

平成 27 年度
革新的ものづくり産業創出連携促進事業
戦略的基盤技術高度化支援事業

「既存の培養プレートを利用した自動培地交換ユニットの開発」

研究開発成果等報告書概要版

2016 年 11 月

担当局 中部経済産業局
補助事業者 高砂電気工業株式会社

第1章 研究開発の概要	3
1-1 研究開発の背景・研究目的及び目標	3
1-2 研究体制	5
1-3 成果概要	8
1-4 当該研究開発の連絡窓口	9
第2章 研究開発の内容と成果	9
2-1 安定した培地の供給システムの構築とディスポーザブルの低価格の両立	9
2-2 ポータブルとして使いやすいサイズと構造	10
2-3 コントローラーの連続動作時間の延長と多機能化	10
2-4 実際の培養実験	11
第3章 全体総括	13
3-1 一次試作	13
3-2 二次試作	13
3-3 三次試作(改良前)	14
3-4 三次試作(改良後)	14
3-5 現行品	14
3-6 今後の課題	15
3-7 事業化展開	15

第 1 章 研究開発の概要

1-1 研究開発の背景・研究目的及び目標

近年、iPS 細胞は実用化に向けた研究が推進されており、培養細胞の市場は 2030 年までに現在の市場規模の約 4 倍になると想定されている（図 1-1-1）。現状の細胞培養の方法には、手作業による培養と自動培養装置（図 1-1-2）を使用した方法がある。手作業による培養は、作業者が何度も培地の交換をしなければならず手間とコストが掛かるのに加え、安定した品質の細胞を培養する事が難しい。自動培養装置は大型で非常に高価（数千万～1 億円）なため、主に細胞を培養している大学や企業の研究者では導入が難しい。しかし、研究者からも細胞培養の自動化を求める声が増えている。本事業ではユーザーのニーズに対応し、培地（培養液）の自動交換を可能とした小型かつ安価で研究者が導入しやすい自動培地交換ユニットの開発を行った。

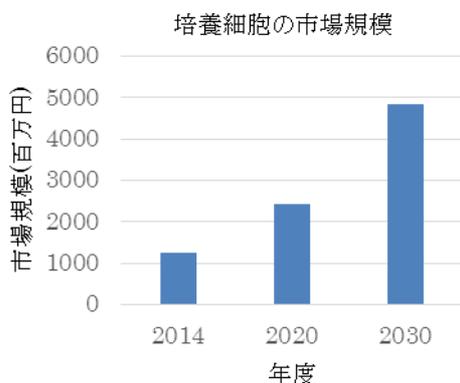


図 1-1-1 培養細胞の市場規模の推移



図 1-1-2 自動培養装置

出所: 川崎重工株式会社 of HP より
アクセス日: H26.6.5

図 1-1-3 に示すように、現在の細胞培養は主にシャーレや、マルチウェルプレートなどを使用した方法が主流である。しかし、このボリュームゾーンは最も自動化が進んでおらず、自動化による作業性の改善や生産性の向上が求められている。また、再生医療の実現に向けた法規制の緩和により、企業での受託培養が可能になるため、多くのベンチャー企業がこの領域での受託培養事業に参入することが見込まれている。本事業では、この領域をターゲットとして、既存の培養プレート（シャーレやマルチウェルプレートなど）を変更することなく、細胞培養の自動化を行うことを狙いとした。

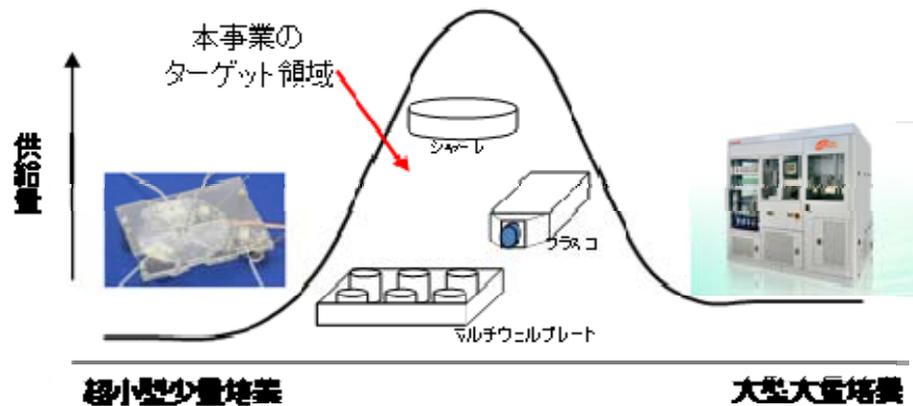


図1-1-3 細胞培養の供給量と実績

本開発品は研究用の細胞を比較的小規模に培養する際に使用されると想定している。細胞培養の研究においては、過去に使用実績のある培養プレートの使用が好まれている。このため長年、培養用の容器は変わっておらず、今後もその傾向が続くものとする。また、培養プレートへの細胞の接着を促進させる為、プレートには通常タンパク質等の表面処理が施されている。表面処理には様々なタイプがあり、研究者にとって日頃から使い慣れた培養プレートをそのまま使用できるメリットは大きい。当社はこの点に着目し、既存の培養プレートを用いた自動培地交換機能を持つ製品の開発を決定した。

当社はこれまで、図1-1-4に示すような循環型の培養装置を開発してきた。この培養装置は、PDMS製のチップ上にバルブ、ポンプ、培養スペース等が組み込まれており、これらのチップを組み合わせることで顧客のニーズに沿ったシステムの構築が可能となる。しかしながら、この装置は様々な実験ができる反面、既存の培養プレートを使用しないため、従来の培養プレートを用いた細胞培養の研究データとの比較検証が行いづらいという問題点があった。そのため、本事業では、既存の培養プレートを用いて培地交換を自動化するユニットの開発を推進した。

