

幹細胞バイオリアクター内流動のせん断応力解析

PIV analysis of shear stress in bioreactor for stem cell culture

井藤 徳一 (埼玉大院生)、平原 裕行 (埼玉大)、田子 大輔 (埼玉大院生)
川橋正昭 (埼玉大) Kerry Hourigan (Monash University)

Norikazu Ito, Graduate School of Science and Engineering, Saitama University
Hiroyuki Hirahara, Graduate School of Science and Engineering, Saitama University
Daisuke Tago, Graduate School of Science and Engineering, Saitama University
Masaaki Kawahashi, Graduate School of Science and Engineering, Saitama University
Kerry Hourigan, Monash University, Australia

概要

近年、幹細胞を培養する研究が盛んに行われている。その培養のための装置の一つがバイオリアクターである。細胞を効率よく培養するためにはバイオリアクター内の流れを把握する必要がある。また、バイオリアクター内の細胞の集積径を決定する大きな要因にコルモゴロフの渦等の微細渦が関係していることが明かにされている。そこで本研究では微細渦と細胞との成長の関係を明かにするためのステップとして円盤回転型バイオリアクター内の流れの構造を明らかにする。

Keywords: Bioreactors, Kolmogorov's scale, Stem Cell Culture, Low Reynolds number, Shear Stress, PIV Measurement

1. 緒論

近年、ES 細胞や神経幹細胞 (NSC) 培養の研究は、医療の面などで大きな可能性があると期待されている。これに、現在最も多く用いられているのはフラスコ型の攪拌器である。Sen らはこの攪拌器を用いて、細胞培養を行い、細胞の成長と流体力学の諸条件との関係を詳しく報告している。彼らの研究によれば、細胞の集積径がある限界値を超えると、栄養および酸素不足による壊死が発生し最終的に細胞全体が死に至ることが確認されている。この臨界集積径は $200 \mu\text{m}$ 程度である。この集積径は、コルモゴロフの渦スケールと 1 次相関があり、これを制御することが重要となる。

Fig.1 に Sen らの結果を示す。細胞集積径 D_{MAVG} とコルモ

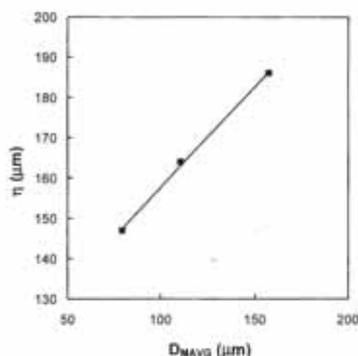


Fig.1. Influence of Kolmogorov's eddy scale (η) on the maximum mean aggregate diameter for NSC aggregates

ゴロフ渦スケール との関係が線形の関係にあることを示している。したがって、流れ場の乱れの統計量を得ることは非常に重要となる。

Hourigan らは、円筒の回転容器を用いて、様々な Re 数における実験を行いせん断応力を求めている。本研究では、Hourigan らと同様な実験装置を用いて、PIV により培養容器内の流れを計測し、瞬間のせん断応力分布を可能な限り詳細に求めることを目的としている。

2. 実験装置及び方法

実験装置を Fig.2 に示す。円筒攪拌容器は半径 $R=50\text{mm}$ のアクリル製で、底面が回転する攪拌器である。底面はモータ直結でインバータにより回転数を制御している。水面の高さ $H=2R$ としているので、アスペクト比 $H/R=2$ 、レイノルズ数が $Re=5236$ である。撮影時に屈折率の影響を低減するために容器を直方体容器で囲み、水を満たしている。速度計測は粒子画像計測法(PIV)により行った。光源には

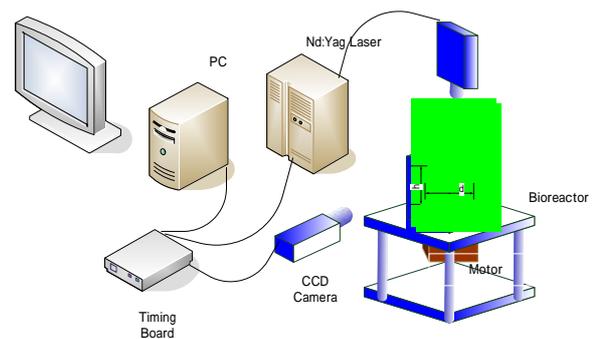


Fig.2 Experimental apparatus

Twin-Nd:YAG レーザを用い、カメラは CCD カメラ(IDT 社, SharpVision 1400, 1360x1036 pixels, 10bit)を用いて撮影を行った。作動流体には蒸留水を用い、トレーサには、公称直径 $8\mu\text{m}$ のポリマー粒子を使用した。PIV の解析は、IDT 社, ProVision を用いて行った。計測においては 1000 画像を取得し、平均速度と RMS 値の算出を行った。計測断面は回転中心軸を通る中央断面である。今回の実験では、回転円盤の回転数を 20rpm の一定とした。

3. 実験結果

3.1 全体領域の流れ

初めに、全体領域の流れを計測した。結果を Fig.3 に示す。PIV 計測におけるペア画像の時間間隔は 15ms である。Fig.3(a)は 500 のペア画像から得られた時間平均速度分布、Fig.3(b)は、その RMS 値を示している。基本的な流れは、円盤の境界層において形成される回転中心から周囲に向かう流れと回転中心上を下降する流れが発生し、らせん状の旋回流れを形成する。

