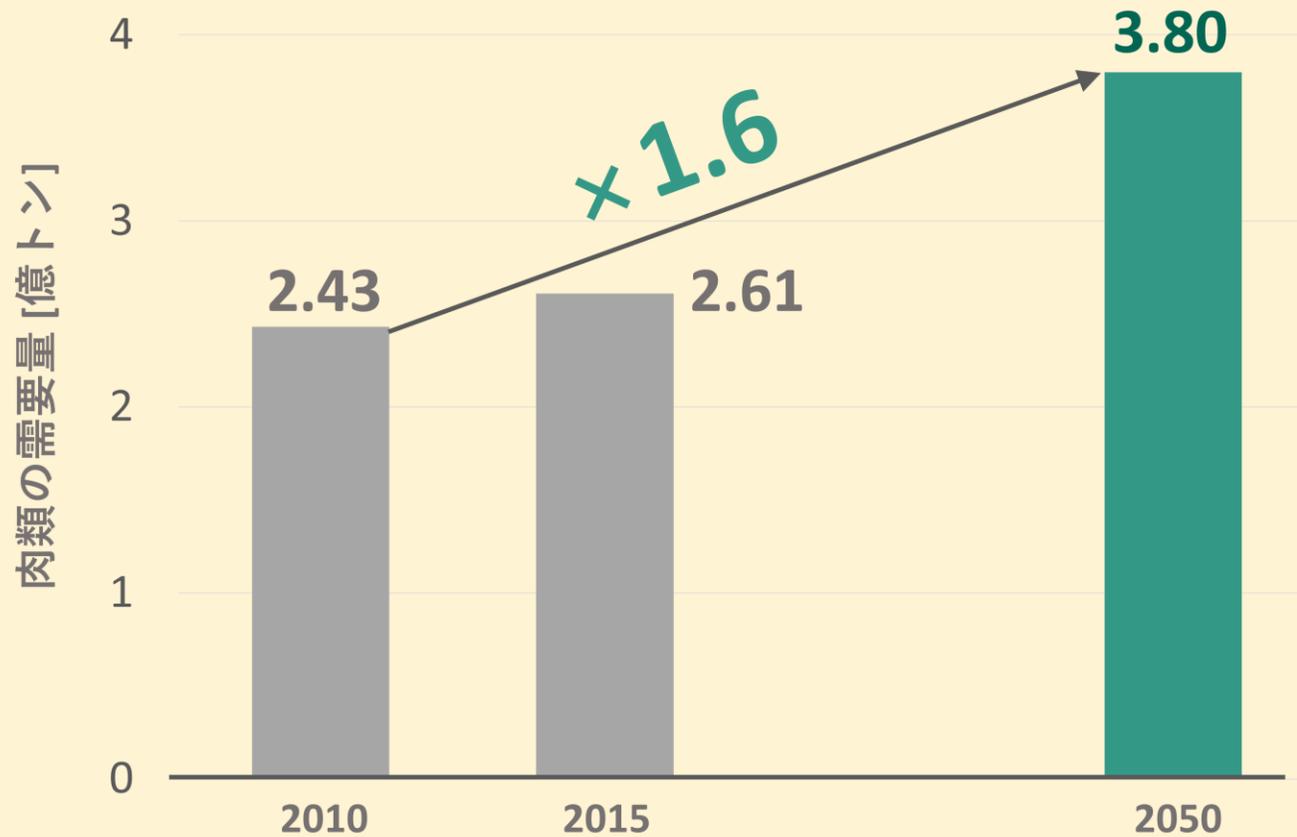


骨格筋（筋肉）細胞を培養する技術

2025年 3月 13日

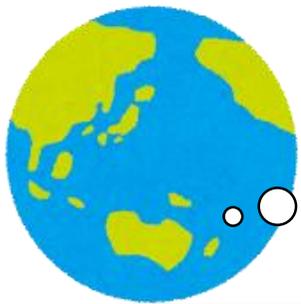
近畿大学 農学部 生物機能科学科
講師 岡村 大治

肉類の需要量の見通し



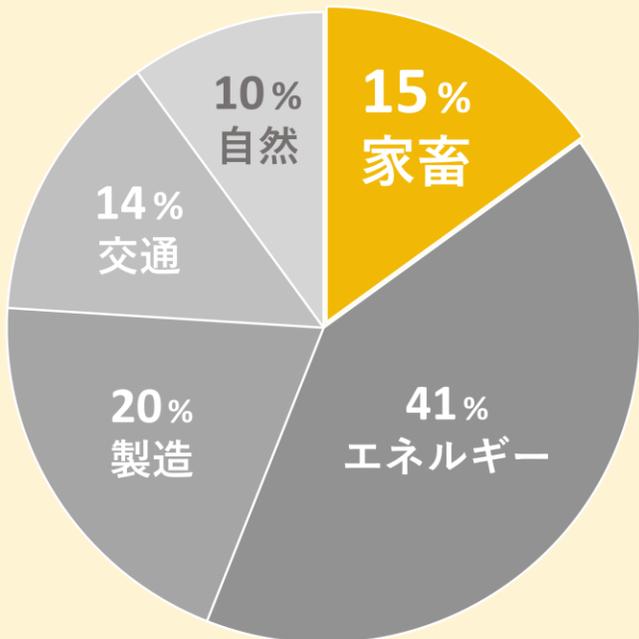
『2050年における世界の食料需給見通し』（農林水産省大臣官房政策課食料安全保障室）よりCAICが作成