過去の開発品一例

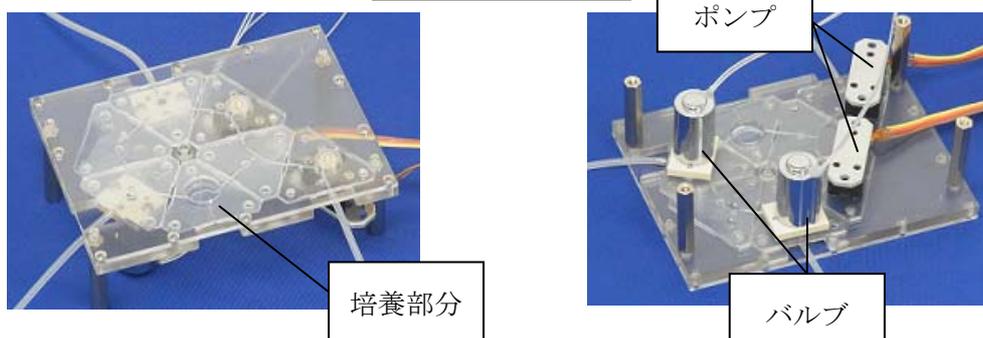
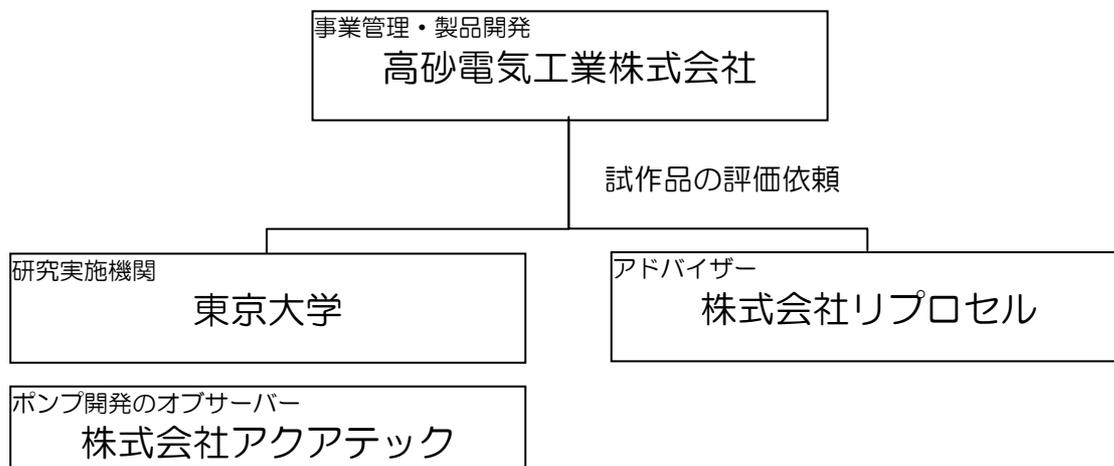


図1-1-4 細胞培養用灌流システム

1-2 研究体制

(1) 研究組織および管理体制

1) 研究組織(全体)



研究代表者(PL)

高砂電気工業株式会社
取締役 営業・技術部長 田中 雄一郎

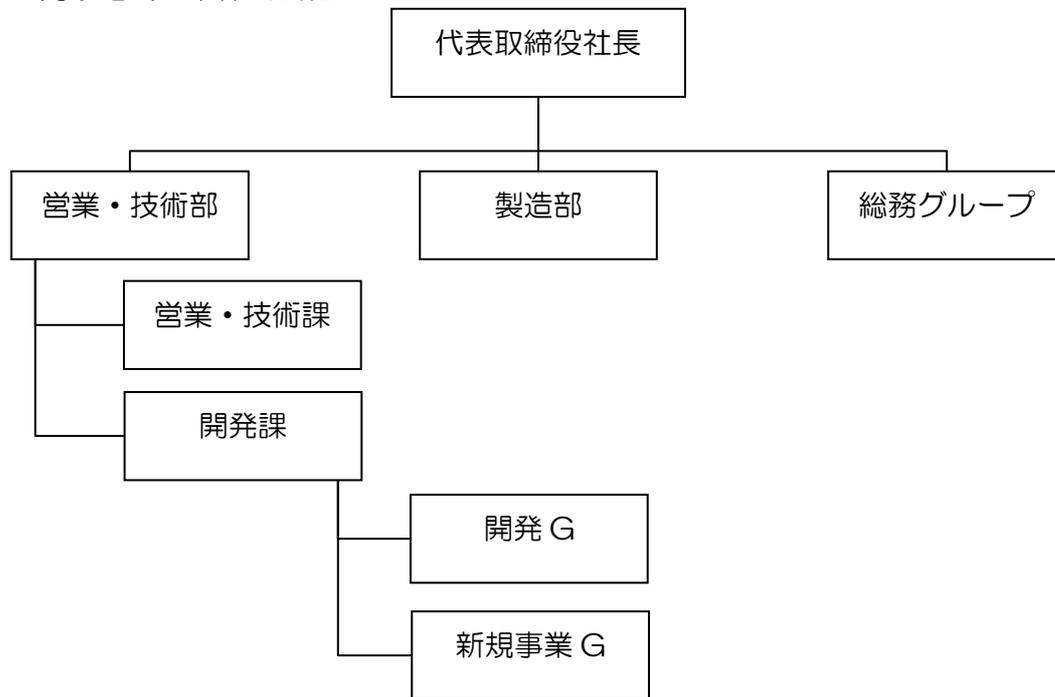
副総括研究代表者(SL)

