

明 細 書

発明の名称：細胞培養システム、培養肉、及び培養上清

技術分野

[0001] 本発明は、複数の細胞培養装置を接続して成る細胞培養システムと、この細胞培養システムにより製造される培養肉及び培養上清に関する。

背景技術

[0002] 近年、「持続可能な開発目標（SDGs）」の達成に向け、世界各国で真に持続可能な食料生産システムの開発が行われており、中でも「培養肉」に関する開発が広がりを見せている。また、本技術分野の背景技術として、例えば特許文献1には、第1のチャンバー及び第2のチャンバーを備えた細胞培養装置が記載されている。特許文献1において、第2のチャンバーは、例えばベロー形状で構成されており、第2のチャンバーが体積調整手段により伸縮することで、両チャンバー間を液体及び空気が流通可能な構成となっている。

[0003] さらに、特許文献1の細胞培養装置は、第1のチャンバー内に、細胞付着及び生育のための生育基質手段を備えている。この生育基質手段は、第2のチャンバーが伸縮することで、酸素を受け、または培養培地中に浸漬されて、間欠的かつ周期的に、しかし間接的に、薄いガス／生育培地界面を介してガス環境に晒される。こうして、細胞の生育及び細胞生成物の生成が促進される。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特許第4430317号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] しかしながら、特許文献1は、細胞培養装置単体の構成と使用方法（制御方法）を開示しているだけであり、細胞培養装置を複数組み合わせた細胞培

養システムの具体的な構成とその制御方法について何ら開示していない。

- [0006] 本発明は、このような実情に鑑みてなされたもので、その主な目的は、細胞の培養を効率化した新たな細胞培養システムを提供することにある。また、その細胞培養システムにより製造される培養肉及び培養上清を提供することも、本発明の別の目的である。

課題を解決するための手段

- [0007] 上記目的を達成するために、本発明の第一の態様は、複数の細胞培養装置が接続され、前記複数の細胞培養装置の間で培養液が移動する細胞培養システムであって、前記複数の細胞培養装置のうち、少なくとも1つの前記細胞培養装置の細胞が前記培養液で満たされる第1の状態となる一方で、残りの前記細胞培養装置の細胞が前記培養液で満たされない第2の状態となるように、前記複数の細胞培養装置のそれぞれに貯留された前記培養液の液面高さが制御される、ことを特徴とする。

- [0008] 本発明の第二の態様は、上記した細胞培養システムにより製造された培養上清である。

- [0009] 本発明の第三の態様は、上記した細胞培養システムにより製造された培養肉である。

発明の効果

- [0010] 本発明によれば、細胞の培養を効率化した新たな細胞培養システムを提供できる。また、その細胞培養システムにより製造される培養肉及び培養上清を提供できる。なお、上記した以外の課題、構成及び効果は、以下の実施形態の説明により明らかにされる。

図面の簡単な説明

- [0011] [図1]第1実施形態に係る細胞培養システムの全体構成図。

[図2]細胞培養装置の縦断面を模式的に示した図。

[図3]細胞培養装置の平面を模式的に示した図。

[図4]棚の詳細を示す平面図。

[図5]細胞培養の実験結果を示す図。

[図6]細胞数と消費グルコース量の実験結果を示す図。

[図7]第2実施形態に係る細胞培養システムの全体構成図。

発明を実施するための形態

[0012] 以下、本発明の実施形態について、動物細胞を培養する場合を例に挙げて、図面を参照しながら説明する。

[0013] (第1実施形態)

本発明の第1実施形態に係る細胞培養システムS1について説明する。図1は、第1実施形態に係る細胞培養システムS1の全体構成図である。図1に示す細胞培養システムS1は、例えば3つの細胞培養装置100、200、300、及び1つのバッファ槽400が、流路L1～L4を介して環状に（直列に）接続して形成される。ここで、流路L1～L4は、例えば管またはホースである。

[0014] 細胞培養装置100、200、300は、それぞれ天秤80、81、82に載置されている。そして、細胞培養装置100、200、300には、互いに異なる動物細胞が供給されている。動物細胞としては、筋肉由来の細胞、皮膚由来の細胞、腸由来の細胞、心臓由来の細胞、脳由来の細胞、胃由来の細胞、胚膜由来の細胞、肝臓由来の細胞、腎臓由来の細胞、および肺由来の細胞が挙げられる。本実施形態において、例えば、細胞培養装置100には肺由来の細胞が、細胞培養装置200には肝臓由来の細胞が、細胞培養装置300には筋肉由来の細胞が、それぞれ供給されている。

[0015] バッファ槽400は、培養上清を貯留するためのステンレス製またはガラス製の容器である。蓋405を閉めることで内部が密閉される。

[0016] 各流路L1～L4には、ポンプ65～68が設けられている。ポンプ65～68はそれぞれ図示しないモータで駆動する。モータの回転速度が変わることで、ポンプ65～68の流量も変化する。

[0017] ポンプ65は、バッファ槽400内の培養液50を吸入して細胞培養装置100に向けて吐出する。ポンプ66は、細胞培養装置100内の培養液50を吸入して細胞培養装置200に向けて吐出する。ポンプ67は、細胞培

養装置 200 内の培養液 50 を吸入して細胞培養装置 300 に向けて吐出する。ポンプ 68 は細胞培養装置 300 内の培養液 50 を吸入してバッファ槽 400 に向けて吐出する。このように構成されているので、全てのポンプ 65 ～ 68 が駆動すると、培養液 50 が図 1 の矢印の方向に循環する。