脱炭素に関して

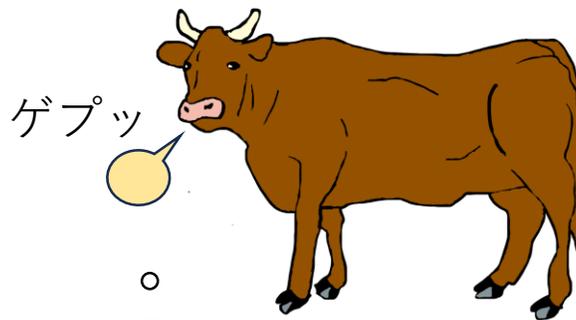


地球温暖化の抑制
↓
温室効果ガスの削減

世界の地球温暖化ガス排出源



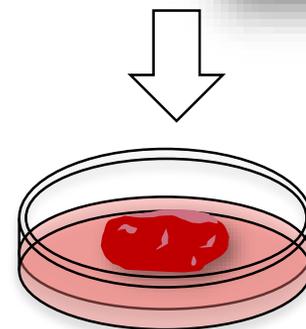
畜産における問題



大量の**土地**や**飼料**・**エネルギー**の必要性

二酸化炭素の
約25倍の温室効果

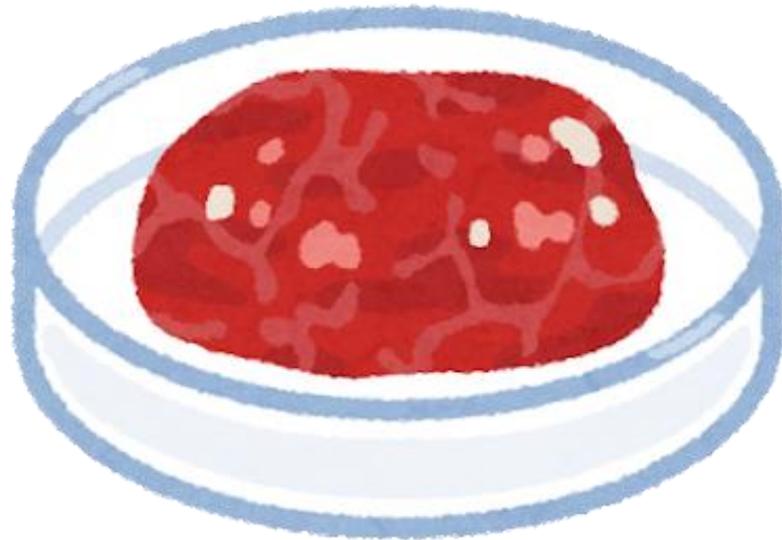
膨大な**メタンガス**
の排出



代替肉の必要性

- ・ 培養肉

→動物から採取した細胞を人工的に培養し、さらにそれらの細胞を組織化させることで生産される代替肉

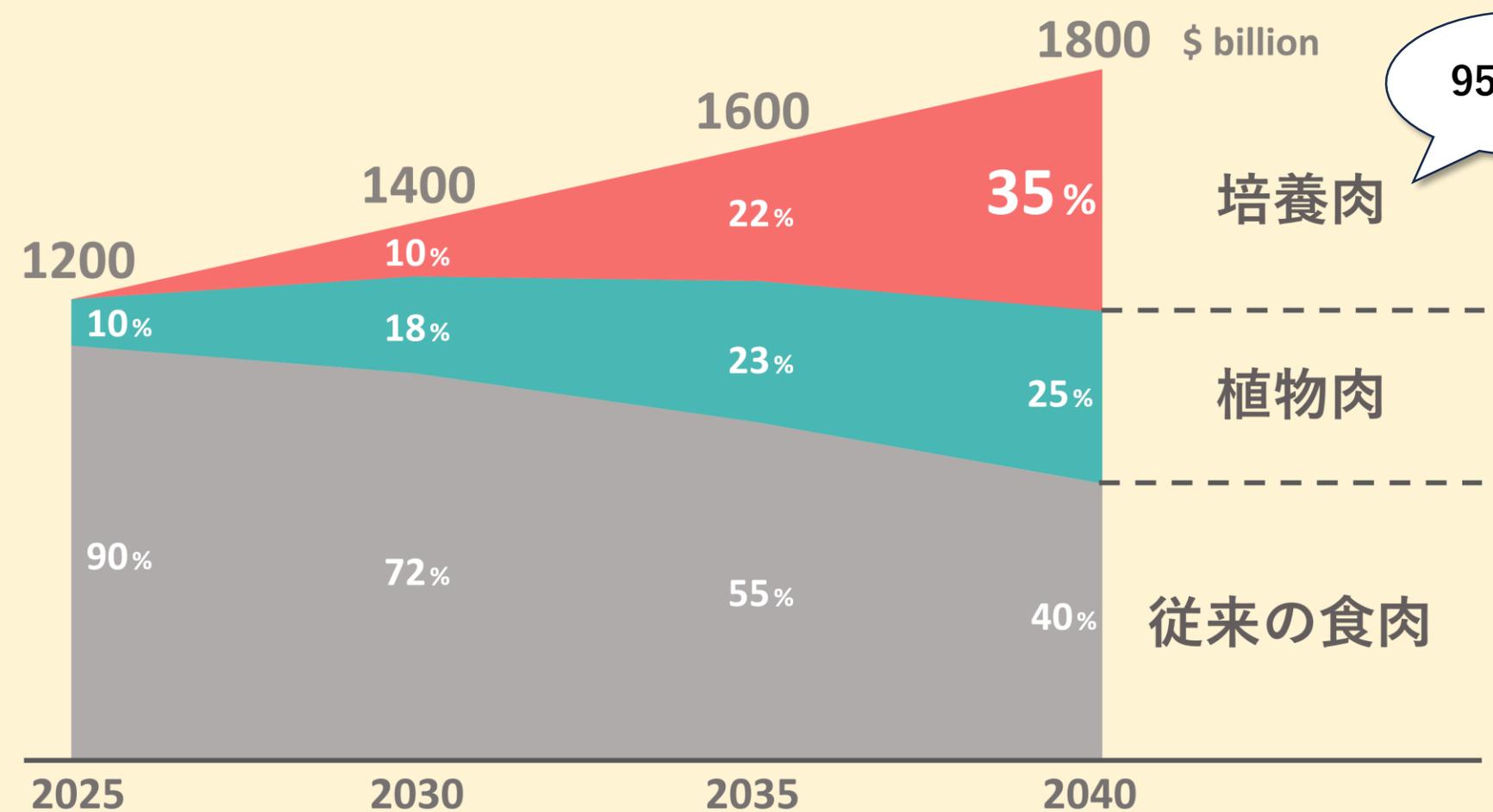


オランダ・マーストリヒト大学のマルク・ポスト氏が2013年に人工肉の開発に成功。牛の筋肉組織の幹細胞を培養し、3カ月かけて作った筋肉組織2万本分の人工肉

→3,300万円/ 枚

2040年には世界の食肉市場の35%が培養肉で代替される可能性

世界の食肉消費量



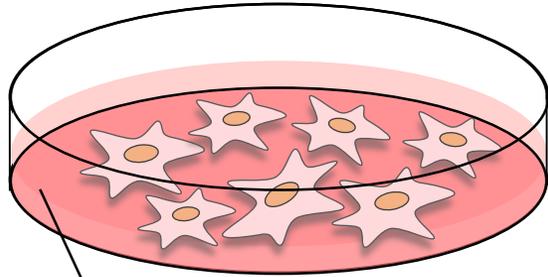
95兆円*

* \$1=¥150として換算

日本細胞農業協会HPより転載

『When consumers go vegan, how much meat will be left on the table for agribusiness?』 (A.T. Kerney) よりCAICが作成

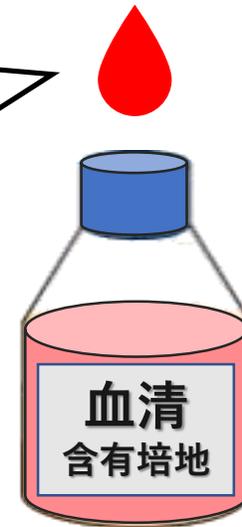
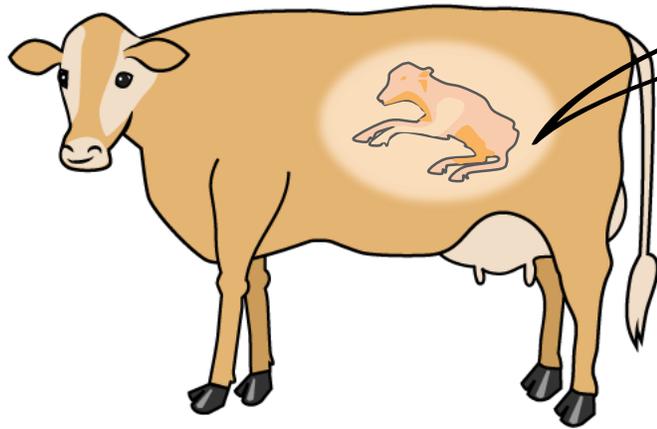
血清含有培地とは？



