

## 429 灌流培養槽によるハイブリドーマの高密度培養

(帝人・中研) ○渡嘉敷通之・濱本公彦・高沢美治・市川弥太郎

I. 背景および要旨。モノクローナル抗体は診断薬、精製用資材、治療薬等としての利用が期待されており、すでに商業化されているものもある。吾々はモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを経済的に大量培養するために灌流培養槽による高密度培養の研究を実施している。灌流培養によるハイブリドーマの高密度培養における技術上の問題点として次の2つをあげることができる。(1) 培養系への酸素供給。(2) 細胞と培養液の分離。吾々は(1)についてはフルオロカーボンに酸素供給媒体として用いる方法を開発し、(2)については細胞と培養液の分離を濾過および重力沈降によって行う数種類の培養槽を開発し好成績を得ているので報告する。

II. フルオロカーボンによる培養系への酸素供給。液状フルオロカーボンは酸素溶解度が水の10倍以上で、細胞毒性がないため、吾々はこれを培養系への酸素供給媒体として利用することを試みた。フルオロカーボンは酸素吸収装置と培養槽を含む系内で循環使用するシステムを考案して、マウス・マウスハイブリドーマ4C10B6株の灌流培養を行い、最高到達生細胞密度  $9.8 \times 10^6$  cells/ml を得た。

III. 細胞と培養液を濾過によって分離する灌流培養。スケールアップに当って、処理量に比例して濾過面を設けることができる固定フィルター内装灌流培養槽を考案した。この方式が工業的に使用しうるか否かの最大の問題点は濾過の短期寿命である。これを明らかにするために、培養槽底部にフィルターを内装した灌流培養槽を用いてマウス・マウスハイブリドーマ4C10B6株の高密度培養を42日間にわたって行い、最高生細胞密度:  $1.4 \times 10^7$  cells/ml、フィルター短期寿命: 約2週間を得た。

IV. 細胞と培養液を重力沈降によって分離する灌流培養。細胞と培養液の分離を濾過によって行う灌流培養においては、濾過面の閉塞による分離能力の低下は避けられず、この傾向は無血清培養で特に著しい。そこで吾々は細胞と培養液を重力沈降によって分離する図1に示す培養槽を考案し、ヒト型IgG産生マウス・ヒトハイブリドーマH-1株およびH-2株について血清添加培地および無血清培地を用いて高密度培養を行った。H-2株の無血清培養結果を図2に示す。いずれの培養においても生細胞密度は回分培養の約10倍に達し、培養期間中IgGを継続的に産生していることを認めた。

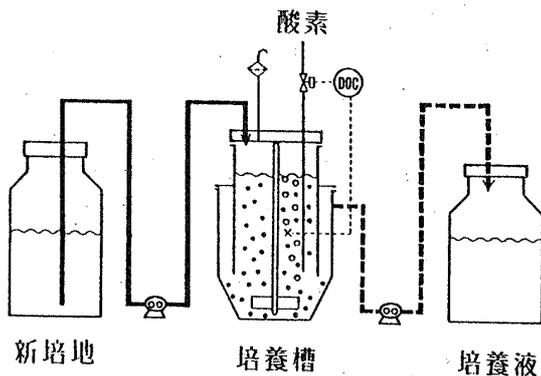


図1 重力沈降型灌流培養装置

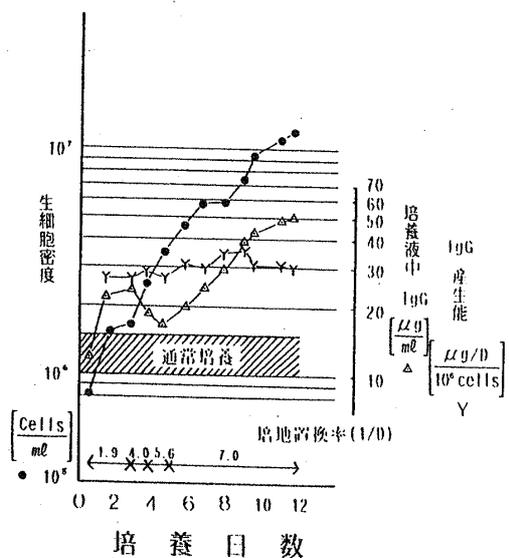


図2 H-2株の無血清高密度培養結果

Perfused Culture of Hybridoma Lines.

M. Tokashiki, K. Hamamoto, Y. Takazawa &amp; Y. Ichikawa.

Central Research Laboratories, Teijin Limited.