



Title	BIOPROCESS ENGINEERING STUDIES ON SUSPENDED CULTURES OF PERILLA FRUTESCENS IN BIOREACTORS FOR ANTHOCYANIN PRODUCTION
Author(s)	鐘, 建江
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38198">https://hdl.handle.net/11094/38198</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#"></a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	しょう けん こう 鐘 建 江
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学位記番号	第 1 0 7 2 5 号
学位授与年月日	平成 5 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 工学研究科醸酵工学専攻
学位論文名	BIOPROCESS ENGINEERING STUDIES ON SUSPENDED CULTURES OF PERILLA FRUTESCENS IN BIOREACTORS FOR ANTHOCYANIN PRODUCTION (アントシアニン生産を目的とするバイオリクターによるシソの懸濁培養に関する培養工学的研究)
論文審査委員	(主査) 教授 吉田 敏臣  (副査) 教授 菅 健一 教授 新名 惇彦 教授 今中 忠行 教授 山田 靖宙 教授 高野 光男 教授 大嶋 泰治 教授 卜部 格 教授 二井 将光

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、アントシアニン色素を生産するシソ (*Perilla frutescens*) の細胞培養に関する培養工学的研究をまとめたもので、緒論と総括を含めて 8 章から構成されている。

第 1 章では、植物細胞培養による有用物質の大量生産に関する研究を精査し、この分野で懸案となっている諸問題を概説した後、研究目的を示し、本論文の概略を述べている。

第 2 章では、リアクターを用いる植物細胞培養において発泡や細胞の培養槽壁への付着によって液体深部培養が困難になる問題の解決策として、消泡剤シリコン A の添加が有効であることを示している。

第 3 章では、気泡塔型培養槽、微生物用通気攪拌型培養槽および植物用通気攪拌型培養槽を用いて酸素供給と増殖ならびにアントシアニン生産との関係を検討し、酸素供給を改善することによってアントシアニン生産が増加することを明らかにしている。

第 4 章では、光照射時間のアントシアニン生産への影響を示すとともに、特に光照射強度の影響について詳しく検討し、 $27.2\text{W}/\text{m}^2$  の光強度でアントシアニンの生産が最も高く、気泡塔型および植物用通気攪拌型培養槽において約  $3\text{g}/\text{L}$  のアントシアニンが得られることを示している。

第 5 章では、同心二重円筒式の回転ドラム型反応器を用い、剪断がシソ細胞の生存率に影響を及ぼすことを示し、さらに、植物用通気攪拌型培養槽において、ある平均剪断速度の範囲で細胞増殖と色素の生産速度ならびに蓄積量が最大となることを見いだしている。

第 6 章では、シソ細胞培養液のレオロジー的特性について検討し、細胞濃度が乾燥重量で 1% を越えると細胞懸濁液の見かけ粘度が急激に増加することおよび培養液がビンガム塑性流動を示すことを明らかにしている。

第 7 章では、シソ細胞培養プロセスのオンライン計測について種々検討し、レーザーオンライン濁度計を用いることによって、培養液の色や培養細胞塊のサイズに影響されることなく細胞濃度をオンライン計測することができ、また、その測定が細胞塊のサイズでなく、個々の細胞のサイズに影響されていることを明らかにしている。また、計算機援用による細胞培養プロセスのオンライン計測システムを用い、重要なプロセス変数の選択および培養細胞の生理学的状態の同定が可能であることを示している。

第 8 章では、本研究で得られた主たる結論を総括するとともに、植物細胞培養プロセスの開発における将来の展望について述べている。

## 論文審査の結果の要旨

植物は約2万種に及ぶ化学物質を合成する能力を有し、その中には、現在化学合成や微生物培養による生産が困難であると言われている多くの有用物質が含まれる。植物細胞は、細胞培養法を採用すれば、栽培植物と比べ速く増殖させることができ、天候や場所に限らず材料が得られるという利点を有していることから、植物細胞培養による有用物質の工業的生産が期待されている。しかし、植物細胞培養の大量培養には、細胞の壁付着、粘性増加による攪拌不良、細胞がせん断に対して敏感なことおよび光照射の要求性など、多くの検討課題がある。本論文は、シソ (*Perilla frutescens*) の脱分化細胞を用いて、二次代謝産物アントシアニン色素の生産性を向上させるため、通気塔型および通気攪拌型の種々の培養槽における酸素供給、光照射およびせん断のシソ細胞増殖と色素生産への影響について検討するとともに、培養液のレオロジー的性質ならびにプロセス変数のオンライン計測について、検討を行っており、以下に要約するよういくつかの重要な知見ならびに結論を得ている。

- (1) 種々の培養槽を用いる培養で、微細気泡を供給し得る空気分散デバイスを選択し酸素供給能力を高めることによって色素生産量を顕著に増加させており、植物細胞培養における酸素供給の重要性を明示するとともに植物細胞に適した酸素供給条件改善法に対する指針を与えている。
- (2) 異なった酸素供給条件で光照射強度の色素生産への影響について検討し、色素生産は光に依存するが過度の光照射によって阻害を受けること、さらに光照射強度の最適値は酸素供給条件の改善によって低くなることを見いだしている。
- (3) 細胞生存率を指標にしてせん断の植物細胞に対する破壊効果を定量的に検討する方法を提案するとともに、植物用培養槽において、高攪拌で細胞増殖と色素生産が低下する現象をせん断強度をパラメーターとして整理している。
- (4) シソ細胞培養液ビンガム塑性流動の特性を示すことを認めている。細胞サイズの分布が一定である細胞懸濁液の見かけ粘度が細胞濃度の上昇とともに増大することを確認するとともに、培養終期で細胞のサイズが変化する時期において培養液の見かけ粘度は細胞塊の大きさでなく個々の細胞のサイズによって影響されることを見いだしている。
- (5) レーザー濁度計を用いることによって、培養液の色に影響されることなく、細胞濃度をオンライン計測できることを示し、従来困難とされていた細胞量のオンライン測定に道を開いている。

以上のように、本論文は植物細胞培養の実用化するための基盤となる新しい知見を得ており、生物化学工学、特に培養工学の分野に貢献するところが大きい。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。