血清含有培地

	血清含有	血清非含有
安定した細胞増殖性	◎	△
安定した細胞接着性	◎	△
脂質・コレステロール・ホルモンなどの機能解析	×	◎

ウシ胎児血清



脂質やコレステロール、ホルモンなど、1,000種類以上の物質を含む

従来技術とその問題点

- 通常、がん細胞を含むあらゆる動物細胞を増殖させる際には、ウシ胎児血清（血漿成分）が用いられるが、高コストの原因であり、安全性・倫理的な課題も抱えている。
- ウシ胎児血清には、1,000種類以上もの物質が含まれており、細胞への薬効を阻害する場合がある。

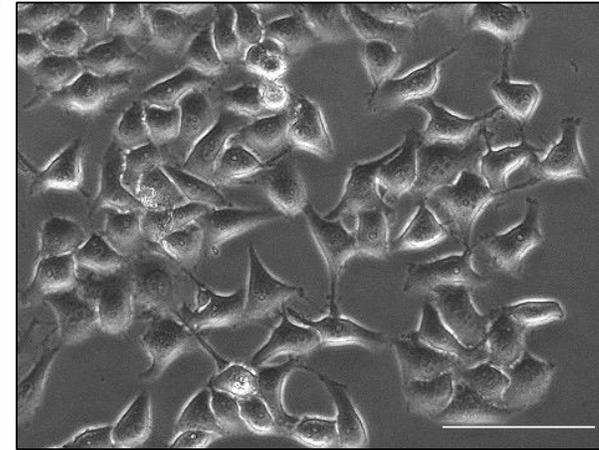
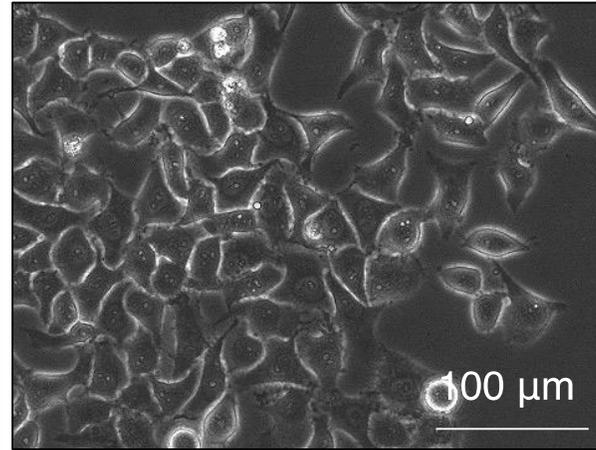
血清に含まれる薬効阻害効果

物質Aの抗腫瘍効果

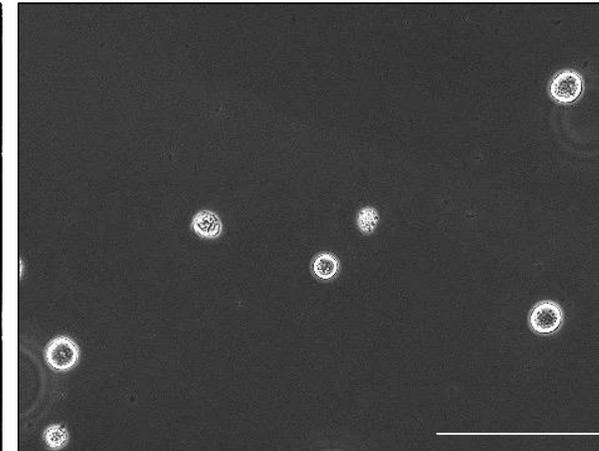
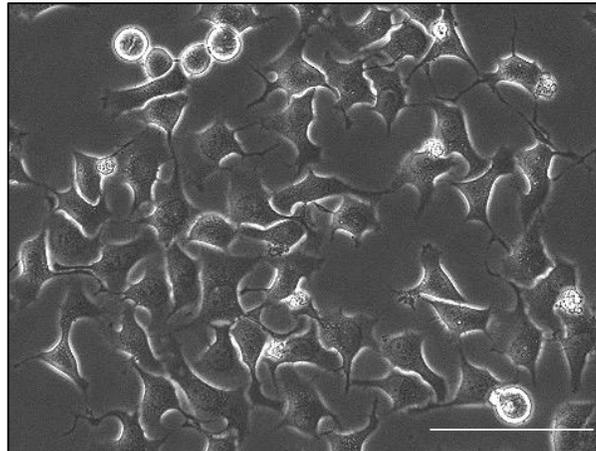
添加なし

+物質A

血清含有培地



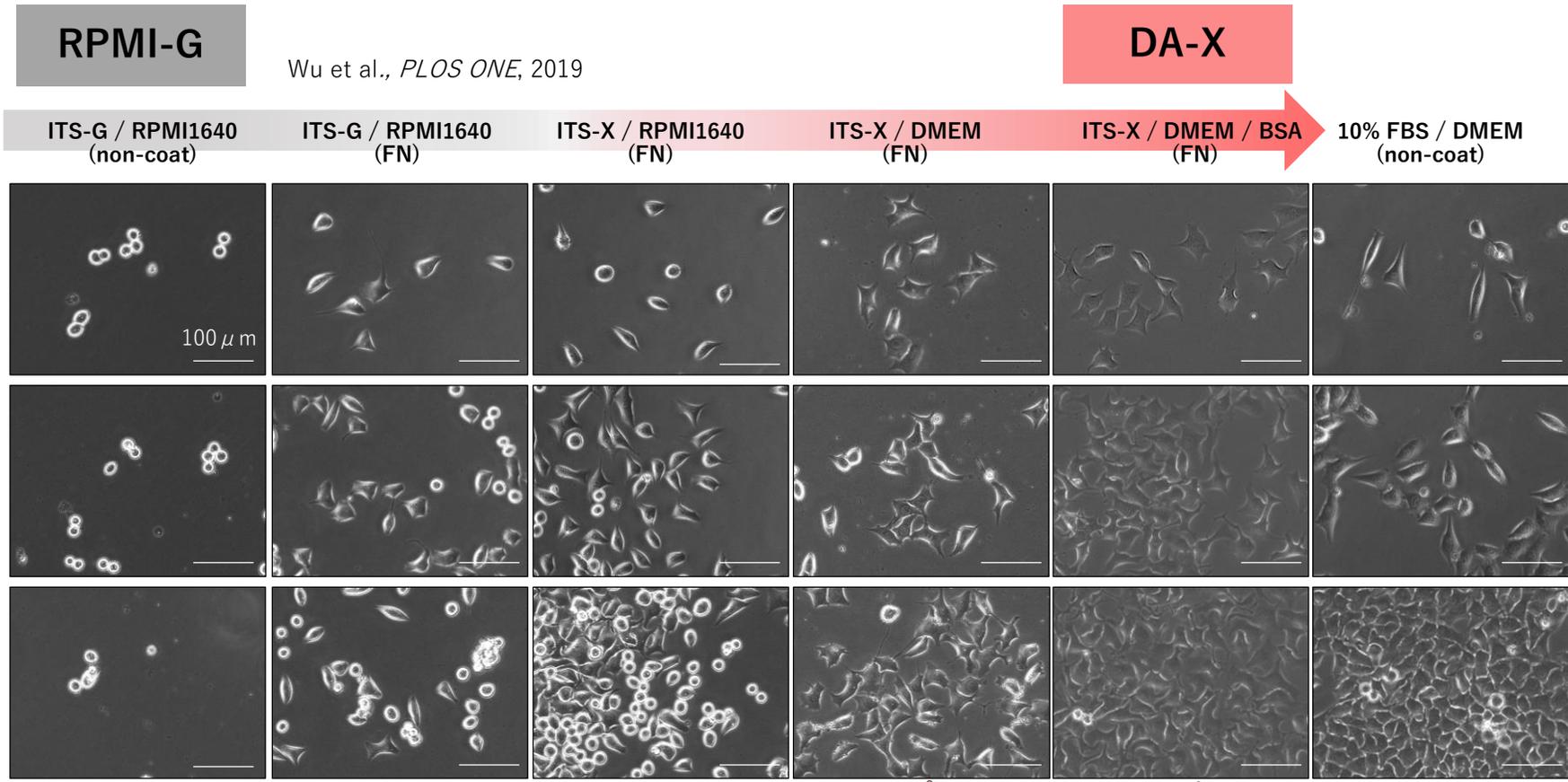
無血清培地



新技術の特徴

- 哺乳動物やニワトリの骨格筋細胞の無血清培地による培養増幅を実現
- 培養液を無血清化したことで、コスト・安全性・倫理的な課題を克服
- 動物性成分を排除することで、ヒトへの移植を実現可能に

