

未来社会創造事業 探索加速型
「持続可能な社会の実現」領域
終了報告書(探索研究)

令和元年度
終了報告書

平成 30 年度採択研究開発代表者

[研究開発代表者名：清水 達也]

[学校法人東京女子医科大学先端生命医科学研究所・所長/教授]

[研究開発課題名：藻類と動物細胞を用いた革新的培養食肉生産システムの創
出]

実施期間：平成 30 年 11 月 15 日～令和 2 年 3 月 31 日

§ 1. 研究実施体制

(1)「研究開発」グループ(東京女子医科大学)

① 研究開発代表者:清水 達也 (東京女子医科大学先端生命医科学研究所、所長・教授)

② 研究項目

- ・藻類培養と栄養素抽出
- ・筋芽細胞の大量培養
- ・立体筋組織の作製
- ・培養食肉の評価
- ・社会実装に向けた取り組み

(2)「研究開発」グループ(早稲田大学)

① 主たる共同研究者:坂口 勝久 (早稲田大学大学院先進理工学研究科、准教授)

② 研究項目

- ・筋芽細胞の大量培養
- ・立体筋組織の作製
- ・培養食肉の評価

(3)「研究開発」グループ(インテグリカルチャー株式会社)

① 主たる共同研究者:川島 一公 (インテグリカルチャー株式会社、CTO)

② 研究項目

- ・藻類培養と栄養素抽出
- ・筋芽細胞の大量培養
- ・培養食肉の評価
- ・社会実装に向けた取り組み

§ 2. 研究実施の概要

本研究は材料ならびに生産プロセスを含め環境変化による影響のリスクを極力減じた安全・安心・安定な培養食肉生産システムを構築し、さらに消費者の多様なニーズにマッチした栄養価や食感を有した培養食肉の生産をティッシュエンジニアリングによって実現することを目標とした。これらを実現するため、①元来穀物由来である動物細胞の培養液中の栄養素の代替として藻類抽出物を用いる。②非常に高価な動物細胞の培養液中の血清・増殖因子の代替として、複数の動物細胞の培養ユニットを連結した還流システムの上清を用いる。③培養食肉の配向性・肥大・厚みを制御するため表面微細加工技術、電気・伸展刺激による筋組織トレーニング技術、細胞シート積層化と微細流路導入による還流培養技術を用いる。これら独自のテクノロジーの結集により世界に類を見ない未来型の培養食肉生産システムの創製を目指した。

①に関しては、酸・アルカリ濃度、温度、処理時間などの諸条件を最適化した加水分解処理により複数の藻類から動物細胞の培養に必要な基本的な栄養素であるグルコース、アミノ酸、ビタミンが抽出可能であることを明らかにした。さらに、それらの藻類抽出液が通常用いられている培養液の栄養素の代替となることを確認できたことから、食肉生産プロセスにおいて穀物を藻類に置換できることを示唆する大きな成果を得たといえる。この

ような試みはこれまで世界に類を見ない独自の開発技術であり、特許申請および論文投稿を行った。今後は藻類専門家との連携により、より効率的に栄養素が抽出可能な藻類株および抽出法を選定するとともに大量培養・栄養素抽出装置を構築し、培養食肉生産システムに組み込んでいく。

②に関しては、複数の動物細胞を還流培養することで得られた上清を用いてウシ筋芽細胞の増殖培養が可能であることを示した。これまでにマウス株化細胞を用いて同様の結果が得られていたが、培養食肉生産に向けて選択したウシ筋芽細胞でもその効果が確認されたことから、CulNet システムの原理の妥当性を裏付けることができたと同時に、本研究において有効な手段であることが示された。CulNet 上清は目標値であった 300 µg/ml を十分に超えるタンパク質濃度を有し、ウシ筋芽細胞の増殖率は当初の目標を超えるものであった。今後、CulNet システムで培養する動物細胞種、細胞数、培養液量、灌流速度を最適化することで接着率や増殖率のさらなる向上を図り、筋芽細胞の低価格大量培養を実現できると考えられる。CulNet システムは無血清培養による細胞培養を実現するものであり、培養食肉生産のみならず様々な細胞培養システムに応用可能であると期待されることから、培養産業への将来的な寄与度は極めて大きなものになると期待される。

③の作製筋組織の配向性制御に関しては、親水-疎水のストライプパターンに表面微細加工した培養器材を用いてウシ筋芽細胞を培養することで筋線維がほぼ一方向に均一に並んだ筋組織(配向度: $0.6 \pm 1.8^\circ$)を形成することに成功した。この成果から、培養肉としての食感の向上に寄与すると考えられる筋組織の配向構造制御を実現したと言える。さらに、独自の培養方法によって筋収縮するようになるまでに成熟したウシ筋組織を作製することに成功したことから、生体に近いウシ筋組織を作製する目標をある程度達成できた。これらの成果から電気刺激に応じた筋組織の収縮弛緩制御が可能となったため、電気刺激の有無による筋組織肥大化を目指して引き続き研究を行っていく。

作製筋組織の肉厚化に関しては、独自の細胞シート技術を基盤にウシ筋芽細胞シートを 10 層積層化することで、0.8 mm の厚さを持つ高細胞密度のウシ筋組織の作製に成功した。したがって、大量のウシ筋芽細胞を回収することが可能となれば、作製した立体筋組織を12個重ねることで約 1 cm の筋組織の作製も実現できるはずである。一方、短期間で一気に積層した場合は細胞シート間の接着や細胞間の ECM が不十分と考えられるため、厚い組織を作製した後にある程度の期間継続して培養する必要があると考えている。その場合、高細胞密度の組織内に酸素・栄養の供給が必要となることから、生体血管様の微細管腔構造を導入して培養液を組織内に還流することで厚みのある立体筋組織を長期間培養することを考えている。その具体策として、本研究では細胞シート間へマイクロワイヤを挿入し、組織作製後にこれらを引き抜くことで還流可能なマイクロ流路を組織内に形成させることに成功しており、肉厚なウシ筋組織の長期培養が実現可能であることを示すことができた。

本研究において達成された各技術を集結させることで、多様な栄養価と食感を持つ培養食肉の作製技術を確立できると期待している。本研究の成果を基盤として引き続き研究開発を拡大していくことで、日本発世界初の培養食肉生産システムを実現できると考えており、その成果は深刻化する世界の食料不足・飢餓の救済に貢献するとともに、持続的で安全・安心な食肉の供給を可能にする。また、消費者の多様なニーズに対応するとともに、より健康的な食肉生産を実現することで新しい食文化の形成、医療へも貢献できると期待している。

本研究成果の論文

Okamoto Y, Haraguchi Y, Sawamura N, Asahi T, Shimizu T. Mammalian cell cultivation using nutrients extracted from microalgae. *Biotechnol Progress*. 2020;36:e2941.