高砂電気工業株式会社
営業・技術部 企画開発グループリーダー 内藤 建

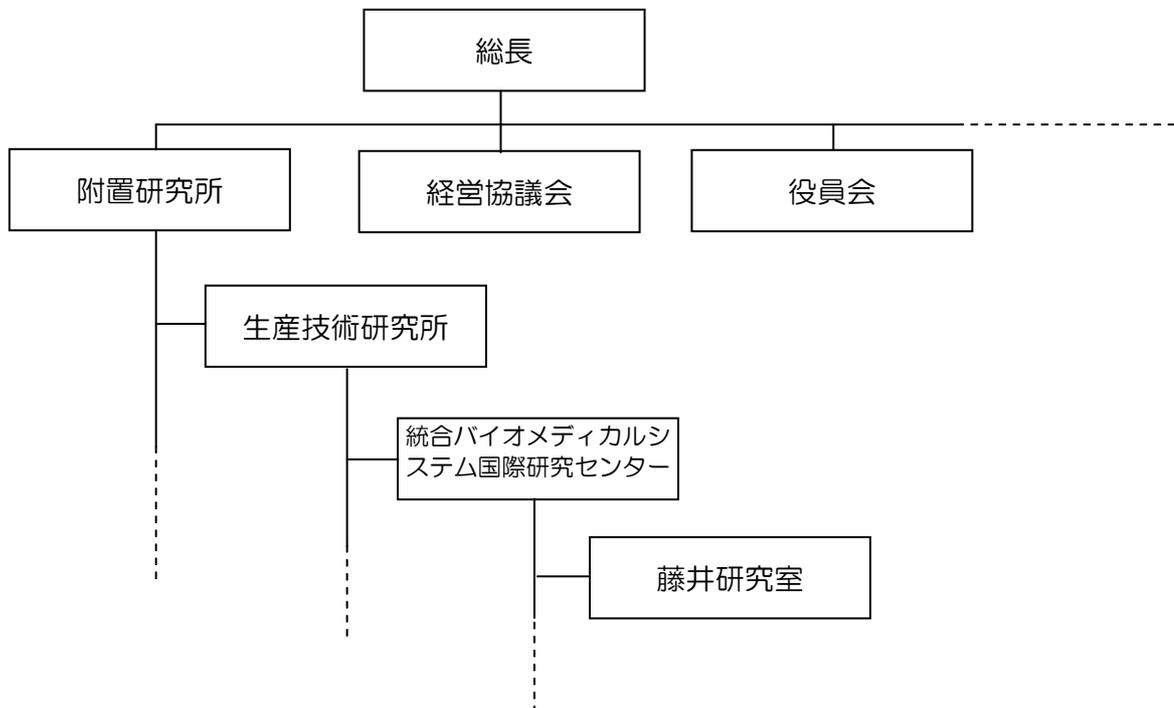
2) 管理体制

事業管理機関および研究機関

高砂電気工業株式会社



東京大学



(2) 管理委員および研究員

【事業管理機関】高砂電気工業株式会社

管理委員

氏名	所属・役職
2014年 田中 雄一朗 箕田 真弓	取締役 営業・技術部長 営業・技術部 企画開発グループ
2015年 田中 雄一朗 古橋 麻奈	取締役 営業・技術部長 営業・技術部 企画開発グループ

研究員

氏名	所属・役職
2014年 齋藤 直樹 内藤 建	営業・技術部 開発グループ リーダー 営業・技術部 企画開発グループ リーダー
高塚 彰仁 小山 知記 稲垣 俊哉 川田 大輝 坂下 智啓	営業・技術部 開発グループ 営業・技術部 開発グループ 営業・技術部 開発グループ 営業・技術部 開発グループ 営業・技術部 開発グループ
2015年 齋藤 直樹 内藤 建	営業・技術部 開発グループ リーダー 営業・技術部 企画開発グループ リーダー
高塚 彰仁 小山 知記 稲垣 俊哉 川田 大輝 坂下 智啓 朝日 真奈甫 都築 誠志	営業・技術部 開発グループ 営業・技術部 開発グループ 営業・技術部 開発グループ 営業・技術部 海外営業課 営業・技術部 開発グループ 営業・技術部 開発グループ 営業・技術部 開発グループ

1-3 成果概要

1-3-1 小型自動培地交換ユニットの構築

1-3-1-1 各ウェルへの均等な送液

初期案では、培地供給側には通常のポンプをバルブで分岐することで各ウェルの培地供給量誤差±10%以内を達成する予定であった。この計画に則り開発した安価な成型バルブを使ったシステムで±10%以内を達成することができた。しかし、安価になったとはいえバルブ 6 個を使い捨てにするため[1-3-2 ディスポーザブル部分のコスト目標]を達成することができないと判断した。そのため[1-3-1-2 廃液用ポンプの開発]で説明する新規の多連ポンプに改良を加えることで±10%以内の誤差に抑え供給側にも使用ができるようにした。その結果、各ウェルに目標としていた±10%以内の誤差での培地供給を可能とし、かつディスポーザブル部のコストを削減することができた。

1-3-1-2 廃液用ポンプの開発

チューブが交換でき、一つのモーターで 6 本のチューブをしごくことができるペリスタルティックポンプというコンセプトで開発した。またこのポンプを、精度が重要な一部のパーツを除き成型化することで、製品単価を大きく下げることができた。

1-3-1-3 送液用ポンプの開発

[1-3-1-1 各ウェルへの均等な送液]で述べたように、コスト面から新規の防水送液ポンプの開発は取りやめ、廃液用に開発した 6ch ポンプを培地供給側にも採用した。

1-3-1-4 小型コントローラーの開発

防水かつ電池駆動で 1 週間程度装置を駆動させることができるコントローラーを開発した。電池駆動にすることでインキュベーター内での配線の手間をなくし使いやすくした。また防水仕様にすることでインキュベーター内部での使用を可能にした。

1-3-2 ディスポーザブル部分のコスト目標

培地交換を 14 日間 1 日 1 回毎日行くと仮定すると、消耗品の総額は約 1,120 円と想定された。その消耗品の総額に、マルチウェルプレートの平均価格と人件費の削減効果を加味し、3,000 円程度を本開発品のディスポーザブル部分の目標販売価格とした。