[0018] コントローラ 70 は、ポンプ 65 ～ 68（より具体的には、ポンプ 65 ～ 68 を駆動するモータ）と電気配線 E1 ～ E4 を介して接続されていると共に、天秤 80, 81, 82 と電気配線 E5 ～ E7 を介して接続されている。天秤 80, 81, 82 により検出される細胞培養装置 100, 200, 300 の重量データは、電気配線 E5 ～ E7 を介してコントローラ 70 に入力される。また、コントローラ 70 は、細胞培養装置 100, 200, 300 にそれぞれ取り付けられた各種センサ（図示せず）と電氣的に接続されており、各種センサにより検出されたセンサデータ（例えば、培養液の温度や pH 値など）がコントローラ 70 に入力される。

[0019] コントローラ 70 は、CPU や記憶装置である ROM 及び RAM、その他の周辺回路などを有する演算処理装置を含んで構成される。ROM には制御プログラムが格納されており、CPU が制御プログラムを読み出して、種々の処理を実行する。コントローラ 70 は、入力された各種情報に基づいて、例えばポンプ 65 ～ 68 の駆動を制御する（詳細後述）。

[0020] 次に、細胞培養装置 100, 200, 300 の構造について、詳細に説明する。なお、細胞培養装置 100 と、細胞培養装置 200, 300 とは、培養される動物細胞の種類が異なること以外は同一の構成であるため、細胞培養装置 200, 300 の説明は省略する。

[0021] 図 2 は、細胞培養装置 100 の縦断面を模式的に示した図であり、図 3 は、細胞培養装置 100 の平面を模式的に示した図である。図 2 及び図 3 に示すように、細胞培養装置 100 は、培養槽 1 と、棚 20 と、攪拌手段 30 と、を備える。

[0022] 培養槽 1 は、胴体部 3 と底部 4 とにより形成された有底円筒状の容器と、胴体部 3 の上部を覆う円盤状の蓋体 5 と、を備える。培養槽 1 は、その内部

に培養液 50 を貯留する。培養槽 1 は、例えばステンレス鋼から成る。胴体部 3 の上部には径方向の外方に張り出したフランジ 2 が設けられており、このフランジ 2 に図示しない O リング等のシール部材を介して円盤状の蓋体 5 が取り付けられる。これにより、培養槽 1 の内部が密閉される。なお、本実施形態において、フランジ 2 と蓋体 5 との固定には蝶ねじが用いられているが、固定方法はこれに限定されない。

[0023] 培養槽 1 の底部 4 には、ドレンである廃液ノズル 8 が設けられている。廃液ノズル 8 の下端部には径方向の外方に張り出したフランジ 9 が設けられており、このフランジ 9 に、O リング等のシール部材を介してブラインドフランジ 10 が取り付けられている。そのため、常態において、廃液ノズル 8 は、ブラインドフランジ 10 により閉鎖されている。そして、ブラインドフランジ 10 を取り外すことで、培養槽 1 内に貯留された培養液 50 が排出される。勿論、ブラインドフランジ 10 の代わりに仕切弁等の弁を設け、この弁を開閉することで、培養液 50 を排出可能な構成としても良い。

[0024] 培養槽 1 の胴体部 3 には、細長い覗き窓 7 が上下方向に亘って設けられている。この覗き窓 7 は、例えば透明なガラス板から成り、覗き窓 7 を介して培養槽 1 の内部を視認可能である。例えば、使用者は、覗き窓 7 から培養液 50 の液面を確認でき、あるいは、後述する足場 40 の状態（動物細胞の成長状態）を目視観察できる。

[0025] さらに、胴体部 3 の内周面の下部には、周方向に沿って同じ高さ位置に複数（例えば 4 つ）の突起（保持部）12 が設けられている。これら突起 12 は、後述する棚 20 を下方から支持できる程度の大きさで形成されている。つまり、突起 12 は、棚 20 の上下方向の位置を規制するためのストッパとして機能する。なお、棚 20 を所定の高さ位置に保持できる構成であれば、突起 12 に替えて、例えば、棚 20 に脚部を設ける構成や、棚 20 を蓋体 5 から吊り下げる構成なども適用できる。

[0026] また、胴体部 3 の外周面の下部には、複数（例えば 4 つ）のレグ 6 が設けられている。培養槽 1 は、これらレグ 6 によって支持されている。なお、培

養槽 1 が大型の場合には、レグ 6 の代わりにスカートを用いても良い。

[0027] 蓋体 5 について説明する。図 3 に示すように、蓋体 5 には、周方向に沿って複数（例えば 8 つ）の取付穴 5 a ～ 5 h が設けられている。これら取付穴 5 a ～ 5 h には、各種センサや管類などが取り付けられている。図 2 に示すように、例えば取付穴 5 a には、培養液 5 0 を培養槽 1 に供給する培養液供給管 1 6 が設けられ、取付穴 5 e には、培養槽 1 内の培養液 5 0 を外部（具体的には、細胞培養装置 2 0 0）に移送するための培養液移送管 1 7 が設けられている。なお、培養液供給管 1 6 は流路 L 1 と接続され、培養液移送管 1 7 は流路 L 2 と接続されている。よって、図 1 に示すように、ポンプ 6 5 によって吐出された培養液 5 0 は、流路 L 1 を流れて、培養液供給管 1 6 から培養槽 1（細胞培養装置 1 0 0）に供給される。培養槽 1 内の培養液 5 0 は、ポンプ 6 6 により吸入されると、培養液移送管 1 7 を介して流路 L 2 を流れて、細胞培養装置 2 0 0 に移送される。