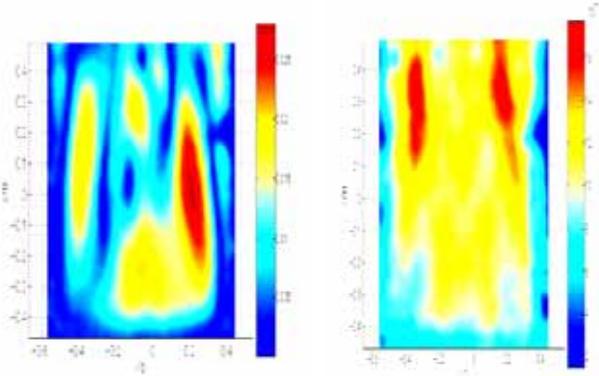


Fig.3. Velocity vectors of mean flow and RMS distribution of velocity W in a disk rotating bioreactor.

以上の速度分布を元に、速度変動の大きい領域を対象に計測を行った。今回、微細領域は、横 7mm \times 縦 5mm の領域を対象とした。計測対象は全体領域の計測で、乱れの大きかった $(x/D, y/H) = (0.25, 0.80)$ を左下の原点とする矩形領域である。ペア画像の撮影時間間隔は $y/H = 12\text{ms}$ で、1 回の撮影に 500 ペアの画像を取得した。

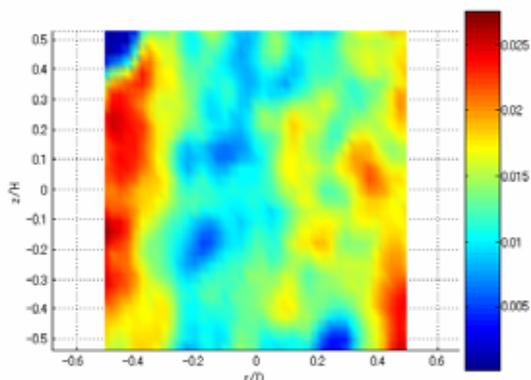


Fig.4 Instantaneous velocity vectors and contour at

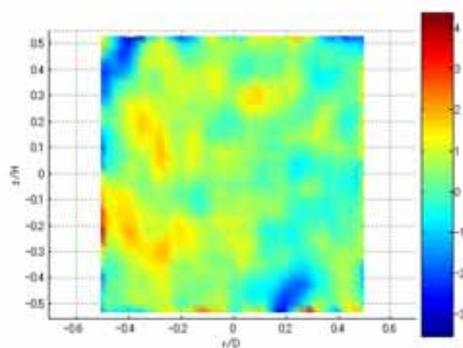


Fig.5 Instantaneous vorticity at $r/D=0.25, z/H=0.80$.

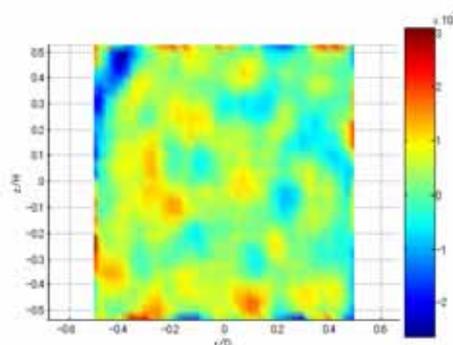


Fig.6 Instantaneous shear stress at $r/D=0.25, z/H=0.80$

Fig.5 から、渦度分布の乱れスケールはおおよそ $0.1D$ 程度と判断できる。つまり、 $700\mu\text{m}$ 程度の乱れが確認できた。Fig.6 のせん断力分布も同様に、 $0.1D$ 程度の間隔で変動している。強い領域では $1.0 \times 10^{-3}\text{Pa}$ のせん断力が発生していることが確認できる。しかしながら、 $200\mu\text{m}$ の乱れスケールを捕らえるためには、さらに撮影領域を小さくする必要がある。また、それを可能にするため、トレーサ粒子の直径がさらに小さいものを使用する必要がある。

4. 結言

本研究では回転円筒型バイオリアクター内の流れの構造を全体領域および局所領域について速度計測を行い、それによりせん断力分布を求めた。その結果、 $Re=5236$ においてバイオリアクター内の流れは変動を不安定で変動をしていることが分かった。せん断力の局所空間的分布は $700\mu\text{m}$ の変動が確認された。

5. 参考文献

- [1] A. Sen, M. S. Kallos, L. A. Behie: Expansion of mammalian neural stem cells in bioreactors: effect of power input and medium viscosity, Development Brain Research 134 (2002) 103-113
- [2] J. Dusing, J. Sheridan and K. Hourigan: Flows Within a Cylindrical Cell Culture Bioreactor with a Free-Surface and a Rotating Base, 15th Australasian Fluid Mechanics Conference
- [3] A. Sen, M. S. Kallos, L. A. Behie: Effects of Hydrodynamics on Cultures of Mammalian Neural Stem Cell Aggregates in suspension Bioreactors, Ind. Eng. Chem. Res. 2001,40,5350-5357
- [4] A. Sen, M. S. Kallos, L. A. Behie: Passaging Protocols for Mammalian Neural Stem Cells in Suspension Bioreactors, Biotechnol. Prog. 2002,18,337-345