

B215

## 静電紡糸シリカ不織布の細胞培養担体への応用およびそれを用いた環流培養装置の構築

(福岡工技セ) ○ (学) 山口哲\*・(九大院工) (正) 境慎司  
(日本バイリーン) 渡邊理恵・多羅尾隆・川部雅章・(九大院工) (正) 川上幸衛

### 【緒言】

近年、簡便にナノオーダーレベルの直径の纖維を作製可能な手法として、静電紡糸法が注目されている。我々は、ゾル・ゲル法を利用して作製されるシリカの生体適合性の高さに着目し、本方法を組み合わせて作製されたシリカ不織布(Silicate Nonwoven Fabrics: SNF)を細胞培養担体として応用する検討を行っている。

細胞培養担体の用途には、細胞を用いた評価ツール、物質生産装置、および再生医療材料などがあり、現在、SNF を装填可能な物質生産装置の開発を行っている。物質生産装置の開発では、高密度で大量に細胞を培養する必要があるが、高密度で細胞を培養するためには、十分な栄養素や酸素の供給および老廃物の除去などの物質交換能を考慮する必要がある。そこで本研究では、培養装置内に流れる培養培地の流量に注目し、流量の変化に伴う装置の性能ならびに SNF 上の細胞への影響について調査した。

### 【実験方法】

#### 1) シリカ不織布の作製および物質生産装置の構築

テトラエトキシシラン(TEOS)、エタノール、精製水、塩化水素をそれぞれ 1:2:2:0.01 のモル比にて混合して得られるゾルに、10 kV の電圧を印加させることで直径約 200-500 nm のシリカからなる不織布を作製した (Fig. 1a)。500°Cで 3 h の焼成処理を施したシリカ不織布を直径 2.5 cm の円形に細切り、ADVANTEC KS-25 内に導入することで環流培養システムを構築した (Fig. 1b)。

#### 2) 環流培養条件

1)で構築したモジュール内に IL-6 生産遺伝子導入 CHO-K1 細胞 I-13 を  $1 \times 10^6$  cells/cm<sup>2</sup> の濃度で播種した。環流流量をそれぞれ 3.5, 7, 10, および 15 ml/min に設定し、2 週間の培養を行った。培養期間における IL-6 生産能、グルコース濃度、および乳酸濃度の経時的変化を分析した。また、培養終了後の細胞密度を測定し、評価の指標とした。細胞形態については SEM を用いて観察した。

### 【結果および考察】

IL-6 生産能については、培養 12 日目以降は、7 ml/min の条件も、10 ml/min および 15 ml/min の流量とほぼ同等の生産能を示した。また、全般にわたって、10 ml/min の流量が最も高い IL-6 生産能を示した (Fig. 2a)。細胞密度については、7 ml/min および 10 ml/min の両流量では、細胞密度に差異は見られなかった。しかし、3.5 ml/min の場合の細胞密度は、7 ml/min および 10 ml/min のときの約 60 % であり、15 ml/min では約 80 % 程度であった (Fig. 2b)。

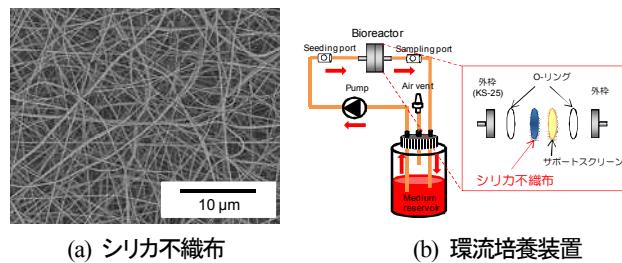
培養終了後の細胞形態については、3.5 ml/min、7 ml/min および 10 ml/min の流量では、SNF 全体に I-13 細胞が増殖したが (Fig. 3a)、15 ml/min の流量では、纖維の一部が

欠落した (Fig. 3b)。

以上の結果、環流流量を増加させることで、本装置の性能を向上させることができた。これは、培養培地による細胞への物質交換能が向上したためであると考えられる。しかし、過度の流量では、強いせん断応力に起因する SNF 纖維の欠落が起り、装置の性能も低下することが明らかとなった。

### 【結言】

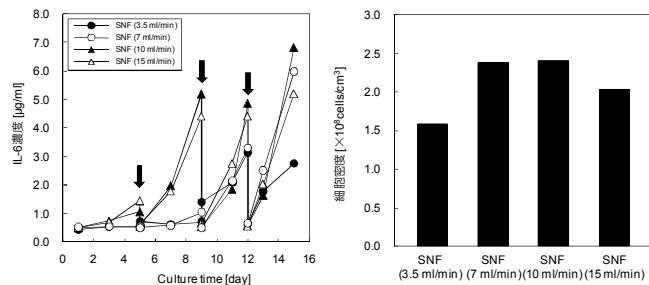
本検討では、流量の変化に伴う装置の性能ならびに SNF 上の細胞への影響について調査した。その結果、流量の増加とともに装置の性能も向上したが、過度な流量条件では、纖維の欠落も起った。そのため、現在 SNF の物理的強度の向上に向けた検討を行っている。



(a) シリカ不織布

(b) 環流培養装置

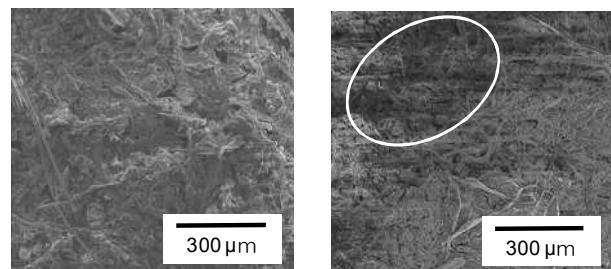
Fig.1 本実験で用いた細胞培養担体および培養装置



(a) IL-6 生産能の推移

(b) 細胞密度の比較

Fig.2 培養装置の性能および培養終了後の細胞密度



(a) 7 ml/min

(b) 15 ml/min

Fig.3 各流量で培養した SNF 上の I-13 細胞