

**研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム**  
**FS ステージ シーズ顕在化タイプ 事後評価報告書**

研究開発課題名	: 中空系を用いた多能性幹細胞の大量培養法の開発
プロジェクトリーダー	: 旭化成株式会社
所属機関	
研究責任者	: 水本 博 (九州大学)

### 1. 研究開発の目的

再生医療の実用化の為に多能性幹細胞を大量、安価、かつ安定的に提供する手段が強く望まれている。多能性幹細胞は多数の細胞が接触したコロニー状で増殖する。そこで、本研究ではこの特性に着目し、半透膜から構成される内径数百 $\mu\text{m}$ 程の中空系の内腔を培養空間とするマウス ES 細胞培養とヒト iPS 細胞三次元培養を検討する。中空系内腔を培養空間とすれば、増殖過程において細胞間の接触が保たれる。この結果、細胞間で情報伝達が行われ、未分化性を維持するのに相応しい環境が提供されることが期待される。また、細胞培養空間が規定される為、十分な酸素や栄養等の供給が可能であり、大量培養を実現する装置設計が容易となる。

### 2. 研究開発の概要

#### ①成果

$10^7$  細胞スケールの中空系培養でマウス ES 細胞が未分化性を維持したまま大量培養出来ることが見出されていたので、 $10^8$  細胞スケールの細胞培養が行える中空系モジュールを設計、作製して、マウス ES 細胞の大量培養を行った。小スケールと同じ条件で大量培養が行えることを確認して、中空系による多能性幹細胞培養のスケールアップに道を拓いた。中空系を用いたヒト iPS 細胞培養を実現すべく、培養条件に関する検討を行った。ヒト iPS 細胞はマウス ES 細胞と大きく挙動が異なったが、 $10^6$  細胞スケールでは中空系培養でヒト iPS 細胞が未分化性を維持したまま増殖する条件が見出され、大量培養への手掛りが得られた。

研究開発目標	実施内容	達成度
①大量培養中空系バイオリアクターの作製	$10^7$ 細胞レベルでの培養実績をもとに $10^8 \sim 10^9$ 細胞レベルでの灌流培養が可能なバイオリアクターの設計及び作製を行った。	① $10^8$ 細胞レベルでの培養が可能な培養体積 $0.14\text{cm}^3$ の中空系型バイオリアクターを開発した。
②中空系培養によるマウス ES 細胞の大量培養	①のバイオリアクターを用いたマウス ES 細胞の灌流培養を行った。	②中空系型バイオリアクターを用いて $10^8$ 細胞レベルでの大量培養を達成した。
③中空系培養によるヒト iPS 細胞の大量培養	マウス ES 細胞での培養実績をもとに $10^6 \sim 10^7$ 細胞レベルでの培養を行った。	③ $10^7 \sim 10^8$ 細胞レベルでの大量培養を達成するには至らなかったが、 $10^6$ 細胞レベルで培養の基礎条件を確立することが出来た。

## ②今後の展開

A-STEP 研究期間内にヒト iPS 細胞の大量培養の可能性は見出されたものの、研究継続の判断を行うには不十分なものであった。研究期間終了後も、引き続き、「学」での研究の進捗をフォローして、中空系モジュールを用いてヒト iPS 細胞が大量培養可能な条件が見出されたら、再度、研究の継続を検討したい。

## 3. 総合所見

部分的な目標達成であるが、今後の取り組み次第でイノベーション創出の可能性はある。

中空系を用いたマウス ES 細胞の大量培養方法については目処を得たが、iPS 細胞での条件設定までは至らなかった。今後の検討で、現在有望視されている浮遊培養法に対する本技術の優性を明確にすることが出来れば、有用性の高い技術となる。