

基礎から学ぶ 生物化学工学演習

日本生物工学会 編

コロナ社

公益社団法人日本生物工学会 創立 90 周年記念事業
日本生物工学会編「基礎から学ぶ生物化学工学演習」編集委員会

委員長	おおまさ 大政	たけし 健史	(徳島大学)
副委員長	にのみや 仁宮	かずあき 一章	(金沢大学)
	おぎの 荻野	ちあき 千秋	(神戸大学)
編集委員	たきぐち 滝口	のぼる 昇	(金沢大学)
	なかしまだ 中島田	ゆたか 豊	(広島大学)

執筆者 (執筆順)

大政 健史 (徳島大学)	(1.1 節, 2.1 節, 2.2 節, 5.4 節, 付録)
荻野 千秋 (神戸大学)	(1.2 節, 3.2 節)
中島田 豊 (広島大学)	(3.1 節, 5.2 節, 5.3 節)
仁宮 一章 (金沢大学)	(3.2 節, 3.3 節, 4.1 節, 5.1 節)
滝口 昇 (金沢大学)	(4.2 節)

問題提供者 (五十音順)

青柳 秀紀 (筑波大学)	片倉 啓雄 (関西大学)
勝田 知尚 (神戸大学)	上平 正道 (九州大学)
黒澤 尋 (山梨大学)	本田 孝祐 (大阪大学)
本多 裕之 (名古屋大学)	山根 恒夫 (中部大学)

(2013 年 4 月現在)

まえがき

発酵生産技術に代表されるものづくりのためのバイオテクノロジーを支える「生物化学工学 (biochemical engineering)」は、わが国が伝統的に得意とし、世界をリードしてきた技術分野である。バイオテクノロジーを用いたものづくりにおいて、これほど多種多様の産業を産み出してきた国は、世界広しといえどわが国をおいてほかにはない。生物化学工学という学問体系の礎を築いた合葉修一先生 (大阪大学名誉教授) は、本分野の名前を冠した世界初の教科書『Biochemical Engineering』において「生物化学工学とは生物と化学工学の二つの discipline の間を橋渡しし、生物反応を産業規模にて行うための技術を担当する (Biochemical engineering is concerned with conducting biological processes on an industrial scale, providing the link between biology and chemical engineering.)」と述べているように、生物化学工学は生物を用いたものづくりの基盤をなす学問体系であり、わが国が世界をリードしてきた分野である。それは、生物化学工学に関連する教科書が海外では数えるほどしか出版されていないにもかかわらず、わが国においては多数出版されている事実が端的に示している。

一方、民間企業レベルでは、生物化学工学に精通した技術者の世代交代の時期を迎えており、この分野の人材不足が深刻になりつつある。それにもかかわらず、大学における生物化学工学分野のカリキュラムは、近年の生物分野の発展に伴ってますます複雑になり、多くの学生は産業レベルでのものづくりに必要な学問である生物化学工学について、十分な教育を受けることなく産業界に出て行かざるを得ない状況にある。そこで、生物化学工学分野の基礎学力を向上させ、既存の関連授業を補える大学院に進学する学生の自己学習書として、かつ企業にて活躍する入社間もない若い技術者にも活用可能な演習書の出版を

企画した。

本書は、わが国における本分野をリードしてきた日本生物工学会の創立 90 周年記念事業の一環として、日本生物工学会に所属する生物化学工学の研究者に協力をお願いし、工学系のバイオを学ぶ大学生、生物工学、生物化学工学関連の大学院進学を目指す大学生、バイオ関連企業の若手技術者や大学におけるバイオテクノロジー関連分野でかつ産業応用に関心のある若手研究者に向けた演習本として構成している。生物化学工学関連の授業の副読本として、また、自己学習における教材としてご活用いただければ幸いである。