DA-X条件は、HeLa細胞を安定して培養可能な新規の無血清培地である



Wu et al., *PLOS ONE*, 2019

DA-X

HeLa細胞
(ヒト子宮頸がん細胞)

Day 1
Day 3
Day 5

ITS-G / RPMI1640 (non-coat) ITS-G / RPMI1640 (FN) ITS-X / RPMI1640 (FN) ITS-X / DMEM (FN) ITS-X / DMEM / BSA (FN) 10% FBS / DMEM (non-coat)



Takii et al., *PLOS ONE*, 2022

開発にあたっての評価ポイント

- ① 安定した接着
- ② 仮足を伸ばした細胞形態
- ③ 安定した細胞増殖性

ITS-X

- Insulin
- Transferrin
- Selenium
- Ethanolamine (X)

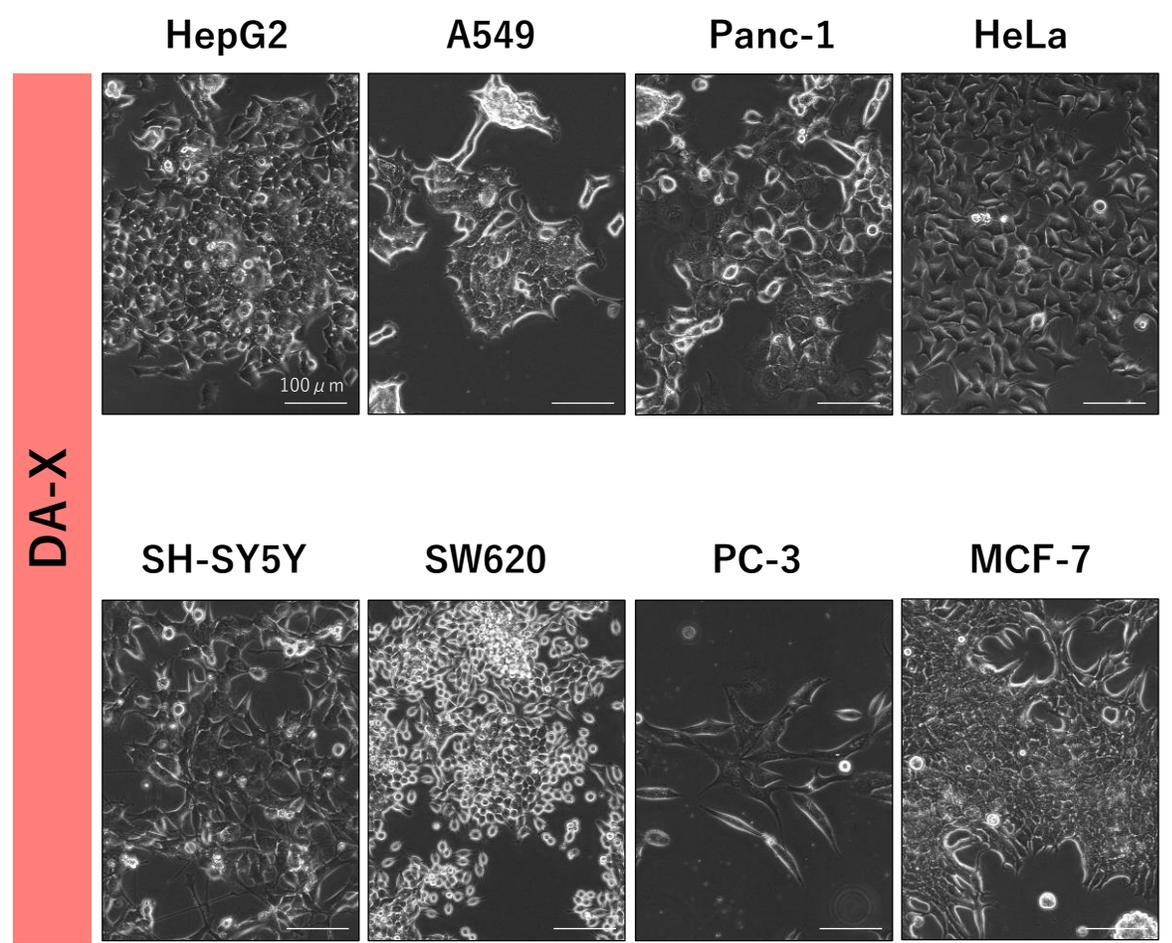
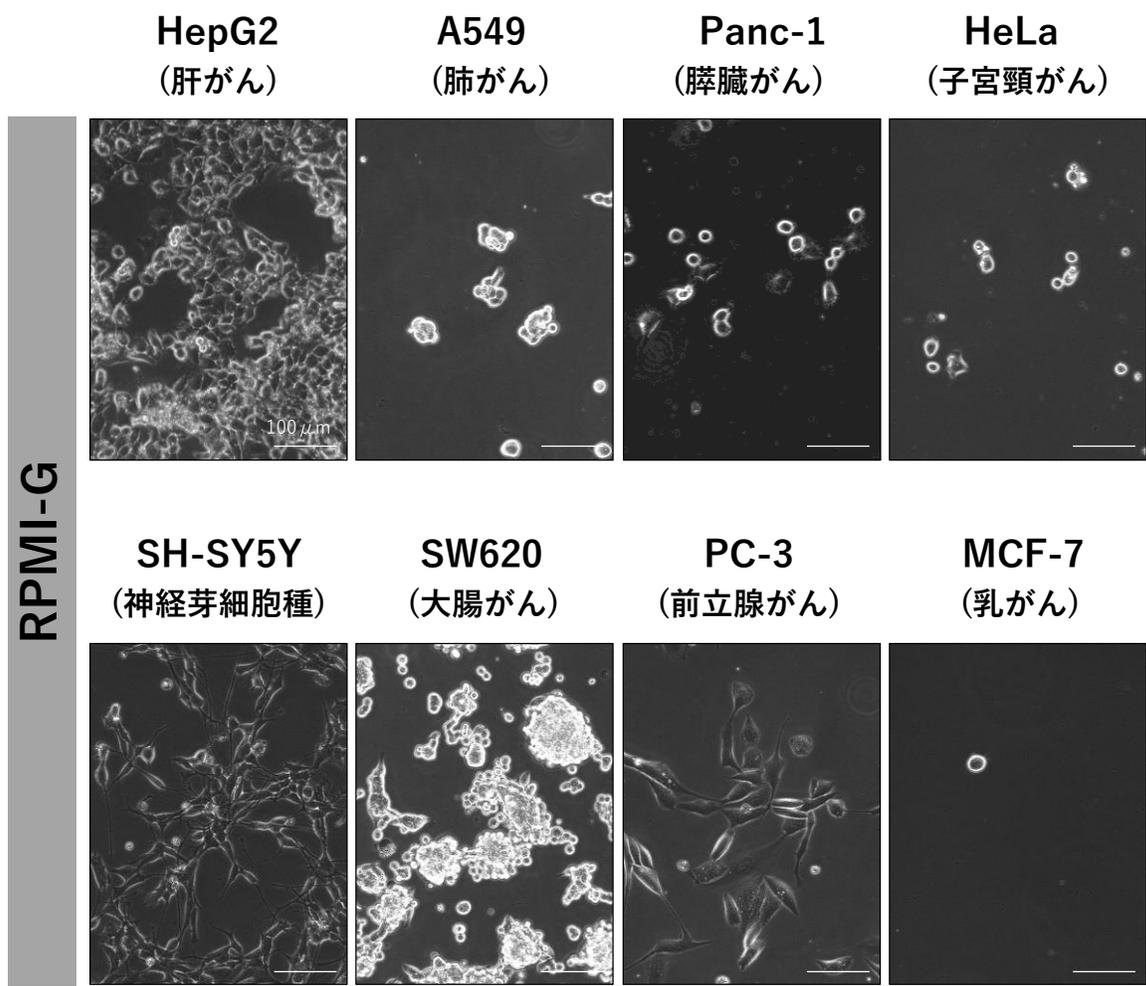
Ethanolamine