ディスポーザブル部品の成型化、ポンプをチューブ交換式にするなど、部品の単価を下げること目標販売価格をほぼ達成した。

1-3-3 実際の細胞培養

本研究では iPS 細胞など交換頻度の高い細胞の培養をターゲットとしており、最低限 3 日間の連続動作で細胞が死なないことを確認する必要があった。

アドバイザーでもある株式会社リプロセルで iPS 細胞を使用した実験を行った。抗生物質などを培地に入れない状態で iPS 細胞を 3 日間培養し、生存を確認することができた。また、iPS 細胞以外ではニワトリ胚心臓由来線維芽細胞の 7 日間の培養に成功している。

1-4 当該研究開発の連絡窓口

高砂電気工業株式会社 営業・技術部 開発課 内藤 建
TEL: 052-891-2301
FAX: 052-891-7386
e-mail: k-naito@takasago-elec.co.jp

第2章 研究開発の内容と成果

2-1 安定した培地の供給システムの構築とディスポーザブル部の低価格の両立

計画当初、供給側の送液システムは供給量を安定させるために供給用の接液交換型のポンプ一個と分岐用の小型バルブ6個(図2-1-1 (左側))で構築する予定だった。

二次試作(図2-1-2)ではこのバルブを使用したシステムを構築し、目標である供給量の誤差±10%を達成した。

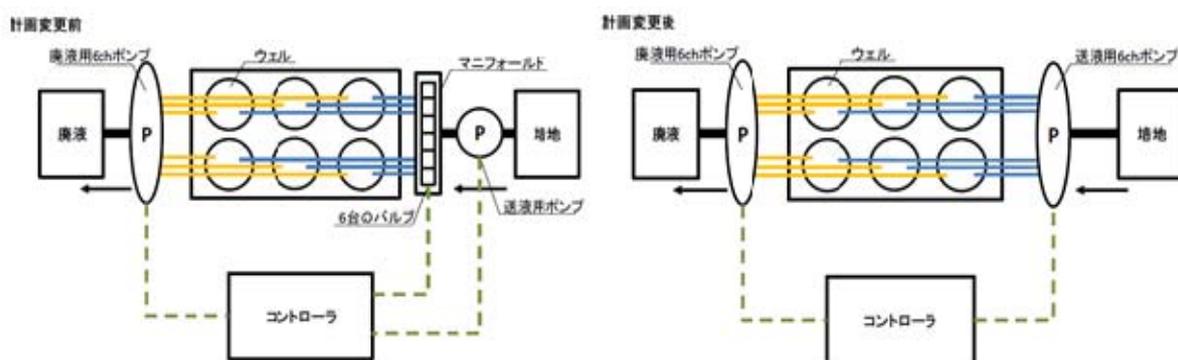


図2-1-1 送液方法の変更

しかし、このバルブを使用する際にはコスト面の問題が発生した。成型化より製品単価は従来のものの10分の1に減少したが、このバルブを6個使い捨てにするには、大幅なコスト削減を行う必要があり、そのためには完全自動製造ラインを作る必要がある。

また、供給用として想定していたポンプが培地を流した際に動作が不安定になり送液できない場合もあった。

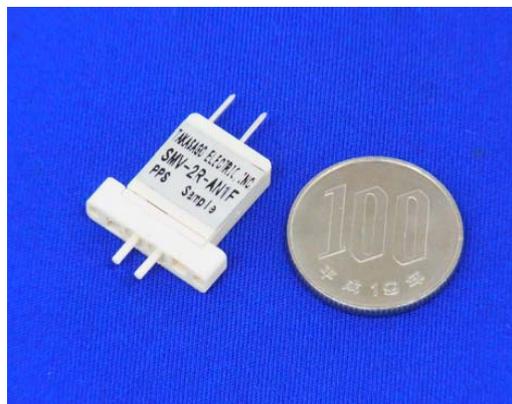
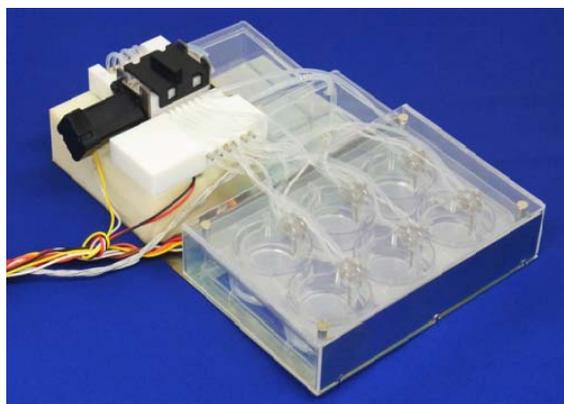


図2-1-2 二次試作

そこでディスポーザブル部の単価を抑えるために、二次試作時に完成していた廃液用の6chポンプの精度および寿命の改善により対応する方針(図2-1-1 (右側))に切り替えた。

2015年に完成した6chの廃液ポンプは、すべて切削で製造されていたため、非常に精度よく流体を供給することができた。しかし、チューブが破れやすいという問題があったので、チューブを取り付ける部分を改良し、チューブが破れにくい構造にすることでチューブの寿命が数十時間から約千時間に伸びた。また、チューブへのダメージが軽減されたため、チューブ劣化による流量変化が無視できるレベルになった。

これにより、各ch間の流量誤差を10%以下にすることができたので、このポンプを培地供給にも採用することにした。

改良したポンプ(図2-1-3)は信頼性の高いペリスタポンプであり動作不良が起りにくい。そのため、標準品としては異常検知機構を付ける必要がなくなった。交換部品も送液に関してはチューブだけを交換すればよいので劇的にディスポーザブル部のコストダウンに成功した。