本書は、多数の皆様方のご協力のもとに完成したものである。ご多忙中にもかかわらず、本書の執筆をお引き受けいただいた先生方、ならびに問題を提供、ご助言をいただいた先生方に厚く御礼申し上げます。また、本書の出版に多大なるご協力をいただいたコロナ社の方々にも、心から御礼申し上げます。

2013年7月

日本生物工学会理事・徳島大学

大政 健史

目 次

1. バイオケミカルエンジニアのための基礎

- 1.1 化学工学の基礎 1
 - 1.1.1 SI 単 位 1
 - 1.1.2 単位操作と反応速度論 2
 - 1.1.3 移動現象論 (物質移動・熱移動) 3
 - 1.1.4 収支 (物質収支・熱収支) 4 問題 1.1 ~ 1.4
- 1.2 生化学の基礎 7
 - 1.2.1 細胞 と は 7
 - 1.2.2 細胞膜の基本構造 8
 - 1.2.3 生物 (酵素) 反応と代謝反応 8 問題 1.5 ~ 1.12

2. バイオキャタリストの特性

- 2.1 酵素の特性とその利用技術 17
 - 2.1.1 酵 素 の 特 性 17 問題 2.1, 2.2
 - 2.1.2 酵素の固定化 20 問題 2.3, 2.4
 - 2.1.3 酵素の大量調製: 組換えタンパク質の大量発現系と改良 23 問題 2.5
- 2.2 微生物の特性とその改良技術 26
 - 2.2.1 微生物の栄養 (培地), 代謝, 増殖, 培養, スクリーニング 26 問題 2.6 ~ 2.13
 - 2.2.2 代謝制御発酵と代謝工学 37 問題 2.14
- 参 考 文 献 39

3. バイオリアクションにおける量論・速度論

- 3.1 微生物反応における量論 40
 - 3.1.1 生物化学量論 40
 - 3.1.2 収率 (物質基準) 41
 - 3.1.3 培養における化学量論式 41 問題 3.1
 - 3.1.4 従属栄養菌の増殖における炭素源の運命 43 問題 3.2
 - 3.1.5 いろいろな増殖収率の計算方法 45 問題 3.3 ~ 3.6
- 3.2 酵素反応における反応速度論 53
 - 3.2.1 酵素反応の速度 53
 - 3.2.2 迅速平衡法によるミカエリス・メンテンの式の導出 54
 - 3.2.3 定常状態法によるミカエリス・メンテンの式の導出 55 問題 3.7 ~ 3.9

- 3.3 微生物における反応速度論 **63**
 - 3.3.1 菌体の比増殖速度 **64** 問題 3.10, 3.11
 - 3.3.2 基質の比消費速度 **67** 問題 3.12

4. バイオリアクターの設計

- 4.1 酵素バイオリアクターの設計 **70**
 - 4.1.1 酵素バイオリアクターの種類 **70**
 - 4.1.2 酵素バイオリアクターの設計方程式 **71**
 - 4.1.3 遊離酵素を用いた回分反応(CSTRの場合) **73** 問題 4.1, 4.2
 - 4.1.4 固定化酵素を用いた連続反応(CSTRとPFRの比較) **77** 問題 4.3, 4.4
- 4.2 微生物バイオリアクターの設計 **83**
 - 4.2.1 回分培養 **83** 問題 4.5, 4.6
 - 4.2.2 連続培養 **87** 問題 4.7, 4.8
 - 4.2.3 流加培養 **90** 問題 4.9~4.12