“DA-X 条件”

- **D**MEM
- **B**SA (Albumin)
- **I**TS-X
- **F**ibronectinコート

DA-X条件は細胞種を選ばないユニバーサルな無血清培地

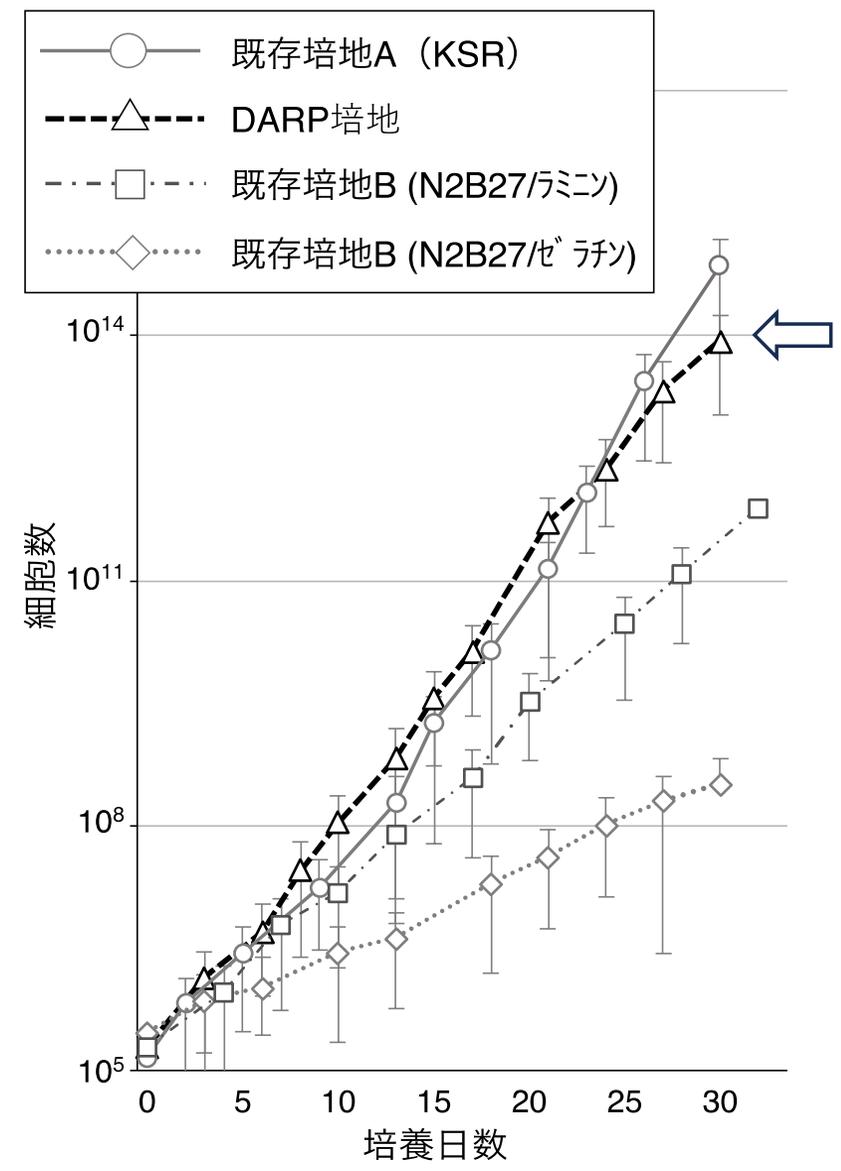
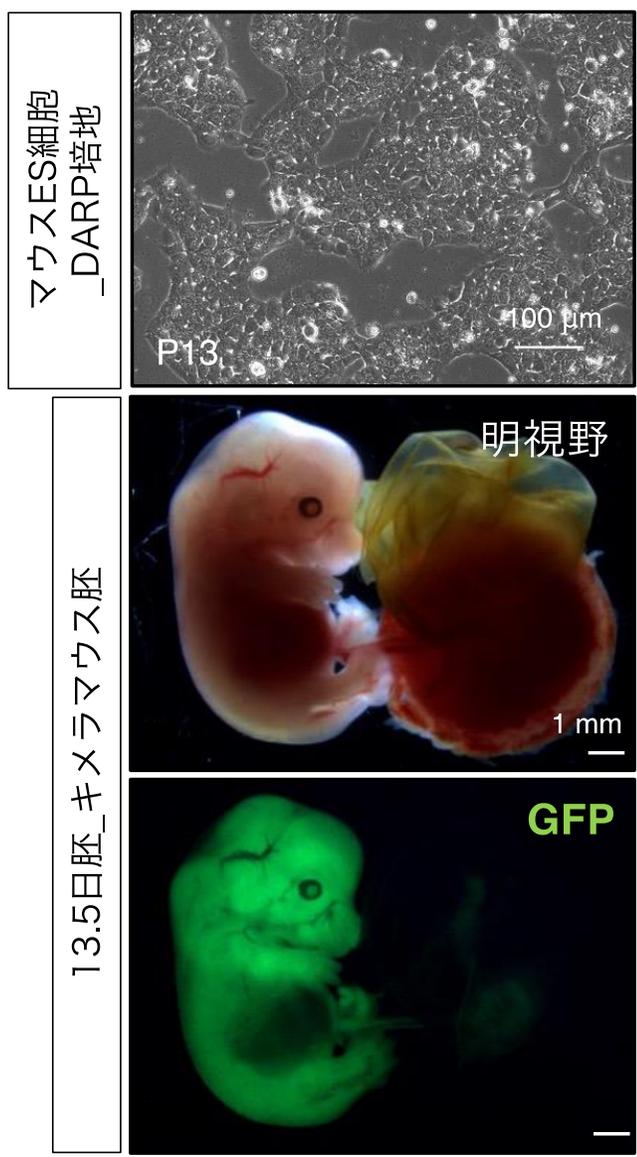
新技術説明会
New Technology Presentation Meetings!