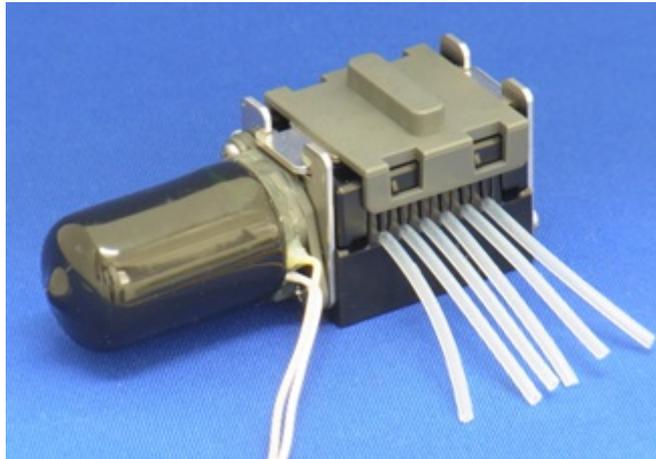


図2-1-3

なお、本研究で作製した小型バルブは今回のディスポーザブル部に使用するにはコストが合わないが、一般的なバルブと比較して劇的に安く集積もできるので、血液分析装置向け分注機などに応用できるほか、培養関係だけでなく、幅広い分野での応用が期待できる。

2-2 ポータブルとして使いやすいサイズと構造

本研究で開発した装置は、インキュベーター内で使用することが前提である。そのため、インキュベーターに無理なく入れられるサイズである必要があった。装置構成としては培養部とポンプ部、コントローラー+培地タンクの部分があるがこれらの配置を作業を邪魔しないぎりぎりまで詰めることにより、可能な限りの小型化を行った。

また、当初すべてのパーツを収めるシステムベースを金属の板金で作ることを想定していたが、培地の成分である食塩水で、金属をメッキしたものやステンレスを使用した場合でも錆びる可能性があることが分かった。システムベースが錆びると最悪の場合、インキュベーター内のステンレスもシステムベースからのもらい錆びをしてしまう場合があるので、樹脂に変更した。

またインキュベーターからの頻繁な出し入れも想定されるため、作業者が持ちやすいように側部に指をひっかける部分を作るなど作業性を考慮した設計にした。

2-3 コントローラーの連続動作時間の延長と多機能化

本研究で開発したコントローラーは、インキュベーター内に設置し、インキュベーター内の多湿環境下で動作させるために防水性を持たせ、培地交換の期間(3~7日間)連続

で動作することが求められる。小さなバッテリーであり容易に交換可能にするために単3型乾電池を採用し、コントローラーの筐体には防水性を満たすボックスを使用した。連続動作時間を満たすために、回路や各種ICの消費電力を下げ、電源ICとして効率の良いものを選択した。また客先や展示会でデモを行う中でログ機能の搭載も求められたため、その機能も追加するよう改良中である。

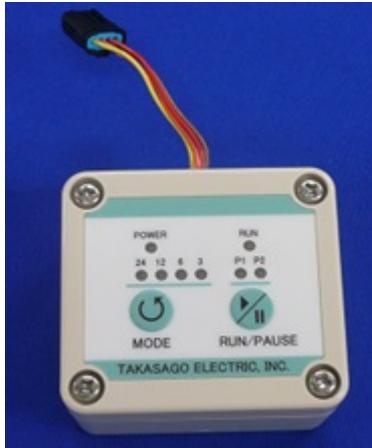


図2-3-1 外観形状

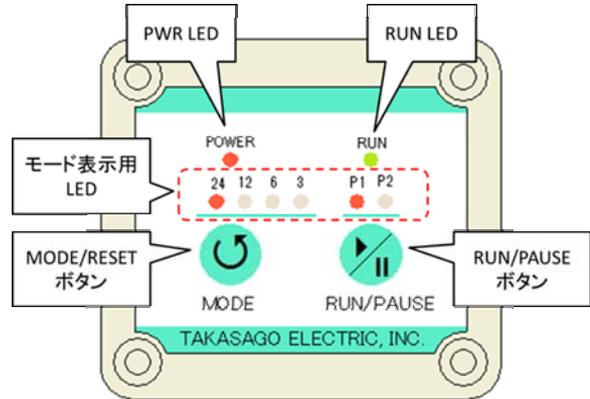


図2-3-2 ユーザーインターフェイス

2-4 実際の培養実験

一次試作を評価した際には培養実験中に細胞が死んでしまったため、二次以降の試作では接液部品に細胞に対する毒性がないことを確認するために培養中の細胞に接液部品の一部を入れて毒性がないことを確認した。その後の培養では、iPS細胞由来の心筋細胞、未分化のiPS細胞、ニワトリ胚心臓由来線維芽細胞の培養を行い、いずれも数日間の維持に成功している。