5. バイオプロセスにおける単位操作

- 5.1 バイオリアクターにおける殺菌・除菌 **98**
 - 5.1.1 殺菌速度論 **98** 問題 5.1
 - 5.1.2 回分殺菌 **101** 問題 5.2
 - 5.1.3 連続殺菌 **105** 問題 5.3
 - 5.2 バイオリアクターにおける通気・攪拌 **108**
 - 5.2.1 バイオリアクター内における酸素の移動現象 **108**
 - 5.2.2 バイオリアクター内における酸素の収支 **109** 問題 5.4
 - 5.2.3 培養槽の基本構成 **112**
 - 5.2.4 酸素移動容量係数と操作条件の相関式 **114** 問題 5.5
 - 5.2.5 スケールアップ **117**
 - 5.2.6 酸素移動速度を指標としたスケールアップの手順 **119** 問題 5.6
 - 5.3 バイオリアクターにおける計測と制御 **124**
 - 5.3.1 培養槽内環境の計測 **124**
 - 5.3.2 制御の基礎 **125** 問題 5.7~5.10
 - 5.3.3 培養槽の計測・制御の実際 **132** 問題 5.11
 - 5.4 バイオプロダクトの分離・精製 **135**
 - 5.4.1 はじめに **135**
 - 5.4.2 遠心分離のおさらい **136**
 - 5.4.3 その他の分離手法 **138** 問題 5.12~5.16
- 参考文献 **143**

1

バイオケミカルエンジニア のための基礎

1.1 化学工学の基礎

この本のタイトルにもなっている「生物化学工学」とは、「生物」＋「化学工学」から成り立つ学問である。すなわち、化学工学の体系を、生物を用いた反応・物質生産に応用したものが「生物化学工学」である。もちろん、化学反応とは異なり、生物を用いた系では生物そのものや、それを構成するパーツ（遺伝子やタンパク質、細胞など）の解明、理解そして制御が欠かせない。一方、化学工学の基本的考え方の理解も欠かせない分野である。そこでこの節では、おさらいとして、化学工学的な考え方の基礎について概説する。

1.1.1 SI 単 位

わが国では、単位について初めて学習するのは、小学校低学年になる。まずは身近なものの長さを実感した後、mm, cm, m, といった単位量を用いて長さを測定することにより、長さの単位と接頭語、さらにこれが世界共通のものさしであることを知る。そして、かさ（嵩）や重さを測定することにより、 ℓ （またはL）やkgといった別の単位が存在することを知る。この「別の単位」という概念によって、「 $1\text{ kg}=1\text{ m}$ 」といった、異なる単位に属するものが等号で結ばれることがないことも理解できる。

化学工学や生物化学工学においても、この基本はまったく同じである。ただし、単位の組合せがとて複雑になるために、「 $1\text{ kg}=1\text{ m}$ 」といった間違いがわかりにくくなる点が大きな違いである。国際単位系（SI, The international system of units）とは、世界共通のものさしである。これまで各国で別々の単

位が用いられてきたものが、このSI単位系で統一されることにより、たがいの比較や利用がより簡単にできるようになっている（表1.1、表1.2）。

表1.1 SI基本単位

量	名称	記号
時間	秒	s
長さ	メートル	m
質量	キログラム	kg
温度	ケルビン	K
物理量	モル	mol

表1.2 よく使われるSI接頭語

量	接頭語	記号
10^{12}	ギガ	G
10^9	メガ	M
10^3	キロ	k
10^{-2}	センチ	c
10^{-3}	ミリ	m
10^{-6}	マイクロ	μ
10^{-9}	ナノ	n
10^{-12}	ピコ	p

大文字・小文字の区別もある

一方、このSI単位系への統一が世界的に提唱されてかなりの年月が経つが、いまだにすべての分野でSI単位系で統一されているわけではない。とりわけ、生物の世界ではこれまで慣用的に用いられている単位系との換算が必要となる。

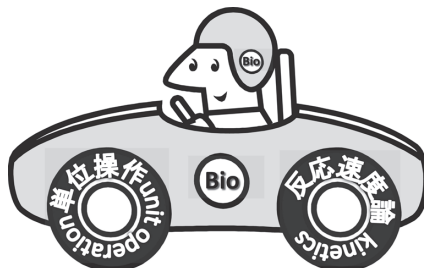


1.1.2 単位操作と反応速度論

単位操作 (unit operation) とは、単位という名前がついているがSI単位とはまったく関係のない言葉（概念）である。この単位操作という言葉（概念）は、化学工学に特有の基本的概念（考え方）になる。この考え方は、多くのステップからなる化学プロセスを「基本的な操作」に分割することから始まる。そして、その基本的操作（単位操作）に固有の基本的かつ共通な操作を抜き出して、これをまとめること（体系化）により、各ステップの原理を理解しやす

