

558 セラミックを担体とする動物細胞培養用充填層型リアクターに関する研究
(雪印乳業生科研) ○松田 義章、満田伸二郎、小林 直樹、熊沢栄太郎、
川西 悟生

1. 目的 接着性動物細胞用のバイオリアクターとして種々のものが考案されている。我々は、不定形セラミック片が多くの細胞にとって良好な接着担体となることに着目し、充填層型バイオリアクターの構築を試みた。ここでは細胞としてヒト胎児肺由来正常二倍体線維芽細胞である IMR-90 を用い、組織プラスミノゲンアクチベーター (t-P A) の灌流法による連続生産条件の検討を行った結果を報告する。

2. 方法 増殖培地としては、10% FCS を含むダルベッコ改変培地 (DMEM) を、生産には、誘発剤として 1% プロテオースペプトンを含む DMEM を用いた。活性の測定は、フィブリンプレート法で行った。セラミック片は東芝セラミック (株) より入手した AA-6 を破碎して用いた。

3. 結果 セラミックは Al_2O_3 を主成分とする、サイズ 3-6 mm のものが空隙率や接着表面積の点から最も良好な増殖を与えた。充填層に加え、ほぼ同一の容積をもつ循環槽を設けた装置を用い、希釈率の活性に及ぼす影響を調べた結果、 0.33 day^{-1} では 83 IU/ml であったが、 0.55 day^{-1} では 300 IU/ml に迄増加し、負のフィードバックコントロールは希釈率の高い条件で解除されることが認められた。2 kg のセラミック片を充填したリアクターを用い、希釈率 0.5 day^{-1} で 40 日間の連続生産を行った。その結果平均活性は 300 IU/ml 以上に維持され、 $560 \text{ IU}/10^6 \text{ cell/day}$ という高い生産性が得られた。その間 IMR-90 細胞はほとんど剥離することなくセラミック表面に維持されていた。また CHO や BHK 細胞等の本担体での良好な増殖も確認された。

Studies on ceramic bed reactor for mammalian cell culture
○Yoshiaki Matsuda, Shinjiro Mitsuda, Naoki Kobayashi, Bitaro Kumazawa
and Gosei Kawanishi
(Research Institute of Life Science, Snow Brand Milk Products Co., Ltd.)

559 ラジアルフロー型固定床を備えた透析膜培養槽による動物細胞の培養
(山梨大学・工) ○黒沢 尋、(ハンブルク工科大) H. Märkl、
(筑波大・応生化) 松村 正利

1) 目的. 動物細胞培養のための透析膜バイオリアクタを考案した。本バイオリアクタは透析膜で仕切られた内外 2 つの培養槽からなり、内槽には垂直方向へのスケールアップに有効なラジアルフロー型固定床を導入した。ここでは hybridoma cell によるモノクローナル抗体 (MAb) の生産を一例としてとりあげ、固定床内への酸素供給を中心とした培養条件の検討を行った。また、固定床の水平方向へのスケールアップについて考察を加えた。

2) 方法. モノクローナル抗体生産株として hybridoma IVF19 を用いた。基本培地は Iscove's MEM と Ham's F12 の 1:1 混合培地とし、ここに 5% の FCS を添加した。培養槽は、円筒形の透析膜 (Cuprophane) によって内槽 (1L) と外槽 (6L) に仕切られている。細胞を接種する内槽には多孔性のガラスビーズ (径 1.5mm) を充填した円筒形の固定床 (半径 35 mm, 高さ 133mm) を取付けた。固定床内への培地の供給は、床底部の遠心ポンプによって生じる中央部導管から周辺方向へのラジアルフローによって行われた。

3) 結果. 固定床内で生育する細胞への酸素供給を満たし、同時に液の流動に伴い生じるストレスが細胞に損傷を与えない流速 (U_i) は、細胞密度 $1.0 \times 10^7 \text{ cells/ml}$ 、溶存酸素濃度 (DO) 3.2 ppm において、 $2.2 \times 10^{-3} \text{ m/s}$ であると算出された。同 U_i 、DO において実際の培養を行ったところ、固定床内で $9.6 \times 10^6 \text{ cells/ml}$ の細胞密度が得られた。乳酸などの生育阻害物質は、透析膜を移動した低濃度に希釈されたが、MAb は膜を通過せず内槽に蓄積し、最終的に 241 mg/l に達した。 U_i $6.0 \times 10^{-3} \text{ m/s}$ 、DO 7 ppm の条件では、固定床の半径を 150mm にまで大型化可能であることが、酸素供給の面から推算された。

Dialysis Bioreactor with Radial-Flow Fixed Bed for Animal Cell Cultivation.

○Hiroshi Kurosawa*, Herbert Märkl, Masatoshi Matsumura (* Department of Applied Chemistry and Biotechnology, Faculty of Engineering, Yamanashi University, Takeda 4-3-11, Kofu-shi, Yamanashi 400)