

44 動物細胞培養

171 動物細胞の高密度浮遊培養のための酸素供給方法
(株)日立製作所 基礎研究所)

○石橋 肇, 川口英夫, 吉野小枝子, 緒田原 啓二

1) 目的 前報¹⁾において Tapping culture flask²⁾ (200 ml) で高密度浮遊培養が可能であることを示した。この要因は、マグネット攪拌子の上下動による液面の乱れが酸素吸収に効果的であり、かつ培養液が発泡しないことにあると推定した。しかし、スケールアップが構造上困難と考えられたので、同様な効果が得られる機械攪拌式槽の構造について検討した。本報ではその結果について述べる。

2) 方法 ①装置: リボン型攪拌翼を内設した容積 5 l の機械攪拌槽。②酸素移動容量係数 ($k_L a$) の測定: 溶存酸素計 (オリエンタル電気 K.K 製) を用いる純水 (2.5 l) 下でのガスアウト法。③株化細胞の培養: 供試細胞を JTC-1 (ラット肝ガン細胞) とし、培地は 10% 血清の DM-160 を用いた (仕込み率; 50%)。

3) 結果 ゆるやかな攪拌状態で液面に複数のノズルから空気を吹き付け、逆円錐状の凹みをつくる方法が最も効果的であることを見出した。ノズル径 1ϕ (6個), 吹き込み空気流量 $7.5 \sim 15 \text{ l/min}$, 及び攪拌速度 $60 \sim 120 \text{ rpm}$ で最大 $k_L a$ 値 4.2 h^{-1} を得た。この値は従来の上面通気方式の約 4 倍である。さらに、JTC-1 を培養した結果、従来法では $3.5 \times 10^6 \text{ cells/ml}$ 以上の濃度には増殖させ得なかったが、本方式では溶存酸素濃度律速にならず、かつ発泡もなく $1 \times 10^7 \text{ cells/ml}$ まで増殖させることができた。

1) 石橋, 緒田原; 醗酵工学会大会要旨集, p91 (1985)

2) Katuta, H., Takaoka, T.; *In Vitro*, 15, No. 12, p449 (1979)

Oxygen supplyment for high-density culture of animal cells

Tadashi I shibashi, Hideo Kawaguchi, Saeko Yoshino, Yooji Odawara (Advanced Research Laboratory, Hitachi, Ltd., 3-1-1 Saiwai-cho, Hitachi-shi, Ibaraki-ken, Japan)

172 固定化ハイブリドーマの酸素消費

(京大・工・化工) ○白井義人・山地秀樹・橋本健治

1 目的 ハイブリドーマは固定化担体内で $1 \times 10^7 \text{ cells/g}$ 以上の高密度での培養が可能であり、モノクローナル抗体も長期間に亘って安定に生産することが示されている。この固定化システムのソフト面を確立するためには、固定化担体内でのハイブリドーマの生育に及ぼす諸因子の定量的な把握が必要である。特に酸素は培地中の溶解度が極めて低く、常に供給すべき物質として工学的検討が不可欠と思われる。本研究の目的は固定化ハイブリドーマの酸素消費速度を測定し、この酸素消費における特性を検討することである。

2 方法 ヒト型モノクローナル抗体を生産するヒトマウスハイブリドーマ 4H11 を使用した。直径 3 mm の 1% アルギン酸カルシウムに細胞を固定化し、 CO_2 インキューバー内で静置培養した。固定化及びフリーの 4H11 をガラスセル内に入れ、溶存酸素濃度の経時変化を DO センサーで追跡することにより、それぞれの酸素消費速度を測定した。

3 結果 4H11 の酸素消費速度は溶存酸素濃度についてほぼ 0 次反応であった。固定化 4H11 は増殖に伴って単位細胞あたりの酸素消費速度が増加し、培養 3 週間目ではフリーの 4H11 の約 35 倍に達した。4H11 は固定化担体内で $3 \times 10^6 \text{ cells/g}$ の密度まで増殖し、その後は細胞の死滅と増殖が平衡に達し、担体当りの細胞密度は一定値を維持した。この間においても細胞の酸素消費速度は増加した。担体当りの細胞数は一定であっても担体内では細胞コロニーの肥大が観察された。従って酸素消費速度の増加はこの局所的な細胞密度の増加と関係があると考えられる。

文献 (1) 白井・橋本・山地・我素敷, 化工協会第 51 年会講演要旨集 I 314 (1986)

Oxygen consumption of immobilized hybridoma

Yoshihito Shirai, Hideki Yamaji, and Kenji Hashimoto (Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606)