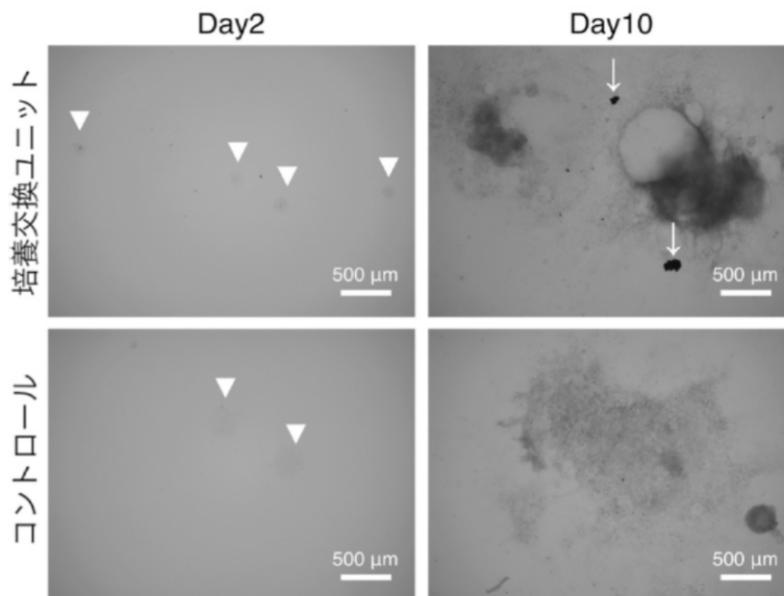


図2-4-1 二次試作検証結果（マウスiPS細胞の心筋細胞への分化誘導培養）
データ提供：東京大学生産技術研究所 藤井(輝)研究室殿

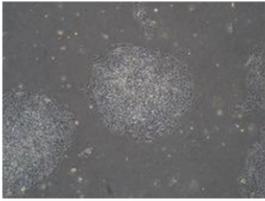
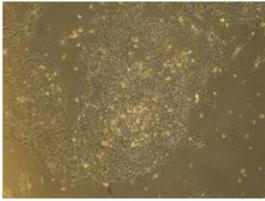
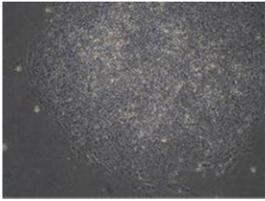
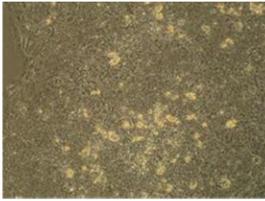
	通常の培養 (コントロール)	自動培地交換ユニットで培養
40倍		
100倍		

図2-4-2 三次試作検証結果 (iPS細胞 2~3日間)
データ提供：株式会社リプロセル殿

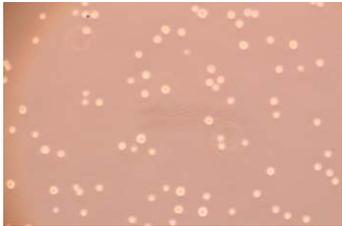
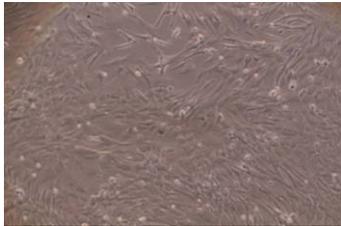
1日目	4日目
	

図2-4-3 三次試作検証結果 (ニワトリ胚心臓由来線維芽細胞)
データ提供：法政大学 金子研究室殿

第3章 全体総括

本研究開発において、自動培地交換装置「ポータブル培地交換システム」は4回のモデルチェンジを行っている。

3-1 一次試作

小型バルブを6個使用し培地供給量誤差 $\pm 10\%$ 以内の均等送液を可能とした。しかしながら、ポンプやバルブのユニットが下段、細胞培養部分が上段の二段構造のため、培養部分を装置に載せたまま顕微鏡観察ができない点や、ユニットから生じる熱が細胞培養に影響を与える可能性がある点、培地供給側にバルブを6台使用する等でコストが下げきれない点が課題であった。

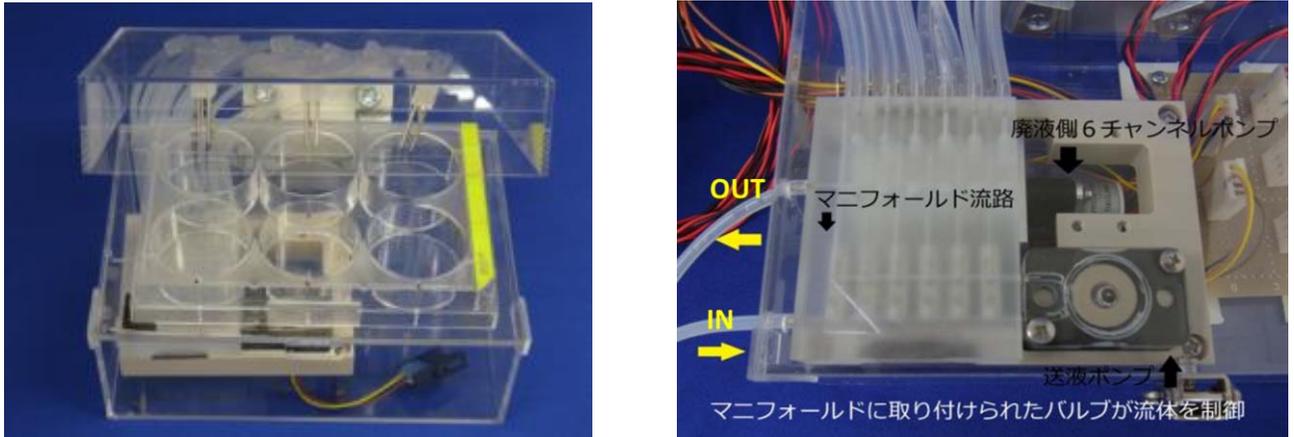


図 3-1-1 一次試作の外観と内部構造

3-2 二次試作

ユニット部分と培養部分を分離し、平置きの形に変更することで、装置に培養部分を載せた状態での顕微鏡観察を可能にし、さらに温度上昇による培養への影響を防いだ。また、排出にチューブ交換型の6chポンプを採用し、ディスボ部分のコスト削減とワンタッチ取付けを可能にした。しかし、送液側にバルブ6個を使用するなど、コストを十分に下げきれない点や、ウェルプレートのメーカーごとに穴の深さと配置が若干異なることで残液量に違いがでるといった課題が生じた。