[0028] ここで、図 2 に示すように、培養液供給管 1 6 の下端部は、棚 2 0 よりも低い位置まで延びている。そのため、培養液 5 0 を培養槽 1 に供給する際には、培養液 5 0 の液面があまり揺れることなく、培養液 5 0 を培養槽 1 に貯留できる。また、培養液移送管 1 7 の下端部も棚 2 0 よりも低い位置まで延びている。そのため、培養液 5 0 の液面が棚 2 0 よりも低い位置になるまで培養液 5 0 を外部に移送できる。そして、培養液 5 0 の液面が棚 2 0 より低い位置になると、棚 2 0（棚 2 0 に載置された足場 4 0）は培養液 5 0 で満たされなくなり、空気に晒されることになる。

[0029] なお、取付穴 5 a ～ 5 h には、培養液供給管 1 6、培養液移送管 1 7 の他、培養液 5 0 の成分、温度、pH、タンパク質含有量などの所望の物理量を検出するためのセンサや、サンプリング管、動物細胞供給管、アルカリ供給管、酸素供給管などの管類など、動物細胞を培養するために必要なセンサや管類、あるいは通気用のプラグなどを任意に取り付けることができる。また、蓋体 5 の中央部には、後述する攪拌手段 3 0 のモータ 3 1 が固定されている。なお、図示しないが、細胞培養装置 1 0 0 には外気と通じる管が設けら

れており、この管には外気から微生物や微小物が混入しないようにフィルタが設けられている。

[0030] 次に、棚 20 について説明する。棚 20 は、後述する足場 40 を載置可能な円盤状の部材である。棚 20 は、4 つの突起 12 に支持されており、培養槽 1 の底部 4 から所定の高さ位置に保持されると共に、培養槽 1 の空間を高さ方向（上下方向）に 2 つに仕切る。なお、所定の高さ位置は、培養槽 1 の容積や培養液 50 の量等を考慮して適宜決定できるが、概ね、培養槽 1 の底部 4 から胴体部 3 の長さの $1/3$ 程度の高さ位置であるのが実用上、好ましい。

[0031] 図 4 は、棚 20 の詳細を示す平面図である。図 4 に示すように、棚 20 は、外枠を形成するリング 21 と、例えばステンレス鋼の線材を格子状に編んで形成された金網 22 と、を備える。金網 22 は、培養液 50 を通過可能なサイズの多数の網目（開口部）23 を有している。金網 22 のメッシュサイズ（つまり、網目の大きさ）は、足場 40 の形状、足場 40 に付着する動物細胞の大きさ、培養液 50 の粘度や比重等に基づいて適宜決定される。本実施形態では、例えば 100～150 メッシュ（1 インチ辺りの網目の数が 100～150 個）の金網 22 が用いられている。

[0032] また、金網 22 には、後述する攪拌手段 30 の回転軸 32 を挿通可能な中心穴 25、培養液供給管 16、培養液移送管 17 などを挿通可能な小穴 24a～24d が設けられている。

[0033] 棚 20 には足場 40 が載置される。足場 40 は、動物細胞が付着するためのものであり、三次元多孔性の構造体から成る。本実施形態において、足場 40 は食用である。足場 40 は、例えば、タンパク質及び多糖類を含む。ここで、食用とは、体内に安全に摂取され得る組成物を指す。この足場 40 に動物細胞が付着することで培養肉が生成される。

[0034] 次に、攪拌手段 30 について説明する。攪拌手段 30 は、培養液 50 を攪拌するためのものであって、図 2 に示すように、駆動源であるモータ 31 と、回転軸 32 と、攪拌翼（攪拌部）33 と、を備える。即ち、本実施形態で

は、プロペラ式の攪拌手段30が用いられている。

[0035] モータ31は、蓋体5に固定されている。モータ31の出力軸と回転軸32とは、図示しないカップリングを介して接続されている。回転軸32の先端には、複数（例えば3つ）の攪拌翼33が設けられている。モータ31が回転すると、モータ31の回転に従動して回転軸32が回転し、3つの攪拌翼33が回転軸32を中心に水平方向に回転する。こうして、培養液50が攪拌される。

[0036] ここで、攪拌翼33は、棚20と底部4との間の空間に配置されている。そのため、攪拌翼33が回転すると、培養槽1の下部側から徐々に培養液50が攪拌されることとなる。なお、本実施形態において、モータ31は正逆回転可能であり、コントローラ70（図1参照）からの制御信号に基づいて、所定の周期、かつ、所定の回転速度で正転または逆転する。勿論、モータ31の回転方向は一方方向であっても良い。

[0037] 次に、細胞培養システムS1の運転モードについて説明する。

[0038] 細胞培養システムS1は、ポンプ65～68を1つずつ順番に停止させて、残りのポンプを所定の流量で同時に駆動する運転モード1と、ポンプ65～68のうち特定のポンプのみを一時停止させる運転モード2～4とを備える。コントローラ70は、運転モード1～4に従って細胞培養システムS1を制御する。以下、運転モード1～4について詳述する。

[0039] （運転モード1）

運転モード1は、ポンプ65、ポンプ66、ポンプ67、ポンプ68の順に、ポンプの駆動を一時停止させることを繰り返しながら、培養液50を循環させる運転モードである。コントローラ70がポンプ65を一時停止させると、バッファ槽400から細胞培養装置100への培養液50の供給が停止する。この間、コントローラ70が残りのポンプ66、67、68を駆動させることで、細胞培養装置100の培養液50はポンプ66によって吸入され、細胞培養装置100の培養液50の液面が低下する。そして、細胞培養装置100の培養液50の液面が棚20より低い所定の高さ位置まで低下

