

「食中毒リスクを大幅に低減した細胞性食品（培養肉）」

～人工臓器から細胞性食品（培養肉）まで～

ダイバースファーム(株)
大野次郎

細胞を作る技術発達は著しいが、次に必要な技術は？

iPS細胞



山中伸弥先生

クリスパーキャス9



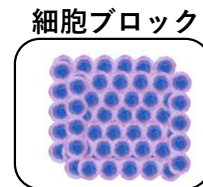
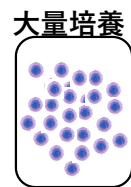
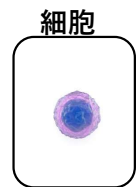
ダウドナ先生、シェルパンティエ先生

上記は DNAを操作し「細胞を作る」技術



組織化の技術が必要

人工臓器への技術



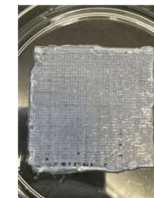
iPS、クリスパーは
ここの技術

細胞結合技術

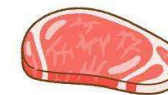
この領域が確立していない

用途

人工臓器



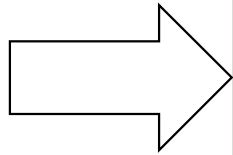
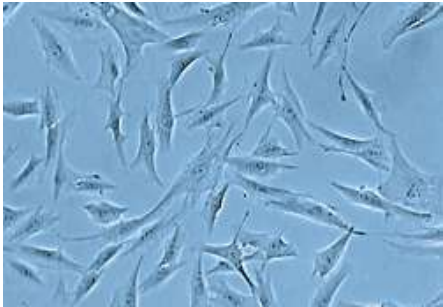
培養肉



がんモデル
毒性検査
動物実験代替
人工皮革
化粧品
健康食品
タンパク質製造

コアテクノロジー

細胞



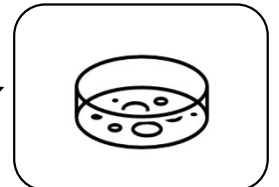
組織化



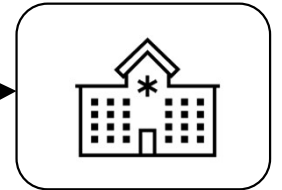
ネットモールド法



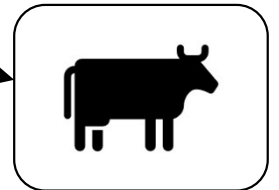
研究



人工臓器

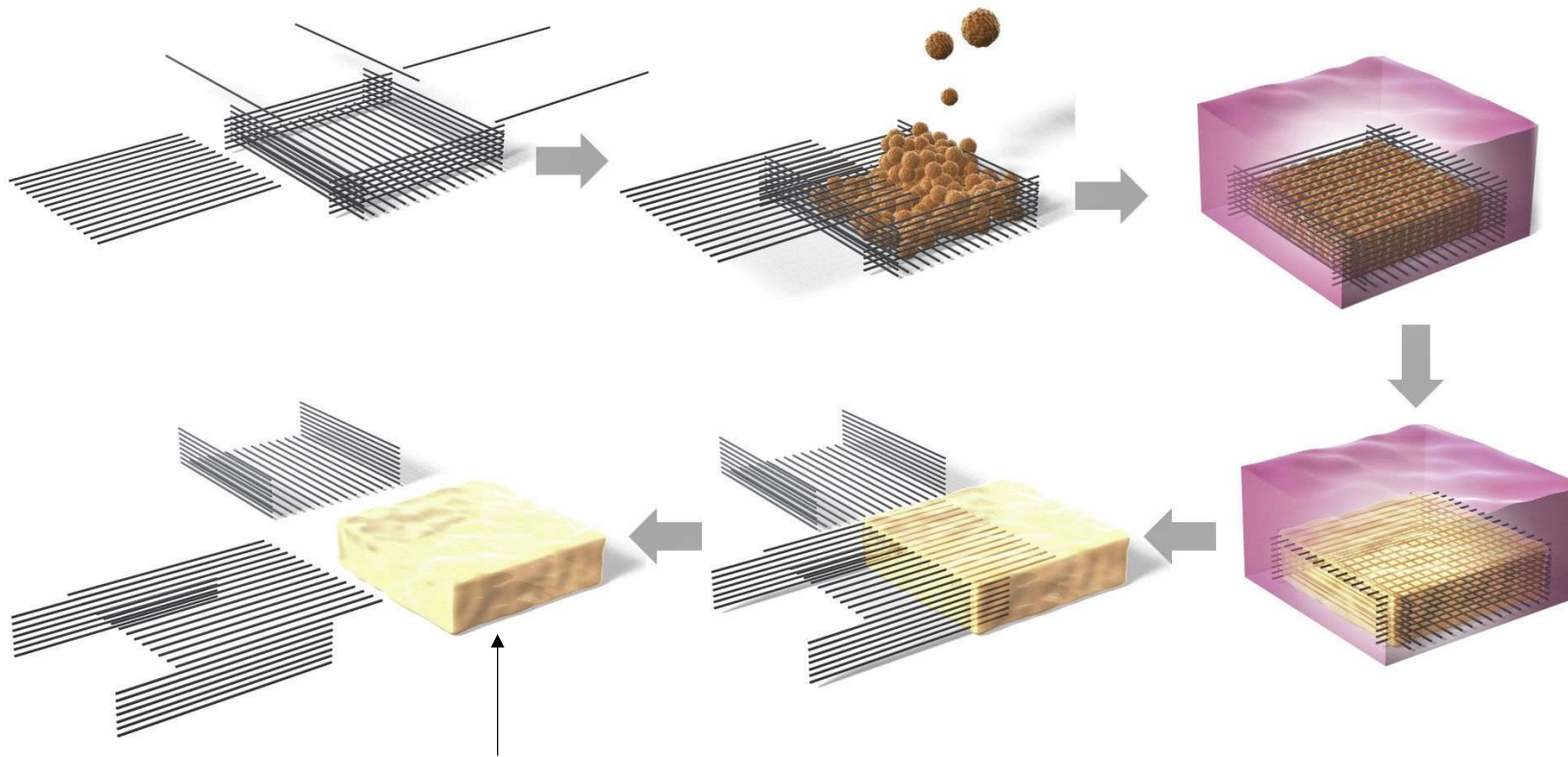


培養肉



ネットモールド法（旧型）

スフェロイドを作製し、ネットモールドに保持しながら培養する手法



細胞ブロック

森本教授の取り組み



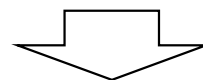
京都大学病院
形成外科
森本尚樹 教授

吸収性材料・細胞・成長因子などを組み合わせた人工真皮（人工皮膚）の臨床応用と実用化を長年研究。

グンゼ(株)と機能性人工真皮「ペルナック」を開発。
自家培養表皮（JTEC）の臨床治療の第一人者。

熱傷、先天性母斑などの広範囲皮膚欠損や、褥瘡、糖尿病性潰瘍などの難治性皮膚潰瘍の治療を行う。

30年以上にわたる形成外科領域での臨床活動により、ヒトの細胞だけで作られた人工真皮の必要性にいち早く気が付く。細胞以外の材料では超長期間に免疫拒絶のリスクが排除できないからだ。更にその人工真皮は臨床医にとっても使いやすく、低コストでなくてはならない。



ヒトの細胞のみで、皮膚を作る

CONFIDENTIAL

先天性母斑、熱傷の治療に

母斑全層切除：自家植皮とジェイス®の併用 1歳女児

侵襲大の複数回手術



既存の手法の課題

- ・生着性が悪い
→再手術
- ・皮膚に凹凸が残る
→QOLの低下

研究業績1 : Morimoto N, et al. Regen Ther.2021

難治性潰瘍の治療に

ヒト細胞由来真皮



難治性潰瘍が小範囲の
うちに移植



難治性潰瘍
による切断を防ぐ

TISSUE ENGINEERING: Part A
Volume 29, Numbers 21 and 22, 2023
© Mary Ann Liebert, Inc.
DOI: 10.1089/ten.tea.2023.0109



Open camera or QR reader and
scan code to access this article
and other resources online.