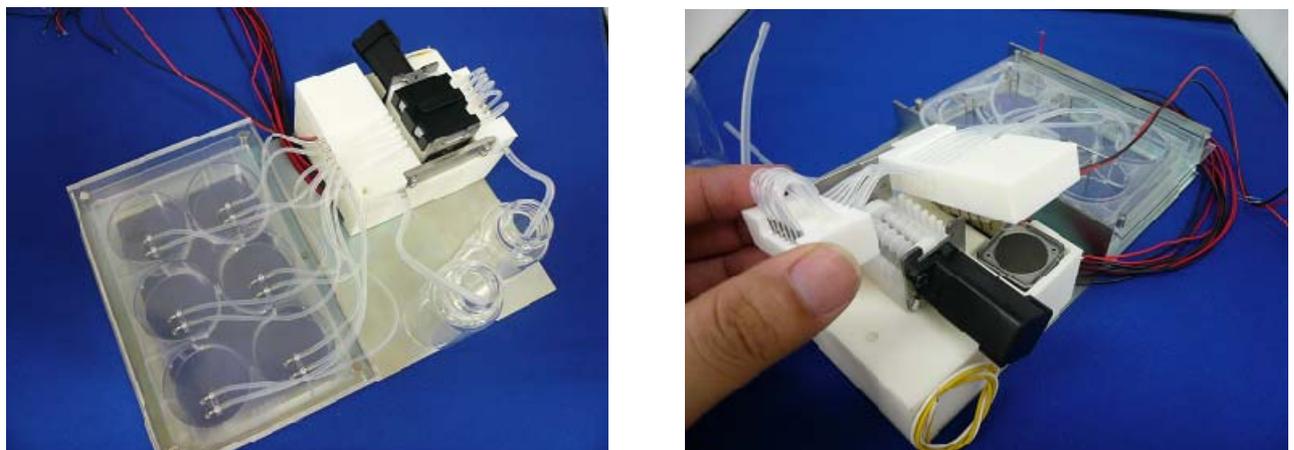
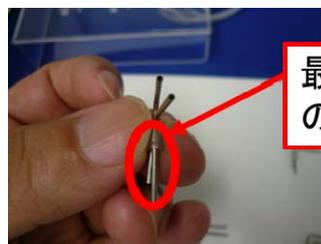
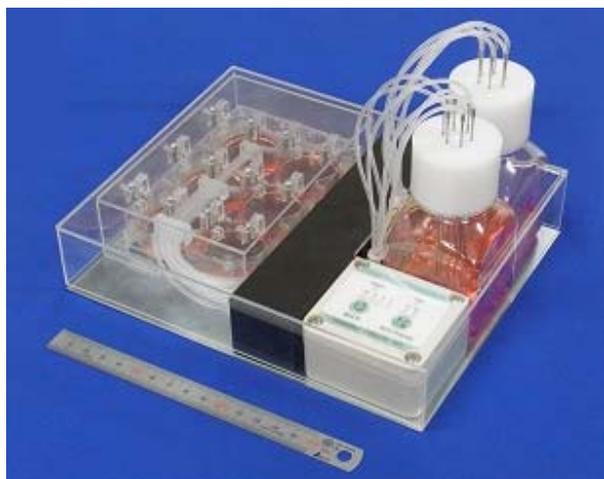


図 3-2-1 二次試作の外観と内部構造

3-3 三次試作(改良前)

ノズルフックをはめ込み型に変更し、位置の微調整を可能にした。ウェルとノズルの位置関係を調整することで、培地の残液量を一定にできるようになった。

また、流量制御用のバルブをなくし供給側も6chポンプを使用することで低コスト化した。さらに、ディスポ部をオートクレーブ対応による再利用可能にしたことでディスポ部の価格低減を狙った。しかし、オートクレーブへの対応不足で、ノズルと内蓋が変形してしまった。



最大で0.2mm
の寸法変化



最大で0.85mm
の寸法変化

図3-3-1 三次試作（改良前）

3-4 三次試作(改良後)

接着剤による膨張が内蓋の変形の大きな原因だったので、成形化することで大きな寸法変化なく、オートクレーブ対応とすることができた。また、ノズルに関しては、接着剤を変更することで変形を防いだ。

3-5 現行品

補助金期間終了後も開発を続ける中で、三次試作の段階でベースに使用していた金属が腐食する可能性がでてきたため、自社で金型投資を行い、樹脂ベースに変更した。



図3-5-1 現行品

3-6 今後の課題

今後の課題は、オプションおよび実証例の充実である。

細胞培養の特にiPS細胞の培養では、培地に何種類かの試薬を入れたものを使用する場合もある。それらの試薬は37℃環境下で長時間放置しておくで分解されてしまうと考えられているため、培地交換の直前に培地を解凍して使用する場合が多い。これまでの実績からこのような工程をとっているという場合が多く、実際に37℃で培地を保持しておくとうなるかわからないため、この装置に難色を示す研究者もいる。そのため、今後は一つでも多くの実証例を集めてこの装置は有用であることを示す必要がある。また、同時に培地を低温で保ちたいというニーズも間違いなくあるため、この点に対応するオプション製品の開発なども行う必要がある。

3-7 事業化展開

3-7-1 川下企業のニーズ

現状、川下顧客であるマルチウェルプレートのユーザーは、細胞を維持培養するために手作業での培地交換を主流としている。培地交換の為に休日出勤をしなければならないこともあり、非効率かつ人件費の負担が大きい。また、大量培養を想定した大型の自動細胞培養装置は販売されているが、少量の細胞培養を行う研究者や技術者には高額で大きすぎるため使いづらい。これらのことから、小型かつ自動で培地交換を行う装置のニーズが高まっている。

これらのニーズ調査は、実際に学会展示やユーザー訪問による直接のヒアリング以外にも、試薬メーカーや理化学機器商社と関係を構築し、彼らの取引先である研究機関や創薬メーカーにヒアリングを行ってもらうこと等で確認していった。また、調査で確認したニーズや市場動向は積極的に取入れを行った。主な例として、細胞培養研究者に本装置を使ってもらい、雑菌による汚染が発生しづらい上蓋ノズル配置、培養液ビン蓋のノズル構成などの配管デザインに取り入れた。その他にも、「試薬導入用ノズルが欲しい」「流量や交換頻度を変更したい」などの改善につながっていくニーズや、「コンセプトが面白い」「安い」「条件を振って実験できる」「すぐ欲しい」などのお褒めの言葉も確認できた。