すると、棚 20 に載置された足場 40 が培養液 50 で満たされず、空気に晒される（第 2 の状態）。このとき、他の細胞培養装置 200, 300 の培養液 50 の液面は棚 20 より高い位置にある（第 1 の状態）。

[0040] 次に、コントローラ 70 がポンプ 66 を一時停止し、残りのポンプ 65, 67, 68 を駆動させると、細胞培養装置 100 には培養液 50 の供給が再開される。一方で、細胞培養装置 200 への培養液 50 の供給が停止するため、細胞培養装置 200 の培養液 50 の液面が低下していき、棚 20 に載置された足場 40 が空気に晒される。このように、コントローラ 70 がポンプの一時停止をポンプ 65, 66, 67, 68 の順に繰り返すことで、細胞培養装置 100, 200, 300 のそれぞれの培養液 50 の液面を順番に低下させる。即ち、運転モード 1 は、ポンプ 65, 66, 67, 68 を順に一時停止することで、細胞培養装置 100, 200, 300 内の足場 40 を順番に空気に晒す状態にするモードである。なお、本実施形態では、足場 40 が空気に晒される時間は、概ね 30 秒～180 秒としている。

[0041] ここで、コントローラ 70 は、培養液 50 の液面が棚 20 より低い所定位置になったことを、天秤 80, 81, 82 からの重量データに基づいて判定している。具体的には、培養液 50 の液面が所定位置になったときの細胞培養装置 100, 200, 300 の重量を予め定めた閾値としてコントローラ 70 に記憶させておき、コントローラ 70 は、入力された重量データが閾値以下になった場合に、細胞培養装置 100, 200, 300 の培養液 50 の液面が棚 20 より低い位置まで低下したと判定している。なお、本実施形態では天秤 80, 81, 82 を用いて液面の高さ位置を検出しているが、この構成に替えて、レベルセンサや超音波液面センサ等を用いて培養液 50 の液面の高さ位置を検出しても良い。

[0042] （運転モード 2）

運転モード 2 は、細胞培養装置 100 のみ培養液 50 の液面を低下させて足場 40 を一時的に空気に晒し、その他の細胞培養装置 200, 300 の足場 40 は常に培養液 50 で満たされるモードである。

[0043] 具体的には、コントローラ70がポンプ65を一時停止し、ポンプ66, 67, 68を駆動する。そして、細胞培養装置100の培養液50の液面が棚20より低い高さ位置になったら、コントローラ70が全てのポンプ65～68を所定時間（例えば1分間）停止し、細胞培養装置100のみ足場40が空気に晒される状態にする。このとき、細胞培養装置200, 300は足場40が培養液50で満たされた状態である。所定時間が経過すると、コントローラ70は、まずポンプ65を駆動して細胞培養装置100を培養液50で満たした後に、ポンプ66, 67, 68を駆動させて、細胞培養装置100, 200, 300の間を培養液50が循環するように制御する。このように、運転モード2は、細胞培養装置100のみ足場40が一時的に空気に晒される状態にし、その他の細胞培養装置200, 300の足場40は常に培養液50で満たされた状態にする運転モードである。

[0044] （運転モード3）

運転モード3は、細胞培養装置200のみ培養液50の液面を低下させて足場40を一時的に空気に晒し、その他の細胞培養装置100, 300の足場40は常に培養液50で満たされるモードである。

[0045] 具体的には、コントローラ70がポンプ65, 66を一時停止し、ポンプ67, 68を駆動する。そして、細胞培養装置200の培養液50の液面が棚20より低い高さ位置になったら、コントローラ70が全てのポンプ65～68を所定時間（例えば1分間）停止し、細胞培養装置200のみ足場40が空気に晒される状態にする。このとき、細胞培養装置100, 300は足場40が培養液50で満たされた状態である。所定時間が経過すると、コントローラ70は、まずポンプ65, 66を駆動して細胞培養装置200を培養液50で満たした後に、ポンプ67, 68を駆動させて、細胞培養装置100, 200, 300の間を培養液50が循環するように制御する。このように、運転モード3は、細胞培養装置200のみ足場40が一時的に空気に晒される状態にし、その他の細胞培養装置100, 300の足場40は常に培養液50で満たされた状態にする運転モードである。

[0046] (運転モード4)

運転モード4は、細胞培養装置300のみ培養液50の液面を低下させて足場40を一時的に空気に晒し、その他の細胞培養装置100、200の足場40は常に培養液50で満たされるモードである。

[0047] 具体的には、コントローラ70がポンプ65、66、67を一時停止し、ポンプ68を駆動する。そして、細胞培養装置300の培養液50の液面が棚20より低い高さ位置になったら、コントローラ70が全てのポンプ65～68を所定時間（例えば1分間）停止し、細胞培養装置300のみ足場40が空気に晒される状態にする。このとき、細胞培養装置100、200は足場40が培養液50で満たされる状態である。所定時間が経過すると、コントローラ70は、まずポンプ65、66、67を駆動して細胞培養装置300を培養液50で満たした後に、ポンプ68を駆動させて、細胞培養装置100、200、300の間を培養液50が循環するように制御する。このように、運転モード4は、細胞培養装置300のみ足場40が一時的に空気に晒される状態にし、その他の細胞培養装置100、200の足場40は常に培養液50で満たされた状態にする運転モードである。

[0048] 本実施形態では、細胞培養装置100、200、300のそれぞれの培養液50の液面を順番に低下させ、細胞培養装置100、200、300のそれぞれの足場40を順番に空気に晒すように運転するモード（運転モード1）と、特定の細胞培養装置のみの足場40を空気に晒すように運転するモード（運転モード2～4）を備えている。これにより、培養条件に応じて、運転モードを適宜、切り換えて、効率良く動物細胞を培養することができる。