Development of a Self-Assembled Dermal Substitute from Human Fibroblasts Using Long-term Three-Dimensional Culture

Takashi Nakano, MD,¹ Hiroki Yamanaka, MD, PhD,^{1,2} Michiharu Sakamoto, MD, PhD,¹
Itaru Tsuge, MD, PhD,¹ Yasuhiro Katayama, MD, PhD,¹ Susumu Saito, MD, PhD,¹ Jiro Ono, BA,³
Tetsuji Yamaoka, PhD,² and Naoki Morimoto, MD, PhD¹

SELF-ASSEMBLED DERMAL SUBSTITUTE FROM HUMAN FIBROBLASTS

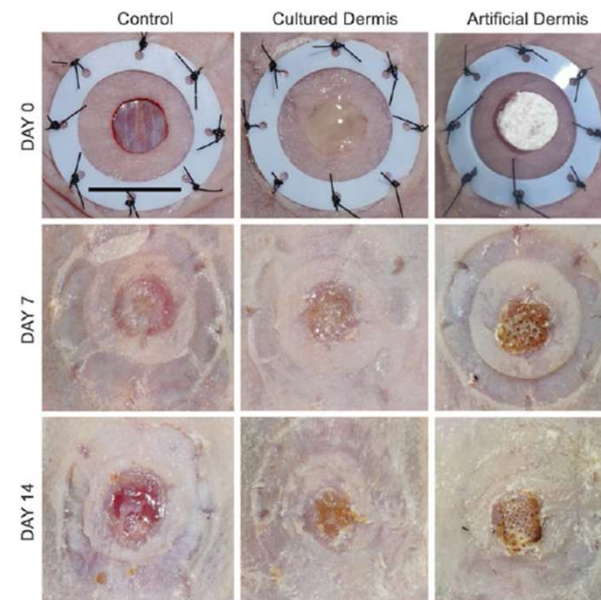


FIG. 6. Macroscopic photographs of the wounds. Wound area in the control, cultured dermis, and artificial dermis groups on the day of surgery, and on days 7 and 14 postsurgery. Scale bar: 1 cm.

Biofabrication



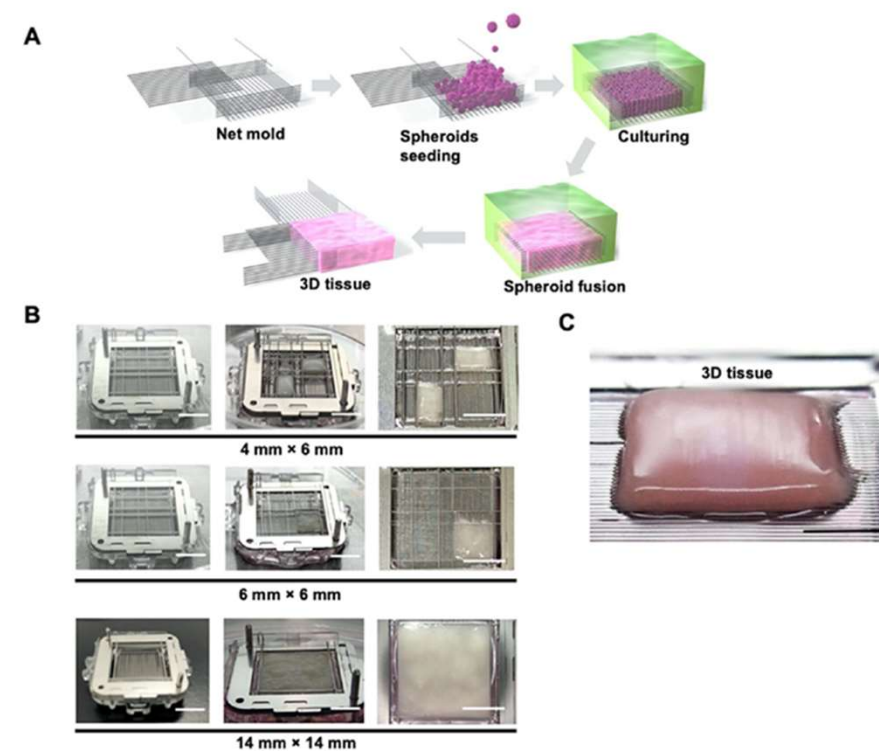
International Society
for Biofabrication

PAPER • OPEN ACCESS

Bioengineering of a scaffold-less three-dimensional tissue using net mould

To cite this article: Katsuhisa Sakaguchi *et al* 2021 *Biofabrication* **13** 045019

View the [article online](#) for updates and enhancements.



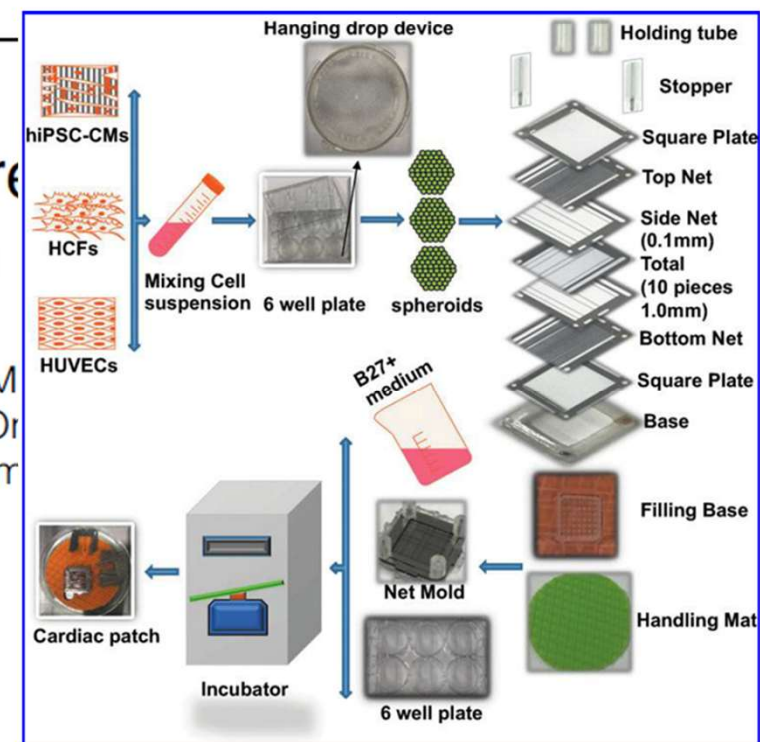
TISSUE ENGINEERING: Part C
Volume 25, Number 4, 2019
© Mary Ann Liebert, Inc.
DOI: 10.1089/ten.tec.2019.0003



METHODS ARTICLE

A Net Mold-Based Method of Biomaterial-Free Three-Dimensional Cardiac Tissue Creation

