

Oxygen Transfer Rate Coefficient of Membrane Aeration Bioreactor for Vero Cell Culture

전주미¹, 정연호¹, 김익환², 이상종¹, 장용근³, 전계택⁴
강원대학교 생명과학부, 생명공학부¹, 고려대학교 생명공학원²
한국과학기술원 생명화학공학과³, (주)에스티알바이오텍⁴
전화 (033)250-8547, FAX (033)241-4627

Abstract

Oxygen is a key substrate in animal cell metabolism and its consumption is thus a parameter of great interest for monitoring and control in animal cell culture bioreactor. The use of a gas-permeable membrane offered the possibility to provide the required quantity of oxygen into the culture, while avoiding problems of foaming or shear damage generally linked to sparging. For determining the optimum DO control strategy of this gas-permeable membrane aeration bioreactor, the oxygen transfer rate coefficient was measured with varying N₂ ratio in inlet air. The results showed that an increasing mass flow rate of nitrogen reduced the K_{La} value, and 5% nitrogen in air did not result in any oxygen limitation.

서론

Vero 세포의 대량배양 같은 동물세포배양은 호기성 배양이므로 배양액으로의 산소전달 효율을 증진시킴으로써 고농도 세포배양이 가능해진다. 그러나 배양액 내의 산소의 용해도는 매우 낮으며, 기체 산소가 용존산소가 되어 세포에 의해 이용될 때까지 여러 물질전달의 제한단계(limiting step)를 거치게 된다. Fig.1은 공급되는 기체산소가 배양액 내의 용존산소로 존재하기까지의 산소전달과정을 나타낸 모식도로서 산소전달 과정 동안에 주된 저항은 (1) the bulk gas, (2) the gas film, (3) the gas-liquid interface, (4) the liquid film, (5) the bulk liquid, (6) the liquid film surrounding the cells, (7) the liquid-cell interface, (8) the cell 등이다.

이러한 저항들의 존재는 시스템 내에서 용존산소의 농도구배가 형성되는 원인이 된다. 균질하게 혼합이 된 gas-liquid 조건하에서는 gas film과 gas-liquid interfacial 저항은 일반적으로 무시될 수 있으나, gas bubble에서 liquid film을 통과할 때의 저항은 매우 크다. 동물세포 배양시 이러한 저항을 극복하기 위해서는 크기가 작은 기체산소를 효율적으로 공급해주고 또한 적절한 교반속도와 impeller type의 선택 등을 통해 산소공급이 원활하게 이루어지도록 해야한다.

하지만 동물세포배양의 경우는 배양액 내의 주요 성분인 혈청에 포함되어 있는 여러 단백질 때문에 산소를 지속적으로 공급할 경우 거품이 과다하게 생성되는 문제점으로 인해 산소공급 시 각별한 주의가 필요하다. 또한 교반으로 인한 세포의 shear damage로 인해 일반적으로 교반 속도를 100rpm 이상에서 운전할 수 없기 때문에 효율적인 산소 전달을 위해서는

과다한 교반 없이도 K_{La} 를 증가시킬 수 있는 산소공급시스템을 사용해야 한다. 이러한 거품 문제와 shear damage 문제를 해결하기 위하여 보통의 통기형 교반 시스템 대신 membrane aeration system이 동물세포배양기에 이용된다. 본 연구에서는 이러한 membrane aeration system을 통해 공급되는 공기내의 질소 비율을 변화시켜 산소전달계수 K_{La} 를 측정하였고 그 결과를 위에서 설명한 산소 전달의 여러 제한 단계의 관점에서 해석함으로써, membrane aeration system에서의 용존산소를 일정 수준으로 제어하기 위한 전략을 개발하였다.

재료 및 방법

먼저 membrane을 bioreactor에 고정시켜 Vero 세포 배양용 배양액을 채운 후, 질소를 이용하여 용존 산소를 어느 정도의 농도까지(약 10-20% 용존 산소 수준) 떨어뜨린 후 다시 공기를 공급하면서 용존 산소의 변화를 조사하는 dynamic method를 이용하여 K_{La} 를 측정하였다. 이때 공기 중 질소 비율을 0-20%로 변화시키면서 공급하면서 이에 따른 K_{La} 의 변화를 조사하였다.

결과 및 고찰

공기내의 N_2 비율을 0-20%로 변화시키면서 membrane을 통해 배지내로 공급하였을 경우 Fig. 2에서 보는 바와 같이 질소의 비율이 증가함에 따라 K_{La} 가 감소하는 것과 질소가 5%로 공급되었을 경우 질소를 공급하지 않은 경우와 같은 K_{La} 값을 보임을 알 수 있었다. 따라서 5%정도의 질소가 포함되면 산소전달 문제가 발생되지 않아 Vero 세포 배양시 용존산소를 일정하게 유지시킬 경우 5% 질소 범위내에서 조절하는 것이 바람직함을 알 수 있었다.

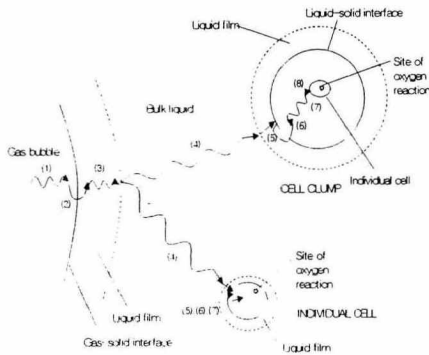


Fig.1 산소전달과정

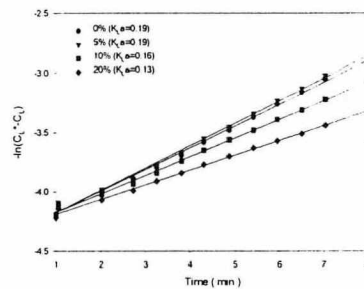


Fig.2 질소분율에 따른 K_{La} 의 변화

참고문헌

1. Paul Ducommun, Pierre-Alain Ruffieux, Maria-Pilar Furter, Ian Marison, Urs von Stockar, "A new method for on-line measurement of the volumetric oxygen uptake rate in membrane aerated animal cell culture."(2000), Journal of Biotechnology, 78, 139-147
2. Pierre-Alain Ruffieux, Urs von Stockar, Ian William Marison, "Measurement of volumetric and determination of specific oxygen uptake rates in animal cell cultures."(1998), Journal of Biotechnology, 63, 85-95