DA-X条件は、各臓器・組織由来の代表的なヒトがん細胞株8種類
全てにおいて良好に培養を行うことができる

Takii et al., *PLOS ONE*, 2022

無血清培地DARP培地はマウスES細胞の増殖と未分化性をサポートする

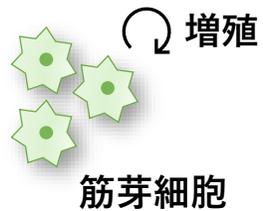
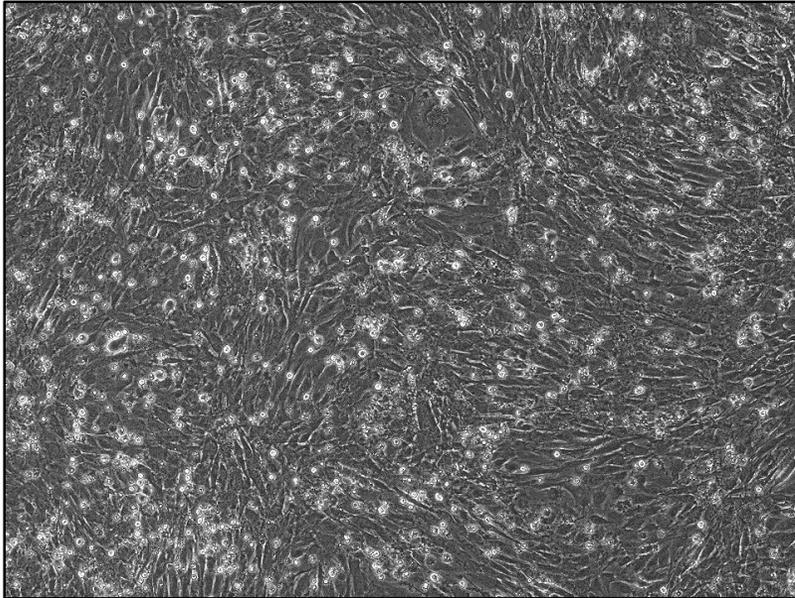


血清濃度に依存した筋肉細胞の分化と生存

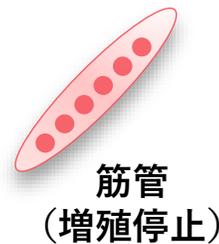
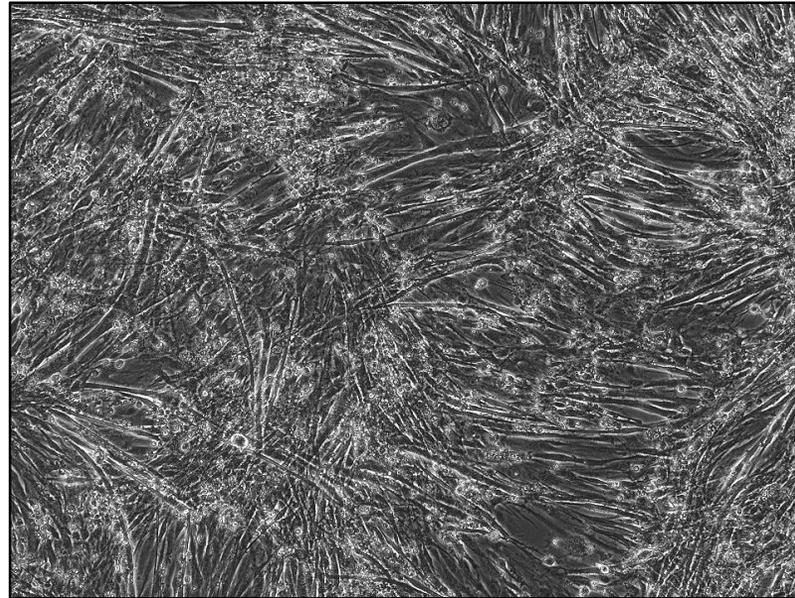
マウス骨格筋細胞株_C2C12細胞