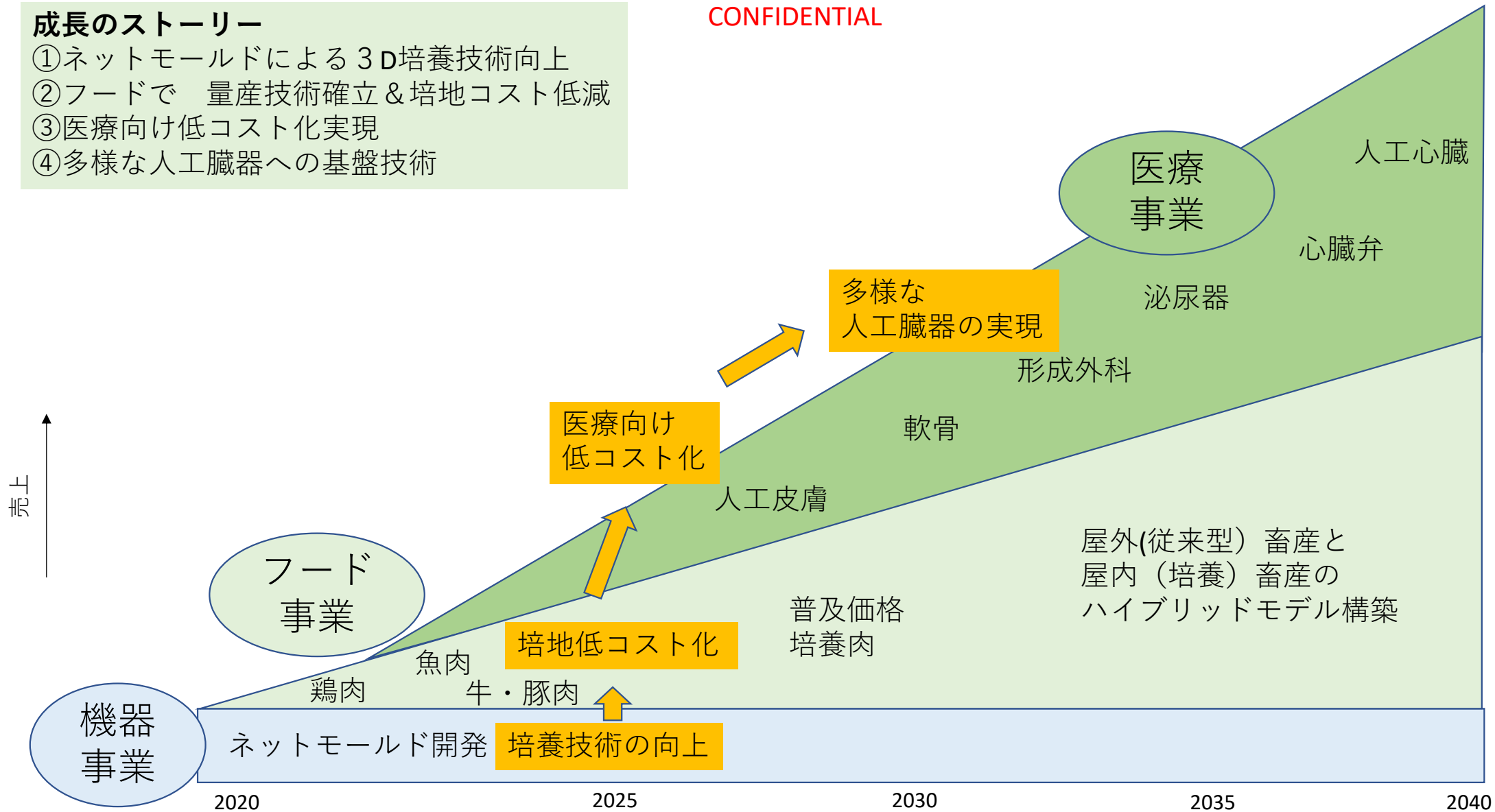
Bai Yang, MD,^{1,2} Cecillia Lui, MD,² Enoch Yeung, MBBS,² Hiroshi Matsushita, M
Isaree Pitaktong,² Takahiro Inoue, MD, PhD,² Zayneb Mohamed,² Chin Siang Or
Deborah DiSilvestre, MS,⁴ Steven M. Jay, PhD,³ Leslie Tung, PhD,⁵ Gordon Torr
Chunye Ma, MD,¹ and Narutoshi Hibino, MD, PhD²



成長のストーリー

- ① ネットモールドによる3D培養技術向上
- ② フードで 量産技術確立 & 培地コスト低減
- ③ 医療向け低コスト化実現
- ④ 多様な人工臓器への基盤技術

CONFIDENTIAL

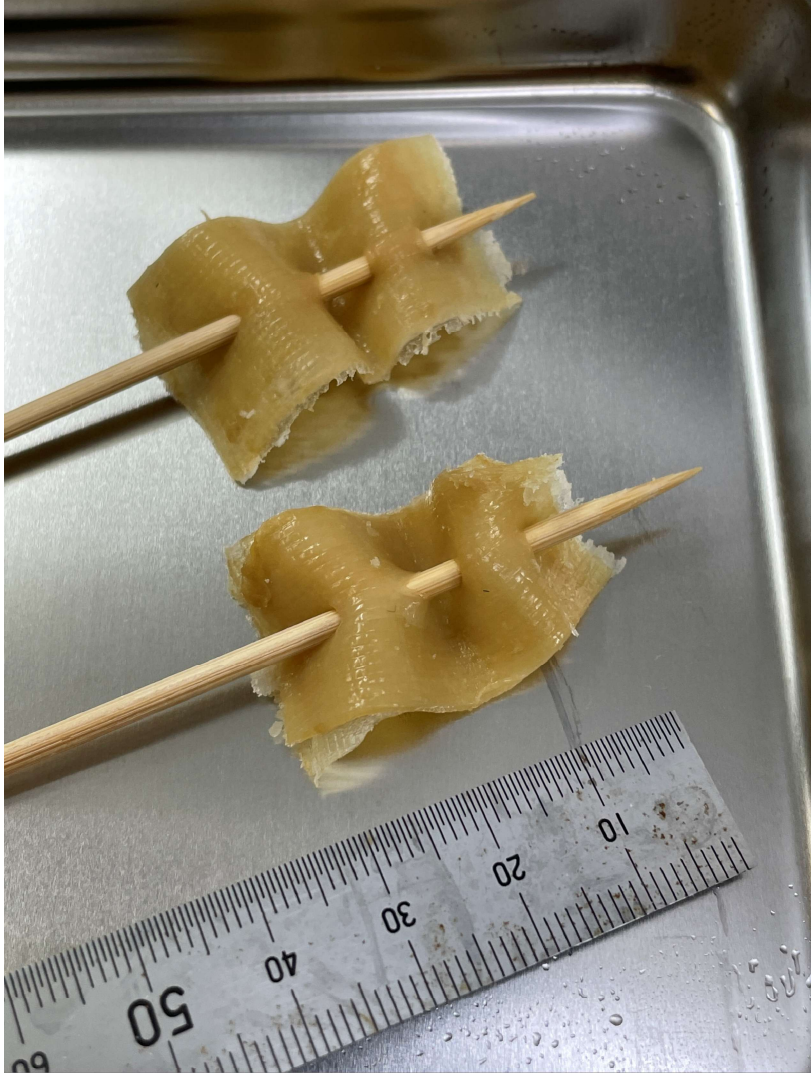


培養鶏肉 (50X50mm)

