

審査結果の要旨

論文提出者氏名 古山 桂太郎

本論文は、生体触媒固定化担体のためのアルギン酸ゲル皮膜マイクロカプセルの開発に関する研究を纏めたものであり、新規なカプセル作製方法の提案、形成挙動の解析、細胞固定化培養による実証、物質移動特性の解析、静電アトマイザーを用いた縮小化に関する検討などが含まれている。特に、本研究の特徴は、増粘剤として比較的 low molecular weight の polyethylene glycol (PEG) を利用することで、優れた物質移動特性を有するアルギン酸ゲル皮膜マイクロカプセルを実現し、その実用化への指針を示した点である。本論文は、全 7 章から構成される。

第 1 章では、本論文の意義を明確にするために、研究の背景およびマイクロカプセル型担体の特徴及びその作製法について述べている。

第 2 章では、本論文で新たに提案したアルギン酸ゲル皮膜カプセル[Alg(PEG)カプセル]の作製方法、その皮膜形成挙動、作製条件について詳しく述べている。本法では Alg(PEG)カプセルは、アルギン酸ナトリウム水溶液に増粘剤として PEG 添加 CaCl₂ 溶液を滴下することによって作製することができるが、装置サイズや攪拌速度などの条件検討により、粒径数 mm の球形カプセルを再現性よく安定的に作製できることを明らかにしている。また、カプセルの物質移動特性に重要な影響を与えるアルギン酸ゲルの皮膜厚さを、アルギン酸ナトリウム濃度、攪拌速度、PEG 分子量や濃度などを調整することによって制御することが可能であることも明らかにしている。

第 3 章では、Alg(PEG)カプセルからの PEG の漏出挙動とその核液粘度について検討を行っている。既報のアルギン酸ゲルカプセルの作製法では、増粘剤が核液内に残存し高粘度の核液が物質移動を抑制するために、事実上カプセルの利点が生かされてはいなかった。そこで、本論文では比較的 low molecular weight の PEG を増粘剤として用いることを提案し、カプセル形成後の増粘剤の外部への漏出を促進し、核液の低粘性化を実現している。アルギン酸ゲル皮膜カプセル核液の低粘性化は、本研究によって初めて実現されたものであり、マイクロカプセル固定化生体触媒の有効利用に資するものであると考えられる。

第 4 章では、Alg(PEG)カプセルによる酵母細胞とイチゴ培養細胞の固定化及びその培養について述べている。現在、頻用されているアルギン酸ゲルビーズによる細胞固定化では、ビーズ表面近傍での局所的な増殖のために、細胞の漏出や物質移動性能の低下が問題となっているが、本研究で提案した Alg(PEG)カプセルでは、細胞を含む低粘性核液をゲル皮膜で被覆するため、これらの問題点が解決されるものと期待される。実際、Alg(PEG)カプセルに酵母細胞を固定化して培養すると、細胞が核液に分散し細胞密集部位が存在せず、細胞の漏出なしに比較的長期間の培養が可能であることを明らかにしている。また、

Alg(PEG)カプセル中でのイチゴ培養細胞の固定化培養が可能であることも明らかにし、植物細胞の二次代謝物生産や人工種子として利用可能性を示唆している。

第 5 章では、Alg(PEG)カプセルの物質移動特性を明らかにしている。まず、皮膜を含めた Alg(PEG)カプセル中のグルコースの「見かけの物質移動係数」が、アルギン酸ゲルビーズあるいは xanthan gum を増粘剤として用いたアルギン酸ゲルカプセルより大きいことを示している。次に、細胞を固定化した場合には、他の方法による担体では、見かけの物質移動係数が減少したのに対し、Alg(PEG)カプセルの場合には、むしろ、その値が上昇することを明らかにした。これらの結果は、低粘度核液が流動可能であり、細胞の存在によってそれが促進されたことによるものと考えられ、増粘剤として PEG を用いたことによって物質移動性能が改善されたことを意味している。一方、Alg(PEG)カプセルからの高分子物質の漏出速度は、アルギン酸ゲルビーズよりも小さく、提案したカプセルを酵素の担体として利用する可能性があることも明らかにした。

第 6 章では、静電アトマイザーを利用した Alg(PEG)カプセルの縮小化について述べている。生体触媒を固定化した球形担体は、その粒径を小さくすることによって、物質移動性能や反応効率の向上が達成されることから、Alg(PEG)カプセルの縮小化の方法を確立することはバイオプロセスへの応用への面で、非常に価値があると考えられる。まず、PEG 含有 CaCl_2 溶液を滴下するノズルとアルギン酸溶液間に高電圧を印加することが可能な装置を開発し、これを静電アトマイザーとして利用することで、PEG 含有 CaCl_2 溶液の微小液滴の作製に成功し、その結果 Alg(PEG)カプセルの縮小化が達成された。また、ノズル径と印加電圧が、カプセル径とアルギン酸ゲル皮膜厚に及ぼす影響を明らかにしている。さらに、この縮小化 Alg(PEG)カプセル内での酵母細胞の増殖性を確認した。アルギン酸ゲル皮膜マイクロカプセルの縮小化は、本研究によって初めて実現されたものである。

第 7 章においては、本研究を総括し、今後の展望について述べている。

以上述べてきたように、本論文は、PEG を利用することで核液が低粘性となるアルギン酸ゲル皮膜マイクロカプセルを提案し、その作製条件や物質移動特性を明らかにすると同時に、それを担体とした固定化細胞培養や静電アトマイザーを用いた微小化に関する研究を行ったことで、その有用性を実証したものである。これらの成果は、マイクロカプセル固定化生体触媒における物質移動特性を理解する上で、極めて有用な知見を与えるばかりでなく、本法を利用したバイオプロセスの実現に資するものであり、今後更なる展開が期待される固定化生体触媒、あるいは、人工種子や人工細胞などに応用が可能であると考えられ、生物化学工学の発展に貢献するものである。

よって、本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。