3g/Lの2倍の生産量が得られた。ただし、生産培地の濃度アップは、3g/Lでは効果を示さなかった。

③以上の事から、細胞1個当りの生産培地中の不溶性成分の粒子の数が生産速度を律速しており、生産培地濃度アップによりこの律速が解除される結果、6g/Lで3g/Lの2倍の生産速度が得られる、という仮説を立てた。

④生産培地中の脂溶性成分を用いた実験によって、この仮説を裏付ける結果が得られた。

TPA production in high density microcarrier cell culture

○Mutsumi Takagi, Takao Kiyota, Kazuo Ueda

(Asahi Chemical Industry Co., Ltd.)