40秒から 引張部分









Technology for the Earth



メンバー



共同創業者 & 社長

大野次郎



人工皮膚を京都大学
と共同開発

医療分野



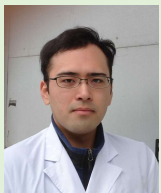
共同創業者&副社長

島村雅晴



ミシュラン一つ星
9年連続、グリーンスターの名店の
オーナーシェフ

日本料理店



阿部匡伯



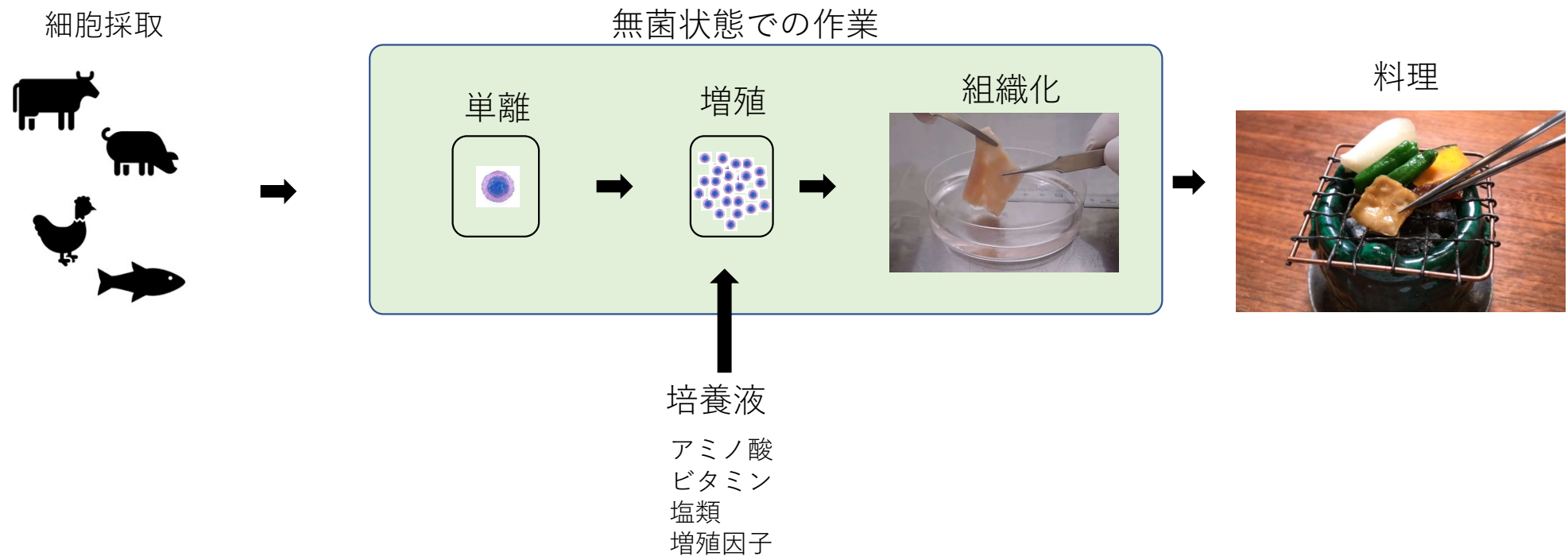
(株)阿部農場
鶏生産者

生産者

医療、
料理人
生産者
のチーム

細胞性食肉（培養肉）とは

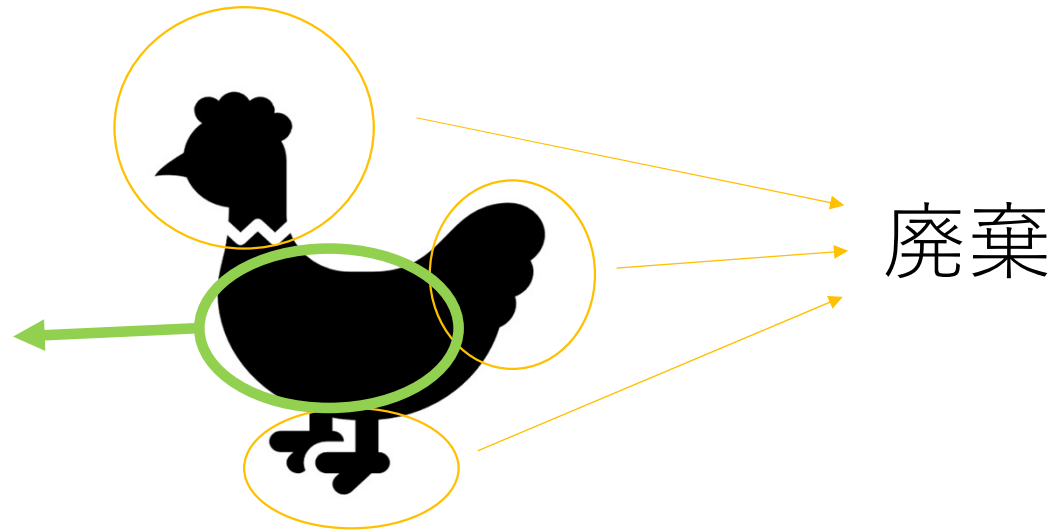
細胞を培養し、作製した食肉



培養肉のメリット — 可食部のみを作る

既存の畜産：

可食部は
50%
程度



培養肉：

可食部は
100%

細胞



培養肉



究極のフードロス対策

培養肉のメリット

- **無駄がない**