Day 5

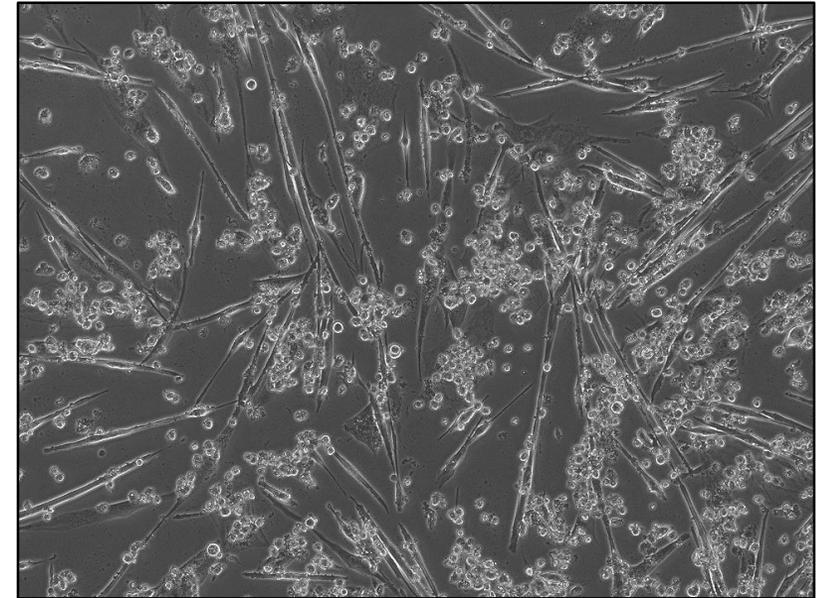
高血清条件_10%



低血清条件_2%



無血清条件_0% *

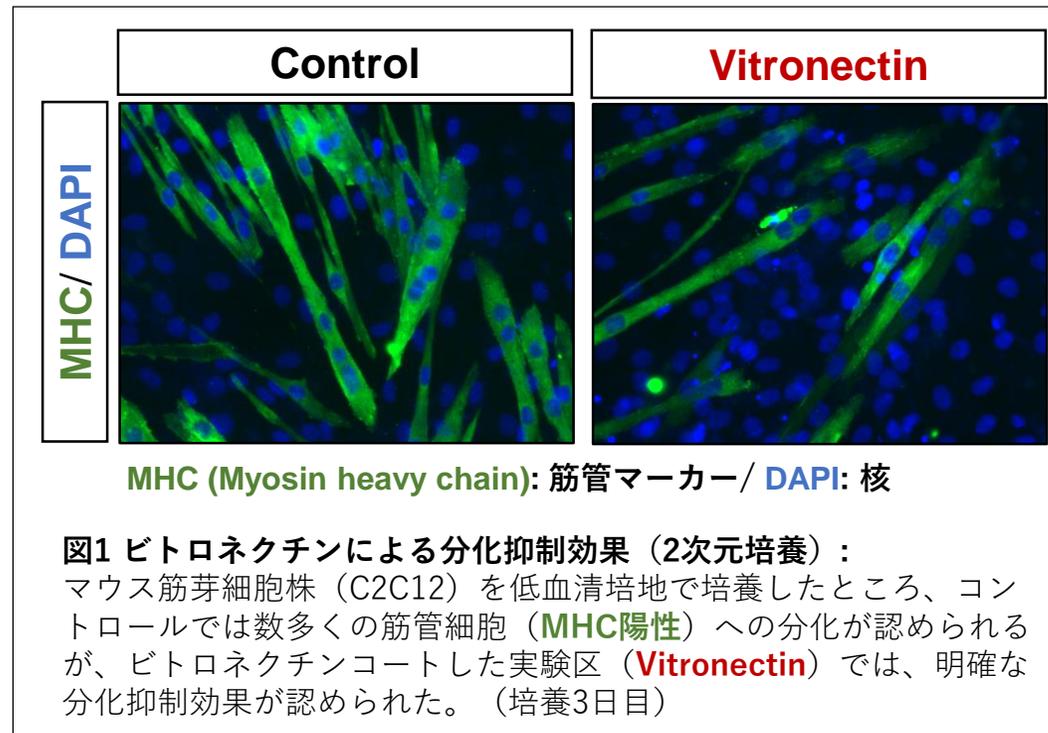


*がん細胞株用に開発した無血清DA-X培地
(Takii et al., *PLOS ONE*, 2022)



ビトロネクチンの筋管細胞への分化抑制効果

低血清培地



Katayama et al, 投稿準備中（分子生物学会にて発表, 2024年12月）

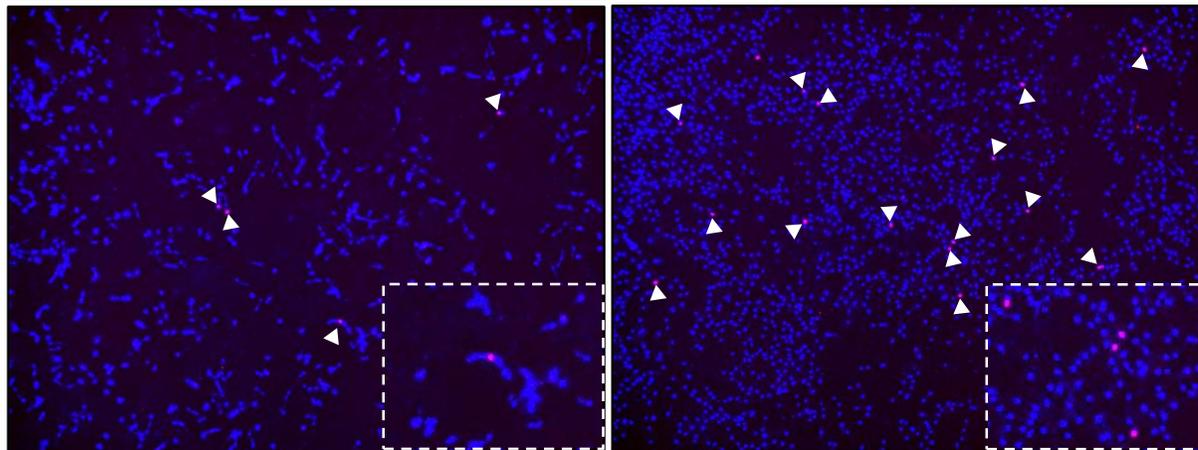
低血清培地



Control

Vitronectin

p-Histone H3 / DAPI



p-Histone H3: 細胞分裂マーカー / DAPI: 核

図2 ビトロネクチンによる筋芽細胞の増殖効果（2次元培養）：

マウス筋芽細胞株（C2C12）を低血清培地で培養した際、コントロールと比較して、ビトロネクチンコートした実験区（**Vitronectin**）では、明確な細胞増殖の促進効果が認められた（**DAPIの数ならびにp-Histone H3陽性細胞**（△））。（培養3日目）

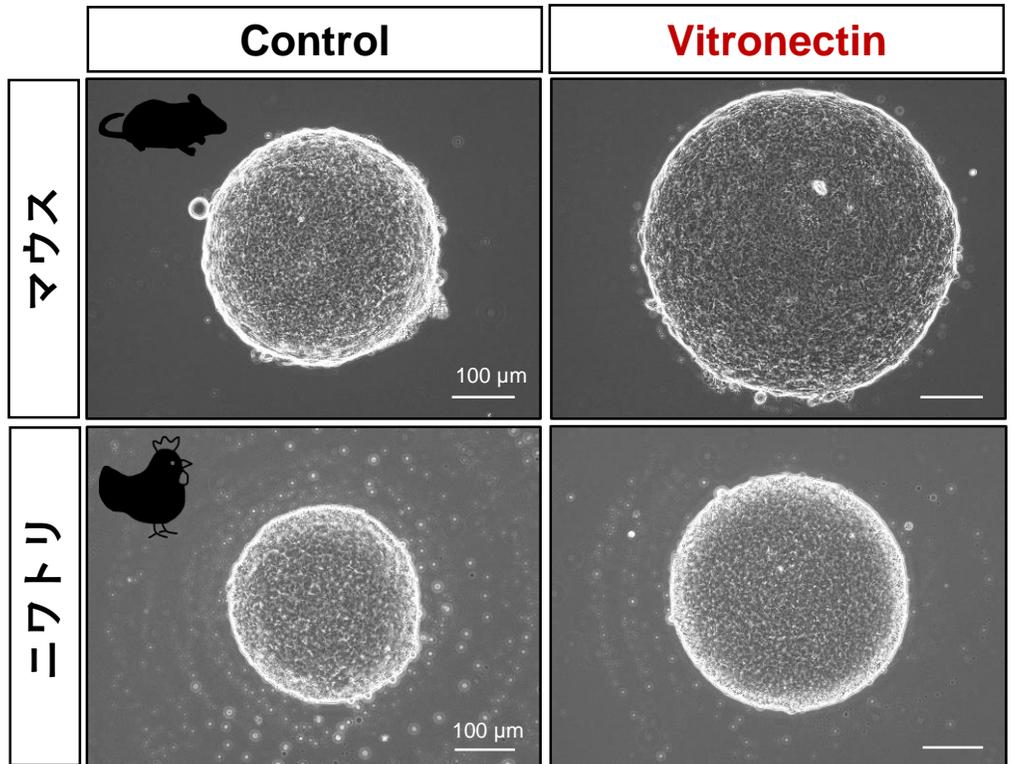


図3 ビトロネクチンによる筋芽細胞の増殖効果（3次元培養）：

マウス筋芽細胞株（C2C12）に細胞塊を形成させ、低血清培地で培養したところ、コントロールと比較して、ビトロネクチンを培地に溶け込ませた実験区（**Vitronectin**）では、明らかに増大した細胞塊が認められた（上段：C2C12細胞_培養5日目, 下段：ニワトリ11日胚由来初代培養筋芽細胞_6日目）。

