

D125

起酵分離操作によるタキソール培養生産の効率化

(崇城大応生命)○(正)山本進二郎*・竹山 達・(正)林修平・(関東学院大工総研)(正)古崎新太郎・(崇城大応生命)(正)塩谷 捨明

1. 緒言 抗ガン剤パクリタキセル(商標名:タキソール)は、有機溶媒を用いる多段階の化学修飾によってタキソール前駆体から生産されるため、高価である。植物細胞はタキソールを全合成するので、安全安価な製造法として期待されている。しかし細胞培養では、タキソールの増殖阻害作用や低い生産性などの問題がある。これらを改善するには、培養液からタキソールを除去する培養プロセスが有効である。演者らは、タキソールの疎水性に着目してタキソールを安全安価な気泡に同伴させて起酵分離する新規な方法(Bioreactor with foam separation; BFS)を提案した¹⁾。ここでは、BFSでのタキソールの分離特性ならびにタキソール生産と細胞増殖に及ぼすBFSの有効性、さらに効率的なBFSの培養操作条件を検討した。

2. 材料及び方法

2-1. 材料 カルスは、*Taxus cuspidata*(崇城大学に植樹)の葉から誘導したものをを用いた。BFSは内・外部の容器からなり、内部容器には、カルス保持用セルロース性バッグを装着する網状ドラフトチューブと気泡発生器を設置されている。外部容器は、内部容器から溢流する培地の回収に利用した。培地には、B5培地を基本とした液体培地を用いた¹⁾。

2-2. 無細胞条件下でのタキソール分離 所定量のタキソール含有B5培地を含む内部容器を外部容器へ設置して、通気量50~400mL/minで通気を行った。経時的に内部容器中の培地と外部容器へ溢れた培地量(溢流量)をサンプリングし、それぞれタキソール量を測定した。

2-3. カルス培養でのタキソール生産 B5培地を含む内部容器に、1.2gのカルスを含むセルロース性バッグを設置して、所定の通気量で培養を行った。カルスの湿重量と内部容器中のタキソール濃度、外部容器への溢流量を経時的に測定した。三角フラスコで振とう培養したものをコントロールとした。

2-3. 分析 カルス量は電子秤でその湿重量を測定した。タキソールは、培養液と細胞からジクロロエタンを使って抽出・蒸発後、メタノールに再溶解してHPLCで分析した¹⁾。

3. タキソール分離の動力学的解析

無細胞状態で起酵分離操作を行った結果、タキソール濃度は、片対数グラフ上で直線的に減少する(一次過程である)ことが観察された(Fig.1)ことから、本培養装置でのタキソール分離の動力学的解析を行った。この解析に当たり、①内部容器中の培地は完全混合されている、②タキソールは気泡表面に移動する、③循環する気泡量は無視できる、などを仮定し、以下のタキソールの収支式を得た。

$$-Vdc/dt = k_L A c \quad (1)$$

なお c :培地のタキソール濃度[mg/m³]、 t :時間[h]、 k_L :タキソール移動係数[m/h]、 V :培地量[m³]、 A :培地中の気液界面積[m²]。

(1)式の両辺を初期タキソール濃度 c_0 [mg/m³]で割って無次元化($C=c/c_0$)し、培地当たりの気液界面積(AV)を a [m⁻¹]として、次式を得た。

$$-dC/dt = k_L a C \quad (2)$$

実験データから $k_L a$ を求めて、本培養装置のタキソール分離特性を評価した。

4. 結果及び考察

4-1. 無細胞条件下でのタキソール分離の動力学的解析

Fig.2には、タキソール分離に関わる $k_L a$ に及ぼす通気量の影響を示す。通気量の増加とともに $k_L a$ は増加し、通気量の増加がタキソール分離に有効であることが示された。しかし通気量の増加とともに外部容器への培地の溢流量が増加した。外部容器にタキソールが濃縮することが重要なので、タキソール濃縮率(外部容器中のタキソール濃度を内部容器中の初期タキソール濃度で割ったもの)を定義して、通気量とタキソール濃縮率との関係を調べた。その結果、通気量の増加と共にタキソール濃縮率の低下が観察され、50mL/minが最適であることが認められた。よってこの通気量をカルス培養に利用した。

4-2. カルス培養と BFS の効率化

50mL/minでのカルス培養の結果をFig.3に示す。コントロールでは培養7日後にタキソール生産が停止したが、BFSでは常に増加することが認められた。一方、カルス増殖は、コントロールでは培養後期に低下したが、BFSでは増加する傾向が観察された。コントロールではタキソールが蓄積するのに対して、BFSではタキソールが随時外部容器へと分離しタキソール阻害が低減したため、カルス増殖とタキソール生産が促進されたと考えられる。

カルスはセルロース性バックに固定された状態なので、カルスへの栄養成分や酸素の供給不足、タキソールの局所的な蓄積が問題点として挙げられる。これらを改善するバック内の流動化操作がタキソール生産の効率化に重要と考えている。

5. 結言

BFSでのタキソール分離は一次過程であり、動力学的解析を行った。タキソール濃縮率から最適な通気量50mL/minを求め、BFSに適用したところ、タキソール生産とカルス増殖が向上してきた。BFSによりタキソール阻害が低減されたためであった。

6. 参考文献

1) 後藤悠一ら、化学工学会第38回秋季大会、Va083(2006)

* syamamot@life.sojo-u.ac.jp

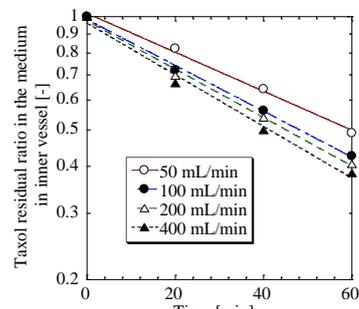


Fig. 1 Effect of aeration rate on taxol separation

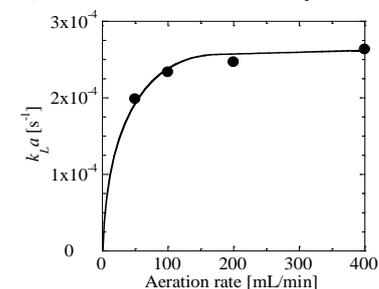


Fig. 2 Relationship between $k_L a$ and aeration rate.

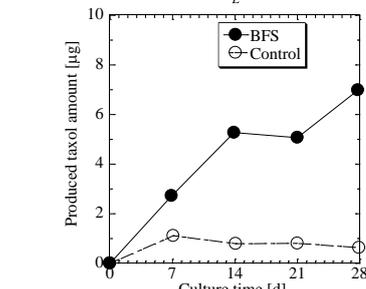


Fig. 3 Comparison of produced taxol amount in BFS to that in control.