- 可食部のみを作るので、廃棄部位がない
- 最小限の資源（土地、栄養素など）

- **安心 安全 安定**

- 無菌
- 原材料をすべて管理可能
- 屋内生産なので 安定した生産量

- **多様な基礎技術に**

- 食料
- 医療への展開
- 皮革、薬などの生産装置に

基礎技術

基礎培地

アミノ酸
ビタミン
塩類

スポーツドリンクと類似
→国内製造可能

増殖因子

血清
人工血清
化学合成
動物由来
植物由来
昆虫由来

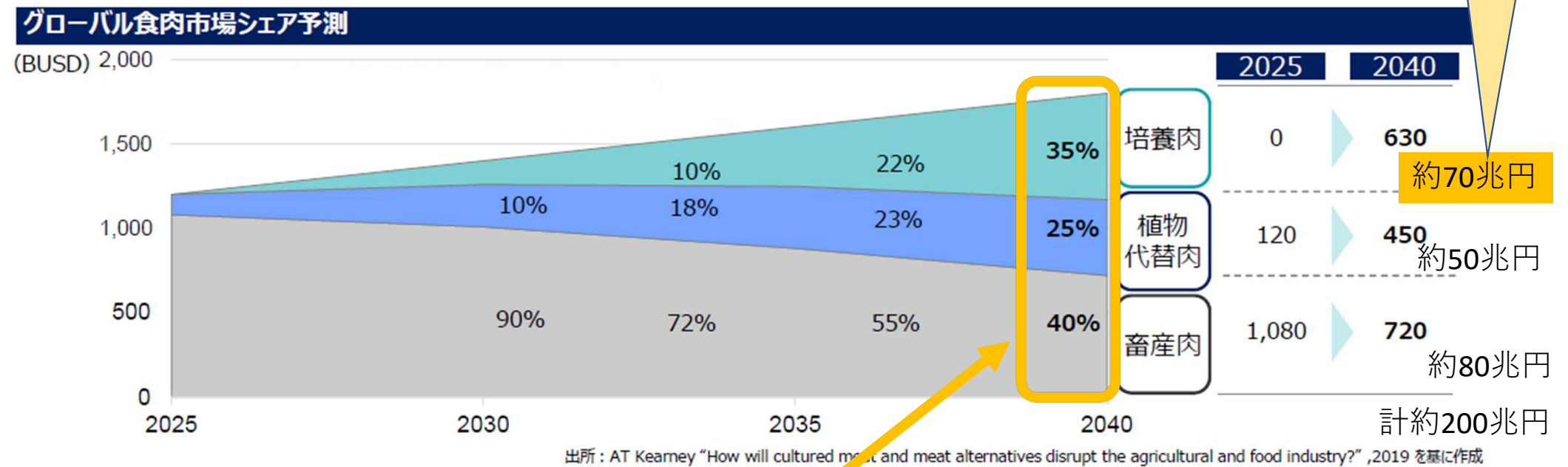
世界で開発が進む
→国内企業も有力

培養容器 & 装置

タンク、バッグ
センサー、制御

国内製造業が得意とする分野

培養肉市場は急成長



日本の国家予算
は約100兆円

約70兆円

培養肉市場は既存畜産業と匹敵する規模に

弊社が目指す 既存畜産業と培養肉の両立

家畜小屋の横に、細胞性食品工場



近いイメージ例

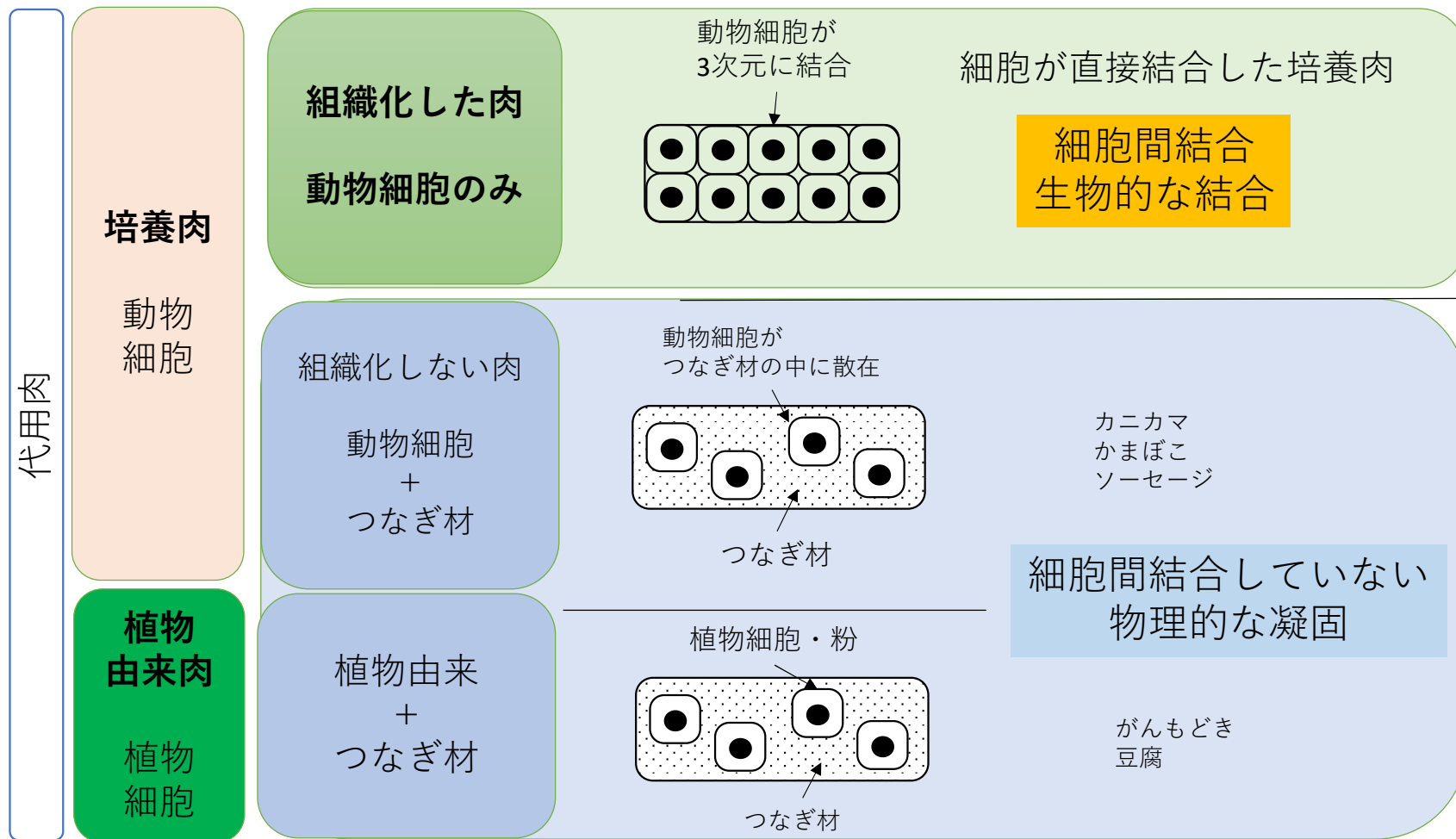