新規無血清培地は長期間にわたり筋芽細胞の生存と増殖を維持する

マウス骨格筋細胞株_C2C12細胞

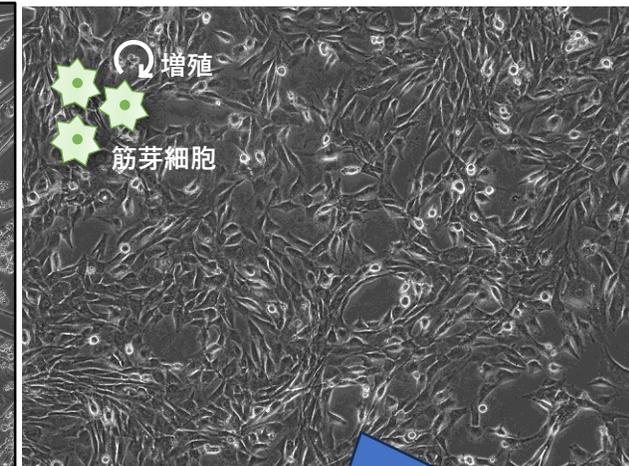
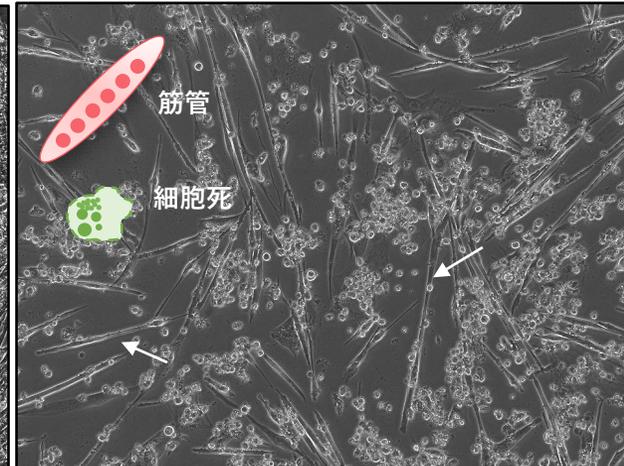
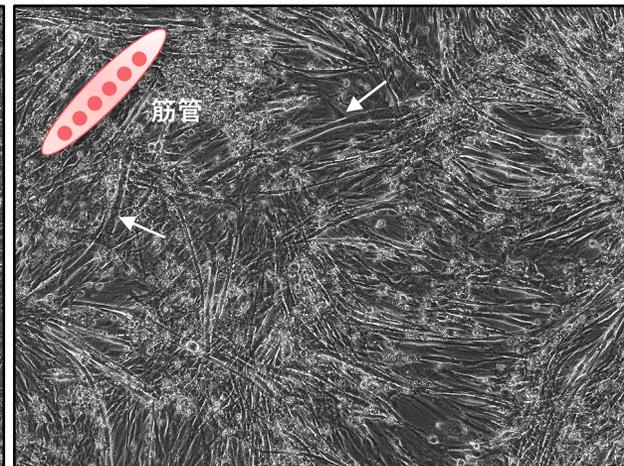
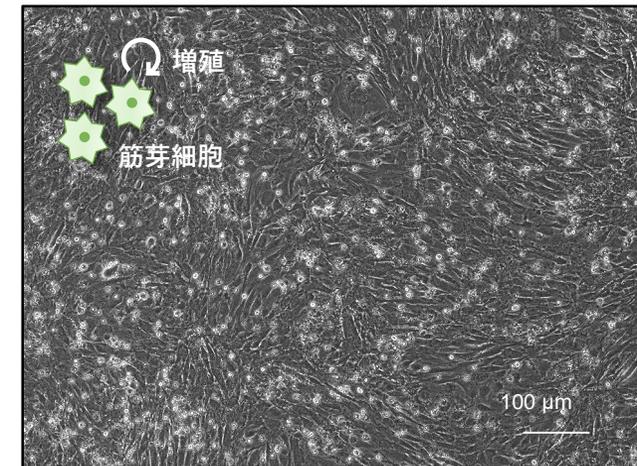
Day 5

高血清条件_10%

低血清条件_2%

無血清条件_0%

新規無血清条件_0%



→ : 筋管細胞

筋芽細胞の無血清培養に成功
(高価な成長因子も非添加)

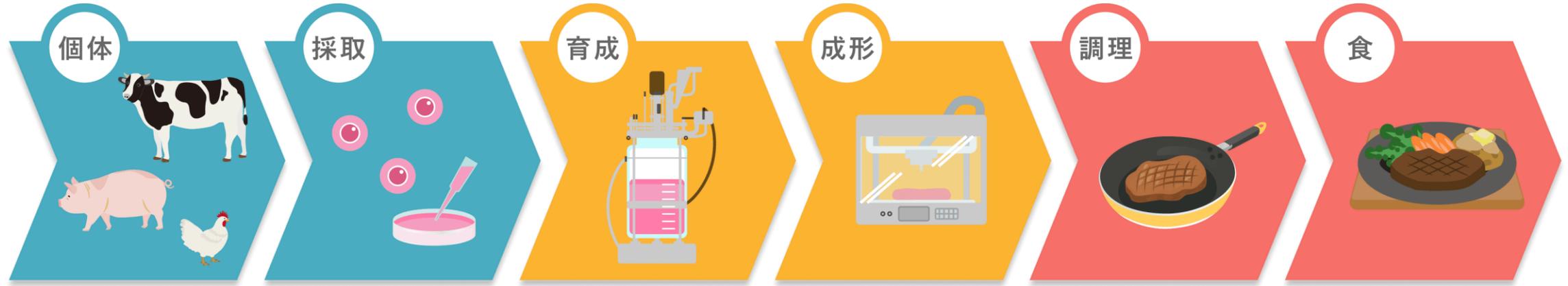
新技術の特徴

- 哺乳動物やニワトリの骨格筋細胞の無血清培地による培養増幅を実現
- 培養液を無血清化したことで、コスト・安全性・倫理的な課題を克服
- 動物性成分を排除することで、ヒトへの移植を実現可能に

実用化に向けた課題

- 安定した品質の無血清培地を大量に生産する技術
- バイオリアクターの開発など、大規模な細胞培養を可能にする技術
- 現在までに日本で「培養肉」は認可されておらず、法規制の変更が必要。

培養肉の生産過程と今後のフォーカスポイント



日本細胞農業協会HPより転載



培地作成



スケールアップ



安定した品質の無血清培地を
大量に生産する技術

バイオリアクターの開発など、
大規模な細胞培養を可能にする技術

想定される用途

- 家畜の骨格筋細胞を用いた培養肉の生産
- 構成成分が明らかかな無血清培地の製造・販売
- 安全で拒絶反応のない美容・アンチエイジング施術の材料を提供。

シーズ想定用途



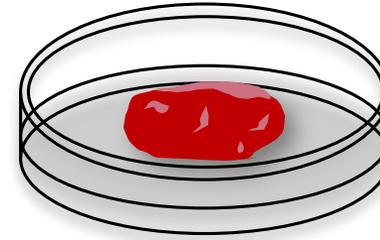
付着性がん細胞株用
無血清培地



マウスES細胞用
無血清培地



骨格筋細胞用
無血清培地



牛・豚・鶏の骨格筋から筋芽細胞を
分取し、無血清培地による細胞増殖



細胞種ごとに最適化した無血清培地を開発し、製造・販売

培養肉の
製造・販売

移植用骨格筋細胞
の調整

企業への期待

- バイオリアクターなどの大型化技術や培地製造の技術を持つ企業との共同研究を希望。
- また、美容・アンチエイジング分野への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 無血清培地
 - 出願番号 : 特願2023-118186
 - 出願人 : 学校法人近畿大学
 - 発明者 : 岡村 大治
-
- 発明の名称 : 培養肉の製造方法
 - 出願番号 : 特願2023-191463
 - 出願人 : 学校法人近畿大学
 - 発明者 : 岡村 大治, 片山 ともか

お問い合わせ先

近畿大学リエゾンセンター（東大阪キャンパス）

TEL: (06)4307-3099

e-mail: klc@kindai.ac.jp