

# 技術開発事例

共同研究

# 3次元回転培養装置の自動制御システムの構築に関する研究

【共同研究先】

ツジ電子株式会社 産業技術総合研究所

## はじめに

近年、3次元培養技術は、再生医療の分野で多くの注目を集めています。特に、RWV(rotating wall vessel) バイオリアクターは軟骨細胞、腫瘍細胞、肝細胞などの培養に役立つ装置です<sup>1)</sup>。以前の研究でこのバイオリアクターを用いてウサギ骨髄細胞から大きく均一な軟骨組織を短期間で構築に成功し<sup>2)</sup>、また、この培養した軟骨組織をウサギ膝関節軟骨の欠損へ移植すると良好な再生が見られることが報告されました<sup>3)</sup>。このバイオリアクターは、ガス交換膜を備えている円筒形の培養容器の水平軸方向の回転によって、上方向の培養液の流れと下方向の重力を相殺し、培養容器内の細胞塊が浮遊します。これは細胞が凝集することを助け、軟骨細胞への分化を促進し、3次元組織を形成します。しかしながら、現在のシステムは組織の成長による質量の増加とともに回転速度が変化するが、その回転速度を手動でコントロールする必要がある。例えば、ウサギ骨髄細胞からの軟骨再生のための最初の回転速度は約12 rpm ですが、組織質量の増加により、4週目に最高20rpmまで増加します<sup>2)</sup>。この作業は装置使用者の大きな負担になるため、自動回転制御システムの開発は、バイオリアクター使用者の使い勝手の向上のみならず、人の手を介さない臨床現場での応用が期待されます。この研究では、3次元回転培養装置の自動制御システムを開発しました。

## 新しい培養技術 -Rotating Wall Vessel bioreactor-

### 骨髄由来幹細胞系軟骨細胞 から軟骨分化に対する両面点



### Rotating Wall Vessel バイオリアクター

水平軸方向の回転によって、上方向の培養液の流れと下方向の重力を相殺

細胞塊が溶解せず育いた状態を維持できる。



## 画像処理装置と回転制御システム

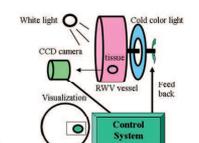
### 画像処理装置がカメラにより位置情報も取得



## 3次元回転培養装置の自動制御システム

### 制御システムがベクトルの回転速度を設定

カメラにより取得した細胞塊の位置情報から、それが適切な位置にあるかどうか、プログラムで判断されます。そして、不適当な場合は制御システムがRWVバイオリアクターの回転速度を増減し、適切な位置になるようにコントロールします。



## 実験方法と結果



【特許】 骨格形成制御装置  
特許第6020号「骨格形成制御装置」  
特許第6021号「骨格形成制御装置」  
特許第6022号「骨格形成制御装置」

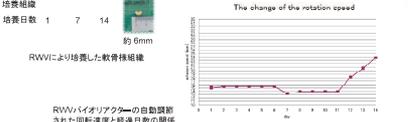
観察された細胞塊は、培養液を含む骨格形成培養液中で培養された。その観察画像(縦横2×10<sup>3</sup>)を情報登録し、CCDカメラの視野内に設置したRWVバイオリアクターに取り付け、2週目培養を行い、その回転速度は、培養管内で細胞塊が浮遊するように、制御システムによって自動的に調整された。

観察された細胞塊は、培養液を含む骨格形成培養液中で培養された。その観察画像(縦横2×10<sup>3</sup>)を情報登録し、CCDカメラの視野内に設置したRWVバイオリアクターに取り付け、2週目培養を行い、その回転速度は、培養管内で細胞塊が浮遊するように、制御システムによって自動的に調整された。

### 制御システムを使用した培養した軟骨組織

組織学的性質	軟骨特有の生成物が見られる、成熟した軟骨組織を確認しました。	培養期間 2週間
ヘマトキシリン染色	<input type="checkbox"/>	後、黄色細胞質、ピンク
トリクロムブルー染色	<input type="checkbox"/>	軟骨特有の生成物、青紫
アルシアンブルー染色	<input type="checkbox"/>	軟骨特有の生成物、水色
マッソン染色	<input type="checkbox"/>	軟骨特有の生成物、赤色

## 培養中の細胞塊の質量と回転速度の変化



## まとめ

1. RWVバイオリアクターのための自動回転制御システム(プロトタイプ)を開発しました。
2. 自動制御システムでコントロールしたRWVバイオリアクターにより、ウサギ骨髄細胞から軟骨塊組織を構築しました。今後はこの自動細胞培養システムが、いろいろな組織構築に利用できると思われます。

## 参考文献

- 1) B.R,Unsworth, P.J,Leikes 'Nat, Med, 4, 901-907 (1998)
- 2) Y.Ohyabu, N.Kida, H.Kojima, T.Taguchi, J.Tanaka, T.Uemura Biotechnol, Bioeng, 95, 1003 (2003)
- 3) T.Yoshida, H.Mishima, Y.Ohyabu, S.Sakai, H.Akaogi, T.Jshii, N.Ochiai, H.Kojima, J.Tanaka, T.Uemura, J, Orthopaedic Res, 25,1291 (2007)

## 基礎となった事業

平成19年度 いばらき研究開発推進事業 (共同研究)

## 担当部門

技術基盤・技術融合部門 技師 青木邦知 tel : 029-293-7482