ブドウ畑の横にワイナリー



魚市場の横にかまぼこ工場



代用肉・培養肉の種類



日本発の技術



世界中で参入が進む



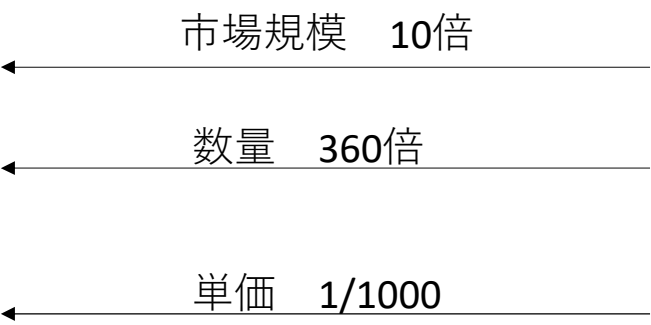
フードと医療の相互関係で市場立上げ

フード

市場規模：	100兆円
数量：	360万トン/年
単価：	1,000円/個

再生医療

市場規模：	10兆円
数量：	100万件/年 1万トン程度
単価：	100,000円/個

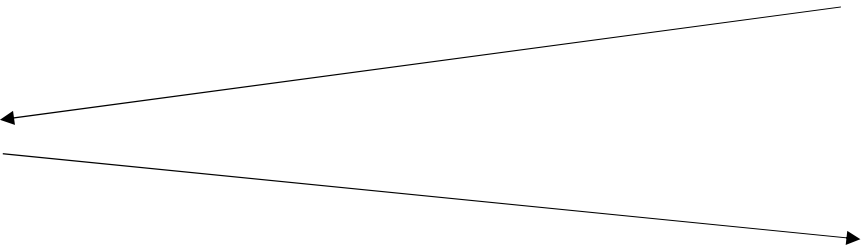


数量拡大でコスト減



食品ロス削減
農業の事業安定化

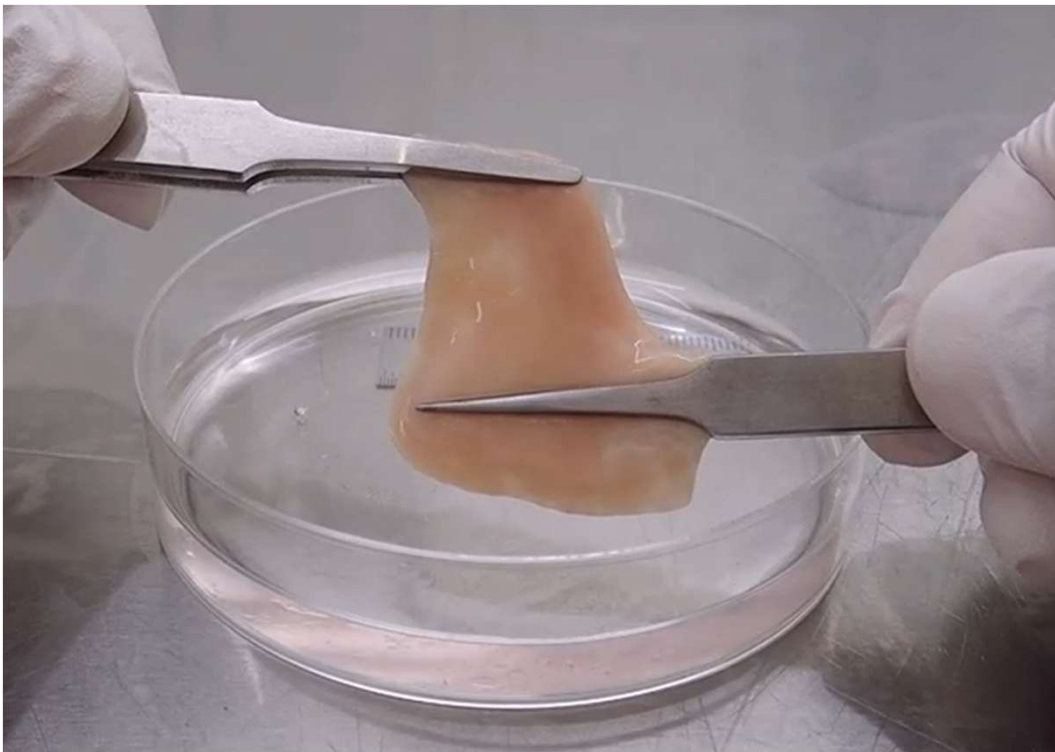
基礎技術の開発



再生医療コスト削減
身近な治療に
QOLの向上

培養肉用途

私たちが目指す培養肉

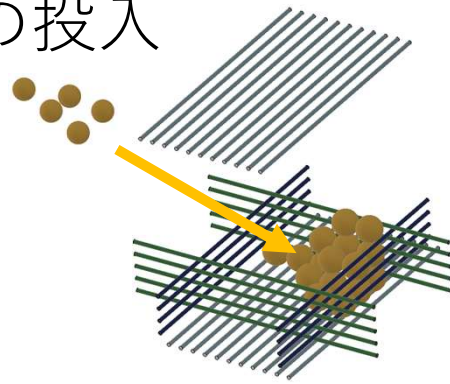


- ・細胞間結合している
↓
「本物の肉」に近い
肉本来の食感