[0049] なお、足場40を空気に晒す時間は、オペレータがコントローラ70に入力することで、任意に設定可能である。具体的には、本実施形態では、培養条件に応じて、オペレータが30秒～180秒の範囲で当該時間を変更できる仕様となっている。よって、コントローラ70は、設定された時間だけ細胞培養装置100、200、300の足場40を空気に晒すよう、ポンプ65～68を適宜制御する。勿論、ポンプ65～68の流量もコントローラ7

0に入力することで、任意に設定可能であることは言うまでもない。

[0050] (実験)

発明者らは、従来の運転モードと本実施形態に係る運転モード1とで、動物細胞の培養効率にどの程度違いがあるかを実験により確認した。

[0051] まず、従来の運転モード（以下、従来モードという）について説明する。従来モードでは、ポンプ65～68が所定の流量で同時に駆動する。よって、例えば、ポンプ65～68の流量が150ml/minに設定されると、コントローラ70が各ポンプ65～68を所定の回転速度に制御する。そのため、細胞培養装置100、200、300及びバッファ槽400の間を、培養液50が150ml/minで循環することとなる。この場合、細胞培養装置100、200、300の液面は、棚20より高い概ね一定に保たれる。つまり、従来モードでは、常に、動物細胞が培養液50で満たされた状態となる。

[0052] 一方、上述したように、本実施形態の運転モード1では、細胞培養装置100、200、300内の動物細胞（足場40）は順番に培養液50で満たされた状態（第1の状態）と、空気に晒された状態（第2の状態）とに切り換わる。そこで、両運転モードでタンパク質がどの程度生成されたかを測定して比較すれば、両運転モードでの培養効率の違いが分かることとなる。

[0053] 実験の条件は以下の通りである。

培養液50の温度：37℃

培養液50のpH値：7.2

培養液50の容量：各350ml

足場の質量：5.5g

[0054] 実験方法：

従来モードでは、定期的に培養液50を交換しながら、足場40が常に培養液50で満たされた状態で運転を行い、バッファ槽400の培養液50に含まれるタンパク質の質量を測定した。一方、運転モード1では、定期的に培養液50を交換しながら、足場40が空気に晒される状態を1分間保持し

、足場40が培養液50で満たされた状態を15分間保持するサイクルを繰り返し行い、同じくバッファ槽400の培養液50に含まれるタンパク質の質量を測定した。

[0055] 図5は、上記した細胞培養の実験結果を示す図であって、タンパク質の生成量を従来モードと本実施形態に係る運転モード1とで比較した図である。図5において、グラフG1は従来モードの実験結果を示し、グラフG2は運転モード1の実験結果を示している。図5の横軸は日数、縦軸は培養液50に含まれるタンパク質の単位容積当たりの質量(g/l)である。また、図5において、「MC」は培養液50を交換したタイミングを示している。

[0056] 図5に示すように、グラフG1(従来モード)では、0日目から10日目までの間、タンパク質の質量がP7からP8まで緩やかに増加する。培養液50に含まれるグルコースの消費に伴い、10日目に培養液50の交換を行った結果、タンパク質の質量がおよそP8からP5まで急激に減少する。その後、タンパク質の質量は、15日目まで緩やかに低下し、さらに培養液50に含まれるグルコースの消費に伴い15日目に培養液50を交換すると、タンパク質の質量がP3まで急激に低下する。その後、17日目にタンパク質の質量は最小値であるP1まで減少するが、20日目まで徐々に増加して、20日目にはタンパク質の質量はP2となる。そして、さらに培養液50に含まれるグルコースの消費に伴い20日目と27日目に培養液50を交換して以降は、タンパク質の質量はP1からP2の範囲内で概ね横這いとなる。

[0057] 一方、グラフG2(運転モード1)では、0日目～10日目までの間、タンパク質の質量がP8からP9まで緩やかに増加し、13日目に最大値であるP10となる。そして、13日目から16日目までタンパク質の質量は減少する。培養液50に含まれるグルコースの消費に伴い、培養液50の交換が必要となったため、16日目に培養液50の交換を行った結果、16日目にはタンパク質の質量がP9からP4まで急激に減少する。その後、16日目から18日目までタンパク質の質量は増加し、18日目にはタンパク質の

質量はP 6となる。そして、18日目以降は、培養液50を交換することなく、タンパク質の質量は、概ねP 6を維持する。

[0058] グラフG 1とグラフG 2とを比較することで、以下の事実が導き出せる。

(1) 0日目から10日目までは、従来モードと運転モード1とで培養液50に含まれるタンパク質の質量の差は殆どない。

(2) 10日目に従来モードはグルコースの消費に伴い培養液50を交換する必要があったが、運転モード1では、グルコースの消費量は少なく、10日目に培養液50の交換をする必要がなかった。そして、運転モード1では、10日目以降もタンパク質の質量を増加させた。

(3) 従来モードでは15日目に2回目の培養液50の交換を行い、運転モード1では16日目に1回目の培養液50の交換を行い、両者共にタンパク質は、共に急激に減少し、16日目には両者のタンパク質の質量の差が殆どなくなる(従来モードはP 2、運転モード1はP 4)。しかし、16日目以降、従来モードと運転モード1とでタンパク質の質量の差は開き、さらに、従来モードでは20日目と27日目に培養液50の交換を行った。これに対して、運転モード1では、16日目に1回目の培養液50を交換しただけで、それ以降、培養液50を交換する必要がなかった。

