

講演番号：3A41a07

講演日時、会場：3月26日 10:12～ A校舎41会場

上下動攪拌装置の動物細胞培養における評価

Evaluation of Animal Cell Cultivation using Reciprocal Motion Mixer

○丹生 德行^{1,2}、植木 雅志¹、佐藤 誠^{1,2}、遠藤 勲¹、加藤 好一^{1,2}、金森 久幸^{1,2} (1理研・動物細胞、²佐竹化学機械工業(株))

○Noriyuki TANSHO^{1,2}, Masashi UEKI¹, Makoto SATO^{1,2}, Isao ENDO¹, Yoshikazu KATO^{1,2}, Hisayuki KANAMORI^{1,2} (1Animal Cell, RIKEN, 2Satake Chemical Equipment Mfg., Ltd.)

【背景・目的】動物細胞は細胞壁を持たないため非常に脆弱で、剪断力に弱いとされている。従来から動物細胞培養に広く用いられる回転式攪拌装置は、攪拌翼を回転させることで培養槽内各成分の均質化、必要酸素量の供給を行うが、これにより生じる剪断力は細胞にとって好ましくなく、攪拌翼形状や運転条件等の工夫による対策は講じられているものの最善とは言えない。そこで我々は、低い剪断力にて穏やかに攪拌する装置として、上下動攪拌装置 (VMOVE ミキサー) の開発に至った^{1,2,3}。新開発攪拌翼の緩やかな上下運動は、低剪断でありながら良好な流体混合を与える。また、構造面においても、回転式攪拌装置のような軸封構造が不要で、槽内完全密閉が可能になり、外部からの汚染リスクが極めて低い特徴も動物細胞培養装置に適している。本報では、上下式ならびに回転式の攪拌装置を用い動物細胞培養を行い、細胞増殖速度・死細胞濃度等の培養パラメータを比較することにより、上下動攪拌装置の動物細胞培養への適性を評価した。

【実験方法】動物細胞はHL-60細胞、培地はRPMI1640+10%FBSを用いた。培養槽はガラス製円筒槽を用い、培地容量2400mLにてバッチ培養を行なった。回転式攪拌は、攪拌翼に6枚フラッタービン翼を用い、4枚邪魔板を設置した。上下動攪拌は、攪拌翼に楕円翼2枚を用い、邪魔板なしとした。各種センサー (pH、DO、DCO₂、濁度) を培養槽内に設置し、培養槽内の状態を記録した。所定の培養時間に培養液を採取、顕微鏡にて細胞数をカウントし、細胞濃度を算出した。また、培養液上清の乳酸脱水素酵素 (LDH) 活性を測定することによって、死細胞濃度を算出した。

【結果】従来の回転式攪拌において、低回転数では溶存酸素量の維持が難しく、細胞増殖速度が著しく低下した。酸素供給能を向上させるために、回転数を上げると、増殖速度は増加するものの、槽内の剪断力が高まることで、死細胞濃度が増加することが分かった。一方、上下動攪拌は、低速かつ低エネルギーながら、必要酸素量を十分に維持でき、細胞への物理的ダメージも確認されず、良好な細胞増殖を与えることが分かった。以上の結果より、上下動攪拌装置は動物細胞の培養により適切であることが分かった。

【参考文献】

- 1) 佐藤ら, 化学工学会第41回秋季大会要旨集 I120(2009)
- 2) 関塚ら, 化学工学会第41回秋季大会要旨集 I120(2009)
- 3) 丹生ら, 化学工学会第43回秋季大会要旨集 R116(2011)

Mixing, Reciprocal Motion, Animal Cell Incubator