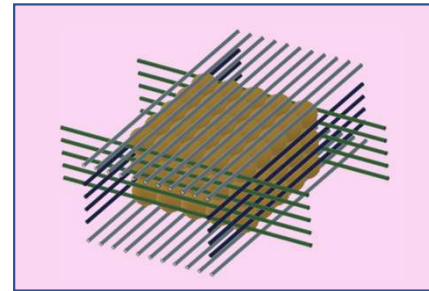
ネットモールド法ー

細胞が本来持つ「細胞同士で接着する性質」を有効利用した培養手法

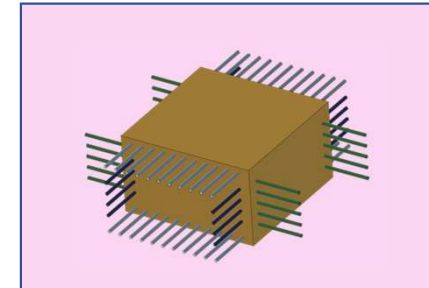
①細胞塊の投入



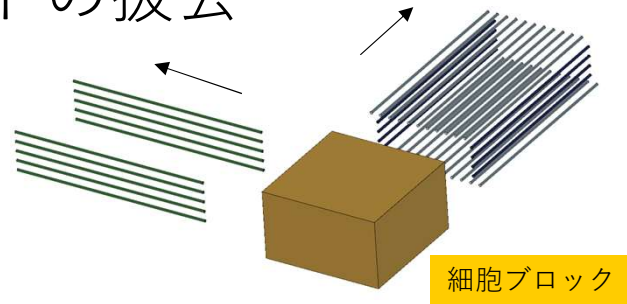
②培養液中で培養



③培養により融合

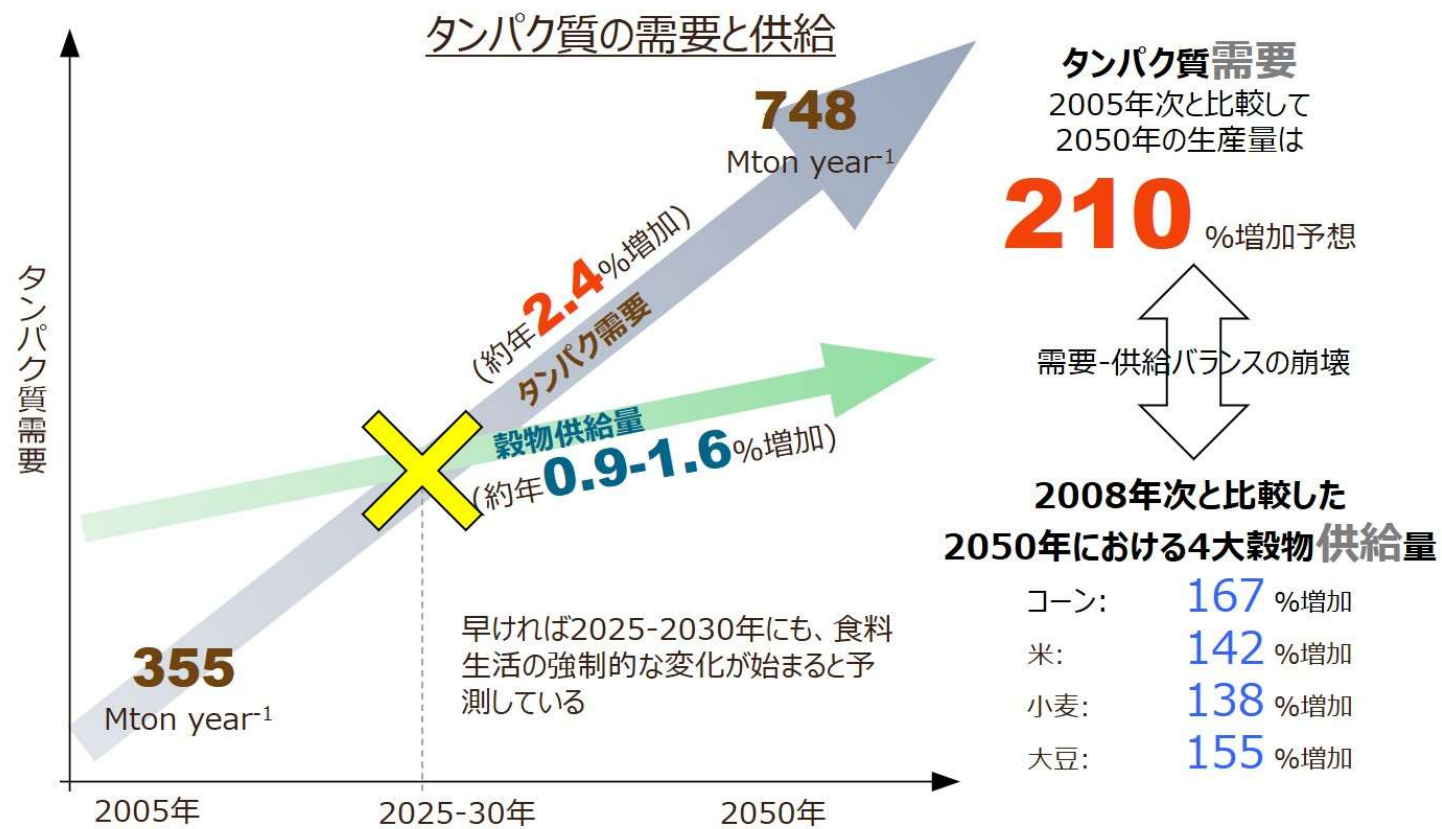


④ネットの抜去



社会的背景

プロテイン・クライシス



産業革命

第一次：蒸気機関（大量生産が可能に）

第二次：鉄と電気（物と情報の移動が可能に）

第三次：デジタル化（インターネットとスマホの登場）

第四次：上記を基礎とした高度複合技術

（人工知能 (AI)、バイオテクノロジー（生物工学）、量子コンピュータ、3Dプリンター、など）

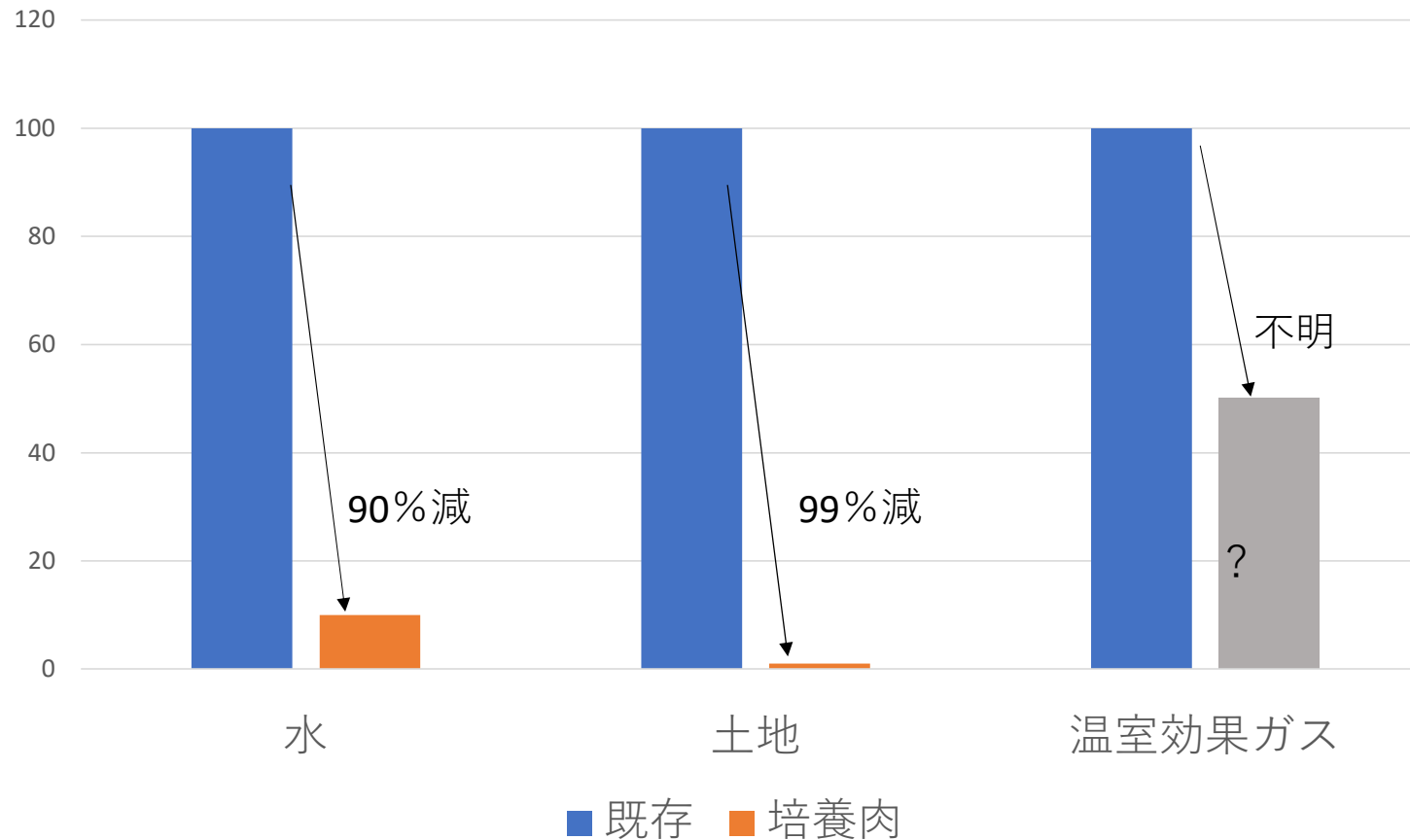
食料生産は一貫して「農業」
（地球から生み出されるもの）であった。