[0059] 次に、上記実験において、培養液50に含まれるグルコースの消費量を従来モードと運転モード1とで測定したので、その結果について説明する。図6は、上記した実験において、細胞培養装置200の細胞数とバッファ槽400の消費グルコース量の測定結果を示す図である。図6(a)は、消費グルコース当たりの細胞培養装置200の細胞の生成量(増殖数)すなわち細胞増殖の収率について、従来モードと運転モード1とで測定した結果を示す図である。図6(b)は、従来モードにおける肝臓細胞数と消費グルコース量の測定結果を示す図である。図6(c)は、運転モード1における肝臓細胞数と消費グルコース量の測定結果を示す図である。

[0060] 図6(a)に示すように、従来モードでは細胞増殖の収率が 4.18×10^6 (cell/glu-g)であるのに対して、運転モード1では細胞増殖の収率が

1. 9.0×10^8 (cell/glu-g) と従来モードの約 4.5 倍に増殖していることが分かる。また、図 6 (b) に示すように、従来モードでは、肝臓細胞数を 3.36×10^8 から 4.92×10^9 に増殖させるために、グルコースを 37.4 g 消費する。一方、図 6 (c) に示すように、運転モード 1 では、肝臓細胞数を 3.51×10^8 から 3.72×10^9 増殖させるために、グルコースを 17.7 g 消費する。

[0061] 図 6 (b) と図 6 (c) とから、30 日目の細胞培養装置 200 の肝臓由来の細胞は両モード共に大差はなかったが、消費されるグルコースは、従来モードの消費量 (37.4 g) に比べ運転モード 1 では半分の消費量 (17.7 g) であったことが分かる。このことから、明らかに運転モード 1 の方が従来モードより動物細胞の培養の収率が促進されていることが分かる。つまり、動物細胞 (足場 40) を常時、培養液 50 で満たした状態にするよりも、15 分に 1 分程度、動物細胞を空気に晒した状態にする方が、動物細胞の培養効率が高いことが分かった。おそらく、動物細胞を空気に晒したことで、代謝状態の変化が生じ、その結果、動物細胞の培養効率が高まったものと推察できる。

[0062] なお、図示は省略するが、発明者らは、足場 40 (動物細胞) が空気に晒される状態を 30 秒から 180 秒まで時間を変えて同様の実験を行ったところ、従来モードと運転モード 1 とでタンパク質の質量の差は同様の傾向にあることを確認した。

[0063] 以上説明した本実施形態によれば、以下の作用効果を奏することができる。

[0064] 動物細胞を所定時間 (30 秒～180 秒)、空気に晒した状態 (第 2 の状態) にすることで、培養効率を大幅に (約 2 倍に) 向上させることができる。また、異なる動物細胞が入った細胞培養装置 100, 200, 300 を環状に接続し、各細胞培養装置 100, 200, 300 の間を培養液 50 が循環するため、バッファ槽 400 に上質な培養上清を貯留できる。また、細胞培養装置 100, 200, 300 の動物細胞が、順番に空気に晒されるよう

培養液 50 の液面が制御されるため、それぞれの細胞培養装置 100, 200, 300 にて培養される培養肉となる細胞が効率的に得られる。

[0065] また、本実施形態に係る細胞培養装置 100, 200, 300 は、培養液 50 を貯留する培養槽 1 と、培養槽 1 内に設けられた棚 20 と、培養液 50 を攪拌する攪拌手段 30 と、を備えるだけの簡単な構成である。そのため、低コストで細胞培養装置 100, 200, 300 を製造できる。つまり、低コストで動物細胞の培養効率が向上する。また、細胞培養装置 100, 200, 300 自体の構成が簡単であるため、様々な装置に組み付けて容易に動物細胞の培養システムを構築できる。

[0066] しかも、棚 20 の上に足場 40 を載置し、培養液 50 の液面を棚 20 の下まで低下させるだけで、容易に動物細胞（足場 40）が培養液 50 で満たされない状態（第 2 の状態）にすることができる。さらに、棚 20 に足場 40 を載置することで、動物細胞が足場 40 に付着し易く、培養効率が低い。また、攪拌手段 30 の攪拌翼 33 は、棚 20 の下方の空間に設けられているため、攪拌翼 33 の回転による足場 40 への影響を最小限に抑えることができる。

[0067] この点について詳細に説明すると、攪拌翼 33 が回転すると渦流が発生する。この渦流は、棚 20 よりも下方の位置で発生し、棚 20（金網 22）の網目 23 によって緩衝され、緩やかな流れとなって足場 40 に向かう。そのため、足場 40 に付着している動物細胞が剥離するのを防止でき、動物細胞へのストレスを緩和することができる。しかも、棚 20 の下方で発生した培養液 50 の渦流が、金網 22 で緩衝されて緩やかに上昇するため、培養液 50 に含まれる栄養素を足場 40 に付着した動物細胞に万遍なく供給することができる。

[0068] その結果、本実施形態によれば、培養肉の製造期間を大幅に短縮でき、ひいては、持続可能な開発目標（SDGs）の達成にも貢献する。

[0069] なお、攪拌翼 33 が棚 20 の上方に位置している場合であっても、動物細胞の培養は十分促進されるものの、どうしても足場 40 の上方で渦流が発生

するため、攪拌翼３３が棚２０の下方に位置する場合と比べると、足場４０への動物細胞の付着効果は低くなる。よって、攪拌翼３３の位置は、棚２０の下方の方がより好ましい。また、攪拌手段３０が上下２つの攪拌翼３３を備え、一方の攪拌翼３３を棚２０の上方の空間に、他方の攪拌翼３３を下方の空間に、それぞれ配置する構成としても良い。