く、かつ合理的に設計・制御が可能となる。この概念をしっかりと理解することにより、複雑な工程をたどる生物によるものづくりも整理整頓されてわかりやすくなる。

さて、ある意味でこの単位操作と車の両輪をなすのが**反応速度論**（反応工学, kinetics）になる。上記のように基本的な操作について整理整頓して考える単位操作の概念は、1920年代に考案されたが、しばらくは工学的な体系化は順調には進まなかったようである。これは、単位操作に分けることにより、個々のステップの原理や反応機構には興味を持たれて解明が進んだが、実際の反応装置のスケールがなかなか決められなかったからと考えられている。実際の反応装置のスケールを決めるのは、どれぐらいの速度で原料が入ってきて、変化していくかという、時間当りの変化に関する考え方（速度論）がとても重要であり、これらをとらえる考え方が反応速度論になる。つまり、反応装置を設計するためには、単位操作ごとに分ける作業と、それらの各ステップの反応がどれぐらいの速度で進むかということに対する理解が必要となる。



単位操作と反応速度論は車の両輪・・・

1.1.3 移動現象論（物質移動・熱移動）

「ものが移動する」ということ、すなわち物質移動はとても身近な現象の一つである。化学プロセス・生物プロセスにおけるものの移動は、主として分子の移動を取り扱うため、目に見えてとらえられることがあまりないが、重要な現象の一つである。**移動現象論**（transport phenomena）と呼ぶ場合は、もの

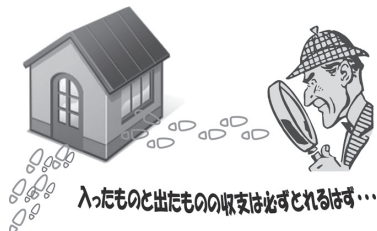
の移動だけでなく、熱や運動量の移動もまとめて取り扱う考え方である。

もの、例えば分子の移動は、水の中に垂らしたインクが広がっていくように、濃度の濃いところから薄いところに移動していく。もちろん、流れに沿って移動するものもあれば、拡散という現象によって移動していくものもある。では、これらの移動はどうして起こるのであろうか。これは、温度や濃度が「一様でない」、すなわち温度の高い・低いや、濃度の濃い・薄いといった状態から、同じ温度、同じ濃度といった状態（平衡状態）になるまで移動していくわけである。移動現象論はこの移動を速度論的に取り扱う考え方であり、どれぐらいの時間で、どこからどこに移動するかをとらえる学問体系である。



1.1.4 収支（物質収支・熱収支）

最後に大事な考え方が**収支**（balance）である。「無から有は生じない」ということわざがあるが、化学プロセスやより複雑で生物の関与するプロセスでも、原材料として使われたものは雲散霧消をしてどこかに消えてなくなるわけではなく、生産物や中間反応物など必ずどこかに存在する。この収支は、もの（物質）を対象としても、熱を対象としても収支をとることができる。もちろん、それぞれの元素ごとでも収支をとることができる。上記の単位操作、反応速度論、移動現象論と合わせて考えることにより、化学プロセスのみならず、全体を複雑な工程をたどる生物によるものづくりプロセスにおいても、合理的な設計・制御が可能となる。



問題 1.1 収支をとってみよう：培養槽に水を満たす

発酵槽に培地を準備しようとしている。500 L の培養槽（ワーキングボリュームは 400 L）に、蛇口から水道水を入れ、粉末の培地を入れ、攪拌して溶かそうと考えた。どれぐらいの時間、水を入れるとちょうど満たすことが可能か。なお、水道水の蛇口を全開すると、手元にあるバケツを 17 s で満杯にすることができた。なお、このバケツの中の水の重さを測定すると 19.2 kg であった。水の密度は 1000 kg/m^3 とする。