細胞農業は食料（タンパク質）生産を
「工業」に変えるもの

培養肉のメリット

培養肉の資源削減効果



計算根拠は
まだ改善余地あり。
↓
畜産業に敬意を払った
発言が必要

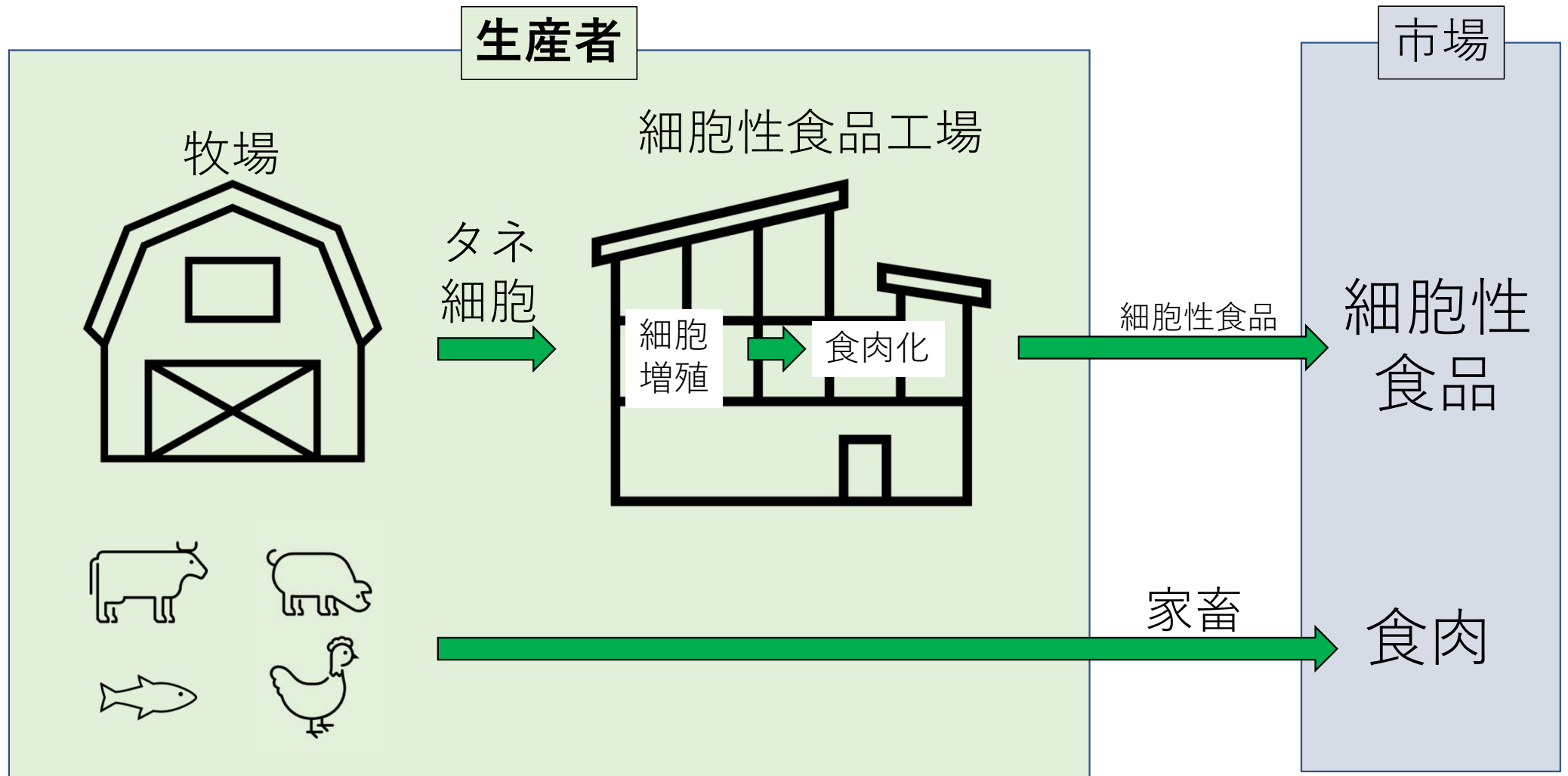
弊社のビジョン

ビジョン

プレミアム培養食品のプラットフォーム



畜産業と細胞性食品工場の共存

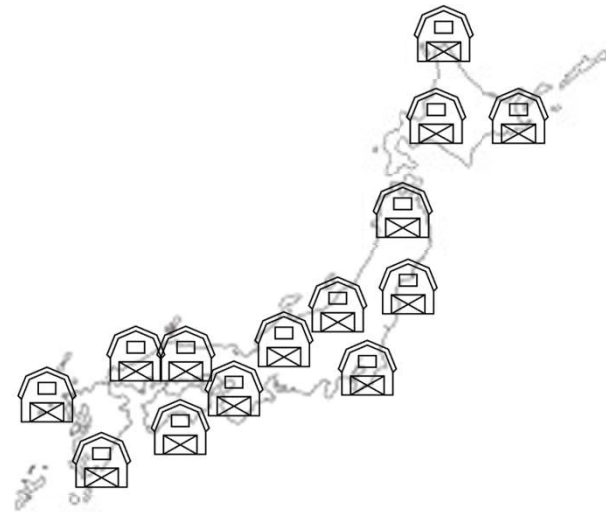


培養肉技術は小スケールから大スケールまで

大工場からの出荷

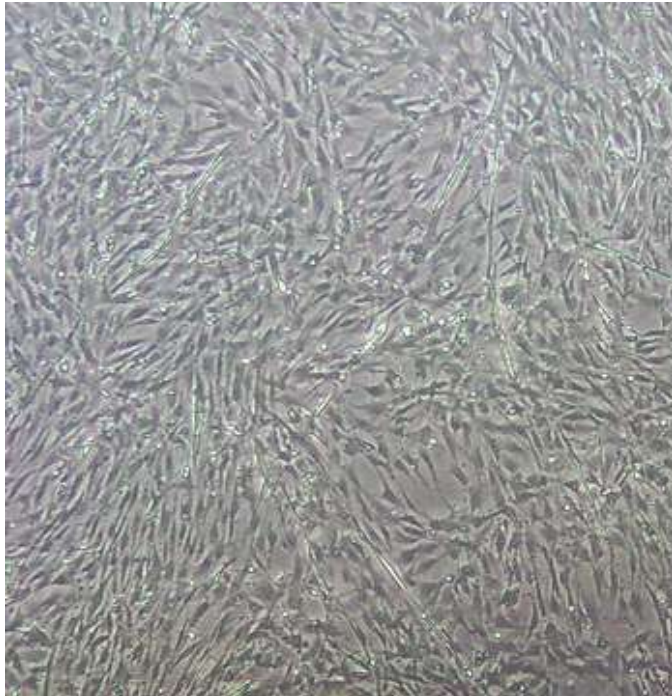


小スケール生産で
各地域に培養肉工場

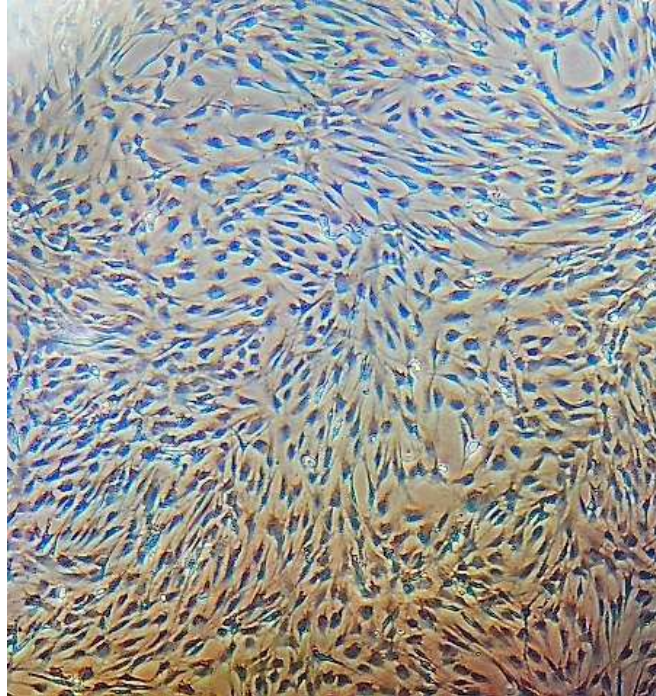


鶏、豚、牛の細胞

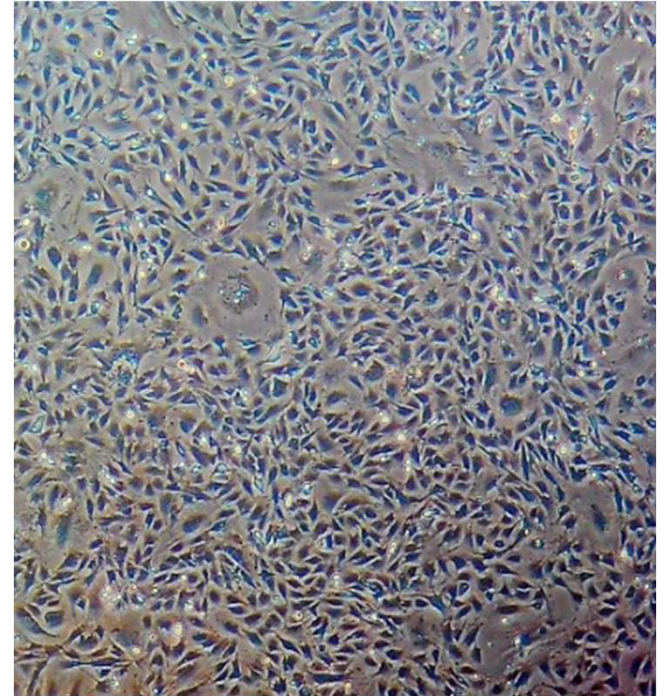
にわとり



ブタ

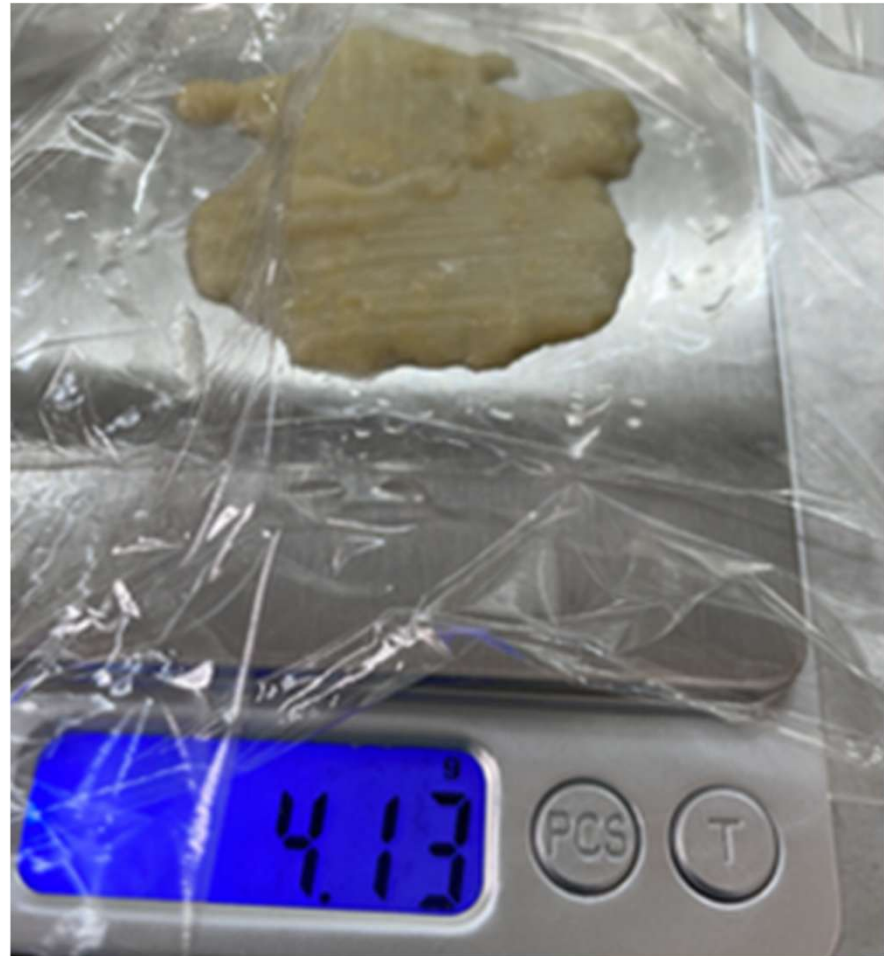