[0070] また、本実施形態では覗き窓７を設けているため、培養槽１内の状態を容易に目視観察でき、使い勝手が良い。

[0071] （第２実施形態）

次に、本発明の第２実施形態に係る細胞培養システムＳ２について説明する。図７は、第２実施形態に係る細胞培養システムの全体構成図である。図７に示すように、第２実施形態に係る細胞培養システムＳ２は、細胞培養装置１００、２００、３００とバッファ槽４００とがそれぞれ並列に接続され、細胞培養装置１００とバッファ槽４００との間、細胞培養装置２００とバッファ槽４００との間、細胞培養装置３００とバッファ槽４００との間で、それぞれ培養液５０が移動する構成とした点に特徴がある。

[0072] そして、細胞培養システムＳ２は、細胞培養装置１００とバッファ槽４００との間の流路Ｌ１１に設けられたポンプ９１と、細胞培養装置２００とバッファ槽４００との間の流路Ｌ１２に設けられたポンプ９２と、細胞培養装置３００とバッファ槽４００との間の流路Ｌ１３に設けられたポンプ９３と、を備えている。コントローラ７０が各ポンプ９１、９２、９３の駆動を制御することで、バッファ槽４００内の培養液５０が流路Ｌ１１、Ｌ１２、Ｌ１３をそれぞれ流れる。

[0073] また、細胞培養装置１００、２００、３００とバッファ槽４００とは、ドレン流路である流路Ｌ１４、Ｌ１５、Ｌ１６を介して接続されており、流路Ｌ１４、Ｌ１５、Ｌ１６にはそれぞれ電磁弁８５、８６、８７が取り付けられている。より詳細には、培養槽１の底部４に設けられた廃液ノズル８（図２参照）とバッファ槽４００との間が管またはホースで接続されて流路Ｌ１４、Ｌ１５、Ｌ１６が形成されており、これらの流路Ｌ１４、Ｌ１５、Ｌ１

6に電磁弁85, 86, 87が設けられている。そして、電磁弁85, 86, 87は常態では閉じており、コントローラ70からの指令により開くと、細胞培養装置100, 200, 300に貯留されている培養液50が排出され、バッファ槽400に戻る構成となっている。

[0074] 次に、細胞培養システムS2の運転モード5～7について説明する。

[0075] (運転モード5)

運転モード5は、細胞培養装置100のみ培養液50の液面を低下させて足場40を一時的に空気に晒し、その他の細胞培養装置200, 300は足場40が常に培養液50で満たされるモードである。

[0076] 運転モード5では、コントローラ70が15分間に1度、ポンプ91を一時停止すると共に、電磁弁85を全開するよう制御する。すると、細胞培養装置100の培養液50がバッファ槽400に排出される。コントローラ70は、培養液50が棚20の高さより低い所定位置になったことを図示しないレベルセンサ等により検出すると、電磁弁85を閉じるよう制御する。コントローラ70はこの状態を、例えば1分間保持する。これにより、足場40が1分間空気に晒された状態となる。なお、この保持時間は、オペレータがコントローラ70に設定することで、任意に変更可能である。

[0077] 一方、コントローラ70は、ポンプ92, 93の運転を継続しつつ、ポンプ92, 93の流量とバランスするように電磁弁86, 87の開度を制御する。こうして、細胞培養装置200, 300は培養液50の液面が棚20より高い所定位置になるように維持され、細胞培養装置200, 300の足場40が常に培養液50で満たされる状態となる。

[0078] (運転モード6)

運転モード6は、細胞培養装置200のみ培養液50の液面を低下させて足場40を一時的に空気に晒し、その他の細胞培養装置100, 300は足場40が常に培養液50で満たされるモードである。

[0079] 運転モード6では、コントローラ70が15分間に1度、ポンプ92を一時停止すると共に、電磁弁86を全開するよう制御する。その後、細胞培養

装置 200 の培養液 50 が棚 20 の高さより低い所定位置になると電磁弁 86 を全閉にし、この状態を、例えば 1 分間保持する。

[0080] 一方、コントローラ 70 は、ポンプ 91, 93 の運転を継続しつつ、電磁弁 85, 87 の開度を制御して、細胞培養装置 100, 300 の足場 40 が常に培養液 50 で満たされる状態に制御する。

[0081] (運転モード 7)

運転モード 7 は、細胞培養装置 300 のみ培養液 50 の液面を低下させて足場 40 を一時的に空気に晒し、その他の細胞培養装置 100, 200 は足場 40 が常に培養液 50 で満たされるモードである。

[0082] 運転モード 7 では、コントローラ 70 が 15 分間に 1 度、ポンプ 93 を一時停止すると共に、電磁弁 87 を全開するよう制御する。その後、細胞培養装置 300 の培養液 50 が棚 20 の高さより低い所定位置になると電磁弁 87 を全閉にし、この状態を、例えば、1 分間保持する。

[0083] 一方、コントローラ 70 は、ポンプ 91, 92 の運転を継続しつつ、電磁弁 85, 86 の開度を制御して、細胞培養装置 100, 200 の足場 40 が常に培養液 50 で満たされる状態に制御する。

[0084] この細胞培養システム S2 によれば、細胞培養装置 100, 200, 300 をバッファ槽 400 と並列で接続しているため、運転モード 5~7 を任意に選択して、特定の細胞培養装置 100, 200, 300 のみ空気に晒した状態に制御できる。即ち、特定の細胞培養装置 100, 200, 300 の動物細胞のみを空気に晒して、培養効率を向上させることができる。