▶ 解答例 ◀

水の密度 1000 kg/m^3 より、19.2 kg の水は、 0.0192 m^3 に相当する。17 s で満杯になるということは、水道を全開にした際の供給速度は $1.13 \times 10^{-3} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ になる。

$$400 \text{ L} = 0.4 \text{ m}^3 \text{ より、} \frac{0.4 \text{ m}^3}{1.13 \times 10^{-3} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}} = 354 \text{ s}$$

蛇口を全開にして、5 分 54 秒、水を満たすとちょうど 400 L となる。

問題 1.2 定数の単位換算

気体定数、 $R = 0.08205 \dots \text{ L atm/mol K}$ を SI 単位系で表現せよ。SI 単位系では、圧力 [atm] は補助単位である Pa ($1 \text{ Pa} = 1 \text{ J m}^3 = 1 \text{ m}^{-1} \text{ kg s}^{-2}$)、体積 [L] は m^3 を用いる。ただし、標準大気圧 $1 \text{ atm} = 0.101325 \text{ MPa}$ とする。

▶解答例◀

$$1 \text{ L} = 10^{-3} \text{ m}^3, \quad 1 \text{ atm} = 0.101325 \times 10^6, \quad \text{Pa} = 1.01325 \times 10^5 \text{ Pa}$$

$$R = 0.08205 \times 10^{-3} \times 1.01325 \times 10^5 \text{ Pa mol}^{-1} \text{ K}^{-1} = 8.314 \text{ m}^3 \text{ Pa mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$$

さらに、 $1 \text{ Pa} = 1 \text{ J m}^{-3} = 1 \text{ m}^{-1} \text{ kg s}^{-2}$

$$R = 8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1} = 8.314 \text{ kg m}^2 \text{ s}^{-2} \text{ mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$$

問題 1.3 搾ってみたら：水分含量

酒粕とは、日本酒製造の際に出るもろみを圧搾して、残った後の白色の固体である。日本酒の製造工程では、酵母や溶けきっていない米から成り立った固体物として、最後に分離される。いま、ざっと圧搾して得られた水分 70 % (w/w) の酒粕 100 kg を、さらに圧搾して水分 51 % (w/w) の酒粕を得た。酒粕の重さは何 kg になっているか。

▶解答例◀

「水分 70 % の酒粕」100 kg 中には、30 kg の酒粕と 70 kg の水分が存在する。水分 51 % の酒粕の重さを x kg とすると $(x-30)/x=0.51$ となる。すなわち、 $x=61.2$ kg と算出できる。

問題 1.4 簡単なようで難しい濃度調整

硫酸タンク内の硫酸の密度が 293 K で 1200 kg/m^3 でなければならないのに、吸水によって 1120 kg/m^3 と少し低くなっていた。そこで、密度 1600 kg/m^3 の硫酸を加えて 1200 kg/m^3 に調整したい。タンク内の硫酸 100 kg に対して、密度 1600 kg/m^3 の硫酸を何 kg 加えてやればよいか。密度 1120 kg/m^3 , 1200 kg/m^3 , 1600 kg/m^3 の硫酸濃度はそれぞれ、 200 kg/m^3 , 300 kg/m^3 , 800 kg/m^3 と仮定する。

▶解答例◀

簡単にするために、それぞれの溶液を % (w/w) に換算する。

$$\text{溶液①} \quad 1120 \text{ kg/m}^3 \rightarrow \frac{200 \text{ kg/m}^3}{1120 \text{ kg/m}^3} = 0.1786 \quad (17.86 \% \text{ (w/w)})$$

$$\text{溶液②} \quad 1200 \text{ kg/m}^3 \rightarrow \frac{300 \text{ kg/m}^3}{1200 \text{ kg/m}^3} = 0.25 \quad (25 \% \text{ (w/w)})$$

$$\text{溶液③} \quad 1600 \text{ kg/m}^3 \rightarrow \frac{800 \text{ kg/m}^3}{1600 \text{ kg/m}^3} = 0.5 \quad (50 \% \text{ (w/w)})$$