3-7-2 想定する市場（現状、今後の動向）

再生医療とは、事故や病気により失われた人体の臓器や組織の機能を再生する技術で、従来の治療法では困難であった疾患等を根本から治癒できるとの期待から、近年注目されてきている。また、細胞培養により再生された細胞や組織は人体へ移植するだけでなく、医薬品の有効性の評価にも活用できるため、今後更なる再生医療市場の伸びが予測されている。

本事業の目標達成により参入を目指している再生医療周辺産業の国内市場は、図3-7-2に基づき2012年度の実績として170億円、2050年度には1.3兆円に達する見込みである。世界市場においては、2012年度で2,400億円、2050年度には15兆円と推計されている。

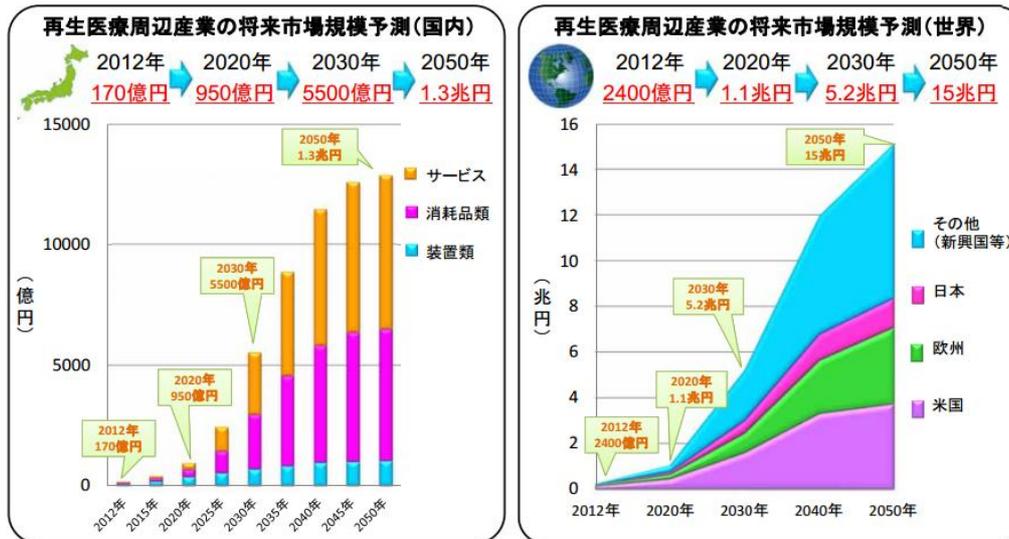


図3-7-2 再生医療周辺産業の将来市場規模予測

出所：「再生医療の実用化・産業化に関する報告書 概要 ～再生医療の実用化・産業化に向けて～」
経済産業省 2013年2月

3-7-3 販売促進戦略

自動培地交換ユニットの販売促進戦略として、まずは再生医療市場における展示会出展が挙げられる。日本では、日本分子生物学会や日本再生医療学会総会の学会併設展示会に出展をすることにより、自動培地交換ユニットの宣伝に繋がる。

その他の販売促進戦略として、ホームページ上で専用のページを作成し、製品の詳細情報や動画などを掲載することで人的生産性の高い宣伝方法を実施する。

海外においては、図3-7-2の再生医療周辺産業の世界市場規模から、米国の市場規模が国別で一番大きいことが分かる。再生医療関連のメーカーも米国に数多く存在し、研究も盛んに行われている。このことから、米国にターゲットを置いて販売促進戦略を進める。当社は米国マサチューセッツ州に支店があるため、そこをマーケティング活動の拠点として活用する。

3-7-4 事業化による経済効果

本事業が事業化された暁には、研究用の細胞の安定供給が実現できるため、再生医療における研究の発展に貢献できると考える。再生医療の実用化が進むことで、これまで治療が困難であった糖尿病や肝臓疾患などの治療が期待できる。現在、これらの病気の患者数は多く、長期間に亘る治療が必要であるが、再生医療によりこの状況を改善することが出来れば、患者のQOL(生活の質)の向上だけでなく、医療費削減や、患者数の減少に伴い労働者が増える等、社会経済効果は高いと考える。なお、直近では創薬研究において薬効や毒性などをiPS細胞などの幹細胞を用いて評価する動きがあり、本開発品は医薬品の開発においても貢献できるため、その点からも社会経済効果がある。

また、本事業で開発したデバイス技術は、一例として現在急速に普及が進んでいるPOCT(Point of Care Testing)分野にも応用が可能である。POCTとは、別名「ベッドサイド検査」と呼ばれており、患者の近くで検査をすることで、検査結果を即座に医師が判断できるため、迅速な対応が可能となり診察の質の向上につながる。その結果、POCTへのニーズも年々高まっている。株式会社富士経済の「病理・遺伝子・細菌・POC検査市場を調査」によると、2011年度におけるPOC検査キットの市場規模は、1,062億円にも及び。今回の開発をもとに、POCT検査装置内での試薬の反応、混合を簡易化す

るデバイスを製作することで、川下企業である POCT 検査装置の普及およびこの業界の技術向上が期待できる。本事業で開発した小型バルブや 6ch ポンプなども再生医療周辺分野だけでなく POCT 分野等にも広く販売し普及させていくことで、POCT 検査装置を用いた早期診断による医療経済効果などが期待できる。

3-7-5 販売後の見込み

株式会社富士経済による、「ティッシュエンジニアリング関連市場の最新動向と将来性2013」のレポートによると、2012年度における細胞培養用プレートの市場は20.3億円であった。販売代理店等により約500台を国内販売目標、世界では2500台を販売目標としている。