

## SPGマイクロバブルスパージャーによる バイオ医薬品製造用の動物細胞培養装置の開発

宮崎県工業技術センター ○久木崎雅人, 小玉 誠, 溝口進一, 下池正彦, 松本公彦  
日揮(株) 田原直樹  
(株)キョモトテックイチ 星野義郎, 安藤 聡

### 1. はじめに

最近, ジカ熱, エボラ出血熱, デング熱などの感染症が世界中で発生し, 人々の生活に大きな影響を及ぼしている。このような感染症対策では, とかく新しいワクチンの開発に注目が集まるが, ワクチンを迅速にしかも効率良く生産する技術の開発も強く求められている。

製薬業界では, これまで化学合成による低分子医薬品を主力製品としていたが, 最近ではワクチン等に代表されるバイオ医薬品に注目が集まっている。細胞や微生物の働きを利用して造られるバイオ医薬品は, 感染症, がん, リウマチなど疾病に対して薬効が高く, しかも副作用も少ないことから今後の医薬品の中心となり, 将来の大きな成長が見込めると期待されている。世界中で販売される医薬品の2013年度売り上げのベスト10のうち, 7品目が抗体医薬品であり大きな市場を形成している<sup>1)</sup>。

バイオ医薬品の1つであるインフルエンザワクチンの製造法として, 有精卵を用いる方法が知られている。しかし, この方法では製造に煩雑な手間と製造に長期間を要するために, パンデミック(大流行)への対応が難しいことが課題として指摘されている。このような課題に応えるため, 動物細胞を使った細胞培養法への転換が進められている。この方法では, 例えば動物細胞にウイルスの遺伝子を導入して細胞を栄養液(培養液)中で培養し, ウイルスの抗原性に関わるタンパク質を細胞に造らせた後, 精製してワクチンを製造する。

バイオ医薬品の製造においては, 動物細胞を大量に培養して薬物を生産する方法が主流となりつつある。動物細胞の培養では, 無菌的な環境の培養槽内において細胞に損傷を与えることなく, 酸素を含む気泡を介して培養液に酸素を効率よく供給し, 細胞を高密度で培養することが必要である。細胞の生存に必要な酸素を効率よく供給する手段として, 酸素を含む気泡を微細化して気泡内の酸素ガスと培養液の接触面積を増大させ, 酸素を培養液に効率良く溶解させることが有効である。しかしながら, 従来の微細気泡(マイクロバブル)生成法は, 気泡を微細化するために培養液を激しくかく拌する必要があり, 液のかく拌に伴うせん断力により細胞が損傷を受けやすい課題があった。これは, 動物細胞が細胞壁を持たないために物理的な作用に極めて敏感であることに起因する。

宮崎県工業技術センターが独自に開発したシラス多孔質ガラス(SPG)膜(特許第4951799号)を用いるマイクロバブル生成技術(特許第4505560号)は, サイズの揃ったバブルを生成できるばかりでなく, バブル生成時に液体の激しいかく拌が不要であることから, 気泡生成時のせん断力が小さく細胞の損傷を抑制できるメリットがあり, 細胞培養に適した気泡生成法であると考えられる<sup>2)</sup>。宮崎県工業技術センターはSPG膜を用いたマイクロバブル生成技術を活用して, 国内大手のエンジニアリング会社である日揮(株)と共同でバイオ医薬品製造を目的とした動物細胞培養装置の開発を行い, 高密度で動物細胞を培養する技術を開発した。この技術をもとに, 宮崎県内の装置メーカーである(株)キョモトテックイチが, 培養装置専用のSPGス



図1 SPGスパージャーにより生成したマイクロバブルの外観

パージャーの製造技術を開発し、これを組み込んだ培養装置を、日揮(株)が佐竹化学機械工業(株)と共同で事業化した。その結果、平成27年7月にバイオ医薬品向けの小型培養装置を上市したので報告する。

## 2. 開発内容

まず、SPG膜(SPGスパージャー)およびオリフィススパージャーを用いたときの培養液への酸素溶解速度を比較検討した結果、SPG膜を用いた酸素供給性能は、培養液のかく拌回転数にかかわらず、オリフィススパージャーを用いた場合より優れることがわかった。これは気泡径が小さいほど気液接触面積が増大したためと考えられる。また、かく拌回転数が小さいほど、オリフィススパージャーとSPG膜の酸素供給速度の差が増大したことから、SPGスパージャーが動物細胞の培養に適していると考えられる。

次に、今回開発した小型培養装置を用いて、SPGスパージャーによる通気培養が細胞に及ぼす影響を調べた。動物細胞株はチャイニーズハムスターの卵巣細胞(CHO細胞)を使用した。その結果、従来法に比較して高密度で培養できることがわかった。また、培養終盤の死滅期において従来法より細胞の生存率が高いことも示された。この結果を受けて、培養装置メーカーの佐竹化学機械工業(株)も参画して、培養に適した専用のSPGスパージャーと培養装置の開発を行い、平成27年7月に培養装置の販売に至った。

## 3. 培養装置の特徴

培養装置の外観を図2に示す。本装置は内容積が約3~10 L規模の小型の培養装置である。培養液のかく拌は、円形状のかく拌翼を上下動させる構造となっており、極めて小さいせん断力で培養液を効率良く混合することができる。本装置はラボスケール試験用として位置付けており、この装置での培養試験結果をもとに、製薬メーカーから受注して大型プラントの設計・制作を行い、本格生産に移行する。本装置の特長は、①高密度で細胞を増殖できるため、短期間に効率良くしかも低コストで薬物を製造可能、②従来法より死滅細胞を大幅に抑制できるので薬物生産性向上と、培養の後工程の精製プロセスのコストを大幅に低減できることである。



図2 小型培養装置の外観  
(佐竹化学機械工業(株)提供)

## 4. おわりに

宮崎県工業技術センターが開発したSPGとマイクロバブル生成技術をコア技術として、県内以外の企業と共同でバイオメディカル分野への応用技術開発を行い、約8年の歳月をかけて事業化に至った。本技術は、バイオ医薬品製造を目的として開発したものであるが、再生医療に用いるiPS細胞(人工多能性幹細胞)等を用いた再生医療における細胞培養技術への利用可能性も期待される技術であり、広く普及に努めていきたい。

## 5. 謝辞

本研究の一部は、平成25~26年度産学官共同研究開発支援事業(公益財団法人宮崎県産業振興機構)において行われた。記して謝意を表す。

## 参考文献

- 1) <https://www.utobrain.co.jp/news/20140613.shtml>
- 2) M. Kukizaki et al., Colloids and Surfaces A, 296, 174-181(2007).