[0085] また、コントローラ 70 が運転モード 5~7 を順番に繰り返すように細胞培養システム S2 の運転を制御すれば、第 1 実施形態と同様に、細胞培養装置 100, 200, 300 を順番に空気に晒した状態とすることもできる。

[0086] また、細胞培養装置 100, 200, 300 が並列で接続されているため、運転モード 5~7 の他に、細胞培養装置 100, 200, 300 のうち任意の 2 つを同時に空気に晒した状態にする運転モードを設けることもできる。そのため、第 1 実施形態とは異なる培養条件及び培養方法により動物細胞

の培養を促進することができる。

[0087] このように、第2実施形態によれば、第1実施形態と同様に、異なる種類の動物細胞を効率良く培養できると共に有効成分が豊富な培養上清を得ることができる。

[0088] なお、本発明は上記実施形態に限定されず、本発明の要旨を逸脱しない範囲で種々の変形が可能であり、特許請求の範囲に記載された技術思想に含まれる技術的事項の全てが本発明の対象となる。上記実施形態は、好適な例を示したものであるが、当業者ならば、本明細書に開示の内容から、各種の代替例、修正例、変形例あるいは改良例を実現することができ、これらは添付の特許請求の範囲に記載された技術的範囲に含まれる。

[0089] 例えば、本発明は、動物由来の細胞以外の細胞（例えば植物由来の細胞など）を培養するための装置としても適用可能である。また、培養槽1が小型の場合には、攪拌手段30として、例えば、マグネチックスターラーを用いても良い。この場合、構造を簡素化できる利点がある。

[0090] また、棚20は、金網22の代わりに、多数の穴を設けたパンチングプレートを用いても良い。この場合の穴の大きさは、例えば直径100ミクロン程度にすると良い。また、穴の形状は任意である。例えば、丸穴、角穴、長穴であって良い。また、スリットが多数設けられたプレートを棚20として用いても良い。なお、複数の棚20を培養槽1内に多段で設けても良い。この場合、各棚20は、互いに異なる網目23の大きさ（即ち、異なるメッシュサイズ）または穴径であっても良い。

[0091] なお、細胞培養装置の数は3つに限定されないし、バッファ槽400の数も1つに限定されない。バッファ槽400をシステムに組み込まなくても良い。また、各実施形態において、上記した全ての運転モードを備えていなくても良い。即ち、培養条件に応じて一部の運転モードを備えた細胞培養システムとすることもできる。

[0092] また、細胞培養装置100、200、300のそれぞれに全て同じ動物細胞を供給しても良いし、細胞培養装置100、200、300の一部にのみ

異なる動物細胞を供給しても良い。

符号の説明

- [0093]
- 1 培養槽
 - 2 フランジ
 - 3 胴体部
 - 4 底部
 - 5 蓋体
 - 5 a～5 h 取付穴
 - 6 レグ
 - 7 覗き窓
 - 8 廃液ノズル
 - 9 フランジ
 - 10 ブラインドフランジ
 - 12 突起
 - 16 培養液供給管
 - 17 培養液移送管
 - 20 棚
 - 21 リング
 - 22 金網
 - 23 網目
 - 24 a～24 d 小穴
 - 25 中心穴
 - 27 脚部
 - 30 攪拌手段
 - 31 モータ
 - 32 回転軸
 - 33 攪拌翼
 - 40 足場

50 培養液

65～68 ポンプ

70 コントローラ

80～82 天秤

85～87 電磁弁

91～93 ポンプ

100, 200, 300 細胞培養装置

S1, S2 細胞培養システム

請求の範囲

- [請求項1] 複数の細胞培養装置が接続され、前記複数の細胞培養装置の間で培養液が移動する細胞培養システムであって、
- 前記複数の細胞培養装置のうち、少なくとも1つの前記細胞培養装置の細胞が前記培養液で満たされる第1の状態となる一方で、残りの前記細胞培養装置の細胞が前記培養液で満たされない第2の状態となるように、前記複数の細胞培養装置のそれぞれに貯留された前記培養液の液面高さが制御される、
- ことを特徴とする細胞培養システム。
- [請求項2] 請求項1に記載の細胞培養システムにおいて、
- 前記複数の細胞培養装置は環状に接続されており、前記複数の細胞培養装置の間で前記培養液が循環する、
- ことを特徴とする細胞培養システム。
- [請求項3] 請求項2に記載の細胞培養システムにおいて、
- 前記複数の細胞培養装置の間に接続され、前記培養液を貯留するためのバッファ槽をさらに備える、
- ことを特徴とする細胞培養システム。
- [請求項4] 請求項1～3の何れか1項に記載の細胞培養システムにおいて、
- 前記少なくとも1つの細胞培養装置は、
- 前記培養液を貯留する培養槽と、
- 前記培養槽を高さ方向に仕切ると共に、前記培養液が通過可能な開口部を有する棚と、
- 前記培養液を攪拌する攪拌手段と、を備え、
- 前記棚は、前記細胞が付着した足場を載置可能である、
- ことを特徴とする細胞培養システム。
- [請求項5] 請求項4に記載の細胞培養システムにおいて、
- 前記少なくとも1つの細胞培養装置が前記第2の状態にあるときに、
- 前記培養液の液面高さが前記棚より低い位置に保持される、

ことを特徴とする細胞培養システム。

- [請求項6] 請求項5に記載の細胞培養システムにおいて、
前記第2の状態が保持される時間は、30秒～180秒である、
ことを特徴とする細胞培養システム。
- [請求項7] 請求項1～3の何れか1項に記載の細胞培養システムにより製造された培養肉。
- [請求項8] 請求項1～3の何れか1項に記載の細胞培養システムにより製造された培養上清。