いま，溶液① 100 kg に溶液③ X [kg] を足して，溶液②を作成する。

すなわち

$$\frac{100 \text{ kg} \times 0.1786 + X \text{ [kg]} \times 0.5}{100 \text{ kg} + X \text{ [kg]}} = 0.25$$

$$100 \times 0.1786 + 0.5X = 100 \times 0.25 + 0.25X$$

したがって

$$0.25X = 100 \times 0.25 - 100 \times 0.1786 = 7.143$$

$$\therefore X = 28.57 \text{ kg}$$

1.2 生化学の基礎

1.2.1 細胞とは

細胞は，細胞膜で包括された生物の基本単位である。微生物および植物細胞には細胞壁があるが，動物細胞には細胞壁はない。大腸菌，酵母，ヒト肝細胞の大きさはそれぞれ，1，100 および $1000 \mu\text{m}^3$ である。細胞は，外部から細胞膜を通して栄養源となる基質を摂取し，数千種類の酵素反応により代謝産物を生成し，細胞構成成分やエネルギー源として利用したり，細胞外に分泌や排出したりする。

生物は，一般に動物・植物，あるいは動物・植物・菌類に分離される。微生物を含む菌類は，前者の分類によれば植物に含まれることになる。一方，生物を細胞構造に基づいて分類すれば，原核生物と真核生物に分類できる。真核生物には核膜があり，核を明瞭に識別できる。原核生物には核膜はなく，染色体 DNA が細胞質内に浮遊していることが最大の特徴である。

索引

【あ】	指数的流加培養	92	【は】		
	収支	4		反応速度論	3
アレニウスの式	スクリーニング	37		バイオプロセス	135
異化	スケールアップ	117		フィードバック制御	125
移動現象論	生産物収率	41		平衡状態	4
ウォッシュアウト	生物プロセス	135		包括法	21
遠心効果	増殖収率	41		翻訳	14
	相対遠心力	137			
【か】	【た】		【ま】		
回分殺菌	単位操作	2		ミカエリス・メンテンの	
回分培養	担体結合法	21		速度式	53
化学合成従属栄養微生物	沈降係数	138		【ら】	
架橋法	転写	14		ラインウィーバー-	
基質	同化	43		パークプロット	58
固定化酵素	動的測定法	110		流加培養	90
	【な】			連続殺菌	105
【さ】	二重境膜説	108		連続培養	87
酸素移動速度					
酸素消費速度					
【英字】	OTR	109		PI 制御	130
	OUR	110		PID 制御	131
CSTR	PFR	71			
Monod の式	P 制御	127			

基礎から学ぶ生物化学工学演習

Basic Biochemical Engineering with workbook

©公益社団法人 日本生物工学会 2013

2013年9月2日 初版第1刷発行

検印省略

編者 公益社団法人
日本生物工学会
発行者 株式会社 コロナ社
代表者 牛来真也
印刷所 萩原印刷株式会社

112-0011 東京都文京区千石 4-46-10

発行所 株式会社 コロナ社

CORONA PUBLISHING CO., LTD.

Tokyo Japan

振替 00140-8-14844・電話 (03) 3941-3131 (代)

ホームページ <http://www.coronasha.co.jp>

ISBN 978-4-339-06744-6 (安達) (製本：愛千製本所)

Printed in Japan



本書のコピー、スキャン、デジタル化等の無断複製・転載は著作権法上での例外を除き禁じられております。購入者以外の第三者による本書の電子データ化及び電子書籍化は、いかなる場合も認めておりません。

落丁・乱丁本はお取替えいたします