

【助成 40-02】

高開口率の細胞足場シートを用いたサステナブル食肉培養システムの開発

代表研究者 東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 教授 梶 弘和

共同研究者 東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 助教 堀 武志

〔研究の概要〕

世界人口は増加しており、現在の食肉供給システムでは将来的に供給が追いつかなくなると懸念されている。さらに供給量だけでなく、自然環境への負担を小さくした持続可能な食糧供給システムを構築することの重要性が認識されている。この様な背景から、本研究では、我々がこれまでに培ってきた細胞培養技術を基盤として新たな食肉培養システムの要素技術の構築を目指した。現在の食肉培養システムは、成形技術が不十分であり、さらに、培養肉への細胞足場材料の混入比率が高いという課題がある。本研究では、これらの課題を克服するための高開口率の細胞足場シートの開発を行った。この細胞足場シートを活用することにより、実際の食肉に近い培養肉を効率的に作製できるものと期待される。

〔研究経過および成果〕

細胞培養により食肉を作製する技術は、持続可能な食糧供給システムに繋がる技術として世界中で開発が進んでいる。しかし、解決すべき課題が多く存在する。たとえば、コラーゲングルなどの細胞足場材料の占める割合が高いため、実際の食肉を模倣するためには足場材料の混入比率を下げる必要がある。また、実際の食肉が有する層状構造を模倣することは容易ではなく、成形技術が十分に発達していない。さらに、しばしば増殖能の高い筋芽細胞等の未熟な細胞が培養肉作製に利用されるが、これらの細胞を培養足場上で成熟させるための工夫も必要となる。

これらの課題を克服するために、我々は新たな細胞足場シートの開発を行った。足場材料の混入比率を下げ、生体組織のような細胞-細胞間接着が優位になる状況を作り出すため、高開口率のメッシュシートを作製を試みた。足場材料として着目したのは、バイオマス材料の一つであり、生物生産量がセル

ローズに匹敵するほど多量に存在するキトサンである。

キトサンは、カニやエビなどの殻の主成分となる高分子多糖であり、サプリメントや医療用デバイスに利用されている安全性の高い物質である。我々はまず、キトサン溶液を調整し、微細加工により作製した多数のピラーを有する鋳型に塗布した。乾燥後に鋳型から

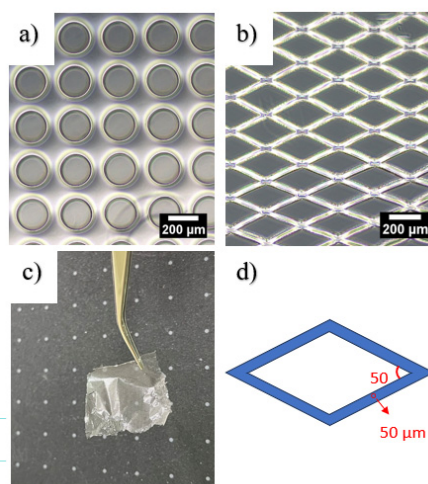


図1 キトサンメッシュシート。a) 開口部が円形、b) 菱形のメッシュシート。c) メッシュシートの全体写真、d) 菱形メッシュの開口部の形。

剥離することにより、マイクロスケールの目（開口部）を持ったキトサンメッシュシートを作製することに成功した（図1）。開口部の形として、円形と菱形のメッシュシートを作製した。このメッシュシートは厚さ 20 μm 程であるにもかかわらずピンセットで持ち上げても破れないほどの強度を有していた。

作製したキトサンメッシュシートを用いた細胞培養が可能かどうかを確認するために、表面張力を利用してメッシュシートの上に線維芽細胞の懸濁液を載せた。培養液中で培養を継続した結果、細胞はメッシュシートの開口部を埋めるように増殖し、厚みを持った細胞シートを形成した（図2）。この細胞シートは、ディッシュ底面から浮遊させた状態で固定されている。培地中の酸素や栄養素が細胞シートの上下から細胞へ供給された結果、より効率的に厚みを持った細胞シートが形成されたものと考えられる。

さらに、この細胞培養法の重要な特徴として、細胞の配向性（細胞の向き）を制御できるという点が挙げられる。細胞を配向させることにより、若い筋芽細胞から筋管細胞への成熟が促進されることが知られている。筋管細胞への成熟は、食肉の歯ごたえなどに関係してくるものと考えられるため培養肉の作製には重要な要素である。図2に示すように、本研究では、開口部の形を菱形にすることにより、多くの線維芽細胞を一方（菱形の長軸方向）に配向させることができた。筋芽細胞を用いた検討も今後必要であるが、別の種類のメッシュシートを利用した研究では、マウス筋芽細胞株を菱形の開口部を持つメッシュシート上で培養することにより、効率的に筋管細胞へと成熟させることができることが明らかになっている。

本研究では、キトサンを材料として高開口率の細胞足場シートを作製することができ、さらに、このシート

を用いた細胞培養にも成功した。この新しい細胞培養方法は以下の4つの特徴を有する。①培養中、細胞への栄養供給に優れている、②細胞の配向性と成熟を開口部の形の調節により制御することができる、③培養肉に対する足場材料の混入比率が低い、④細胞シートを容易に重ねることができる。今後、筋肉細胞、脂肪細胞、線維芽細胞などから細胞シートを作製し、積層化することにより、実際の食肉に似た構造を有する培養肉の作製を試みたい。

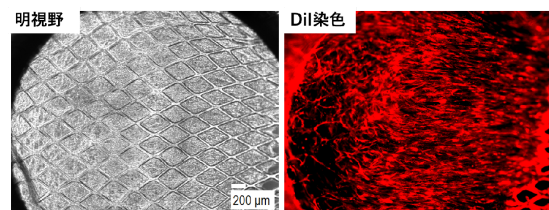


図2 キトサンメッシュシートを用いた線維芽細胞の培養。明視野像（左）と蛍光色素による染色像（右）

〔学会発表〕

1. 許家誠, 堀 武志, 梨本裕司, 吉田昭太郎, 梶弘和, 細胞培養肉作製に向けたバイオマスメッシュシートの開発, 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第48回研究会(CHEMINAS 48) 2023年11月7日, 熊本
2. 許家誠, 堀 武志, 梨本裕司, 吉田昭太郎, 梶弘和, Development of a biomass mesh sheet for cell-cultured meat, 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第47回研究会(CHEMINAS 47) 2023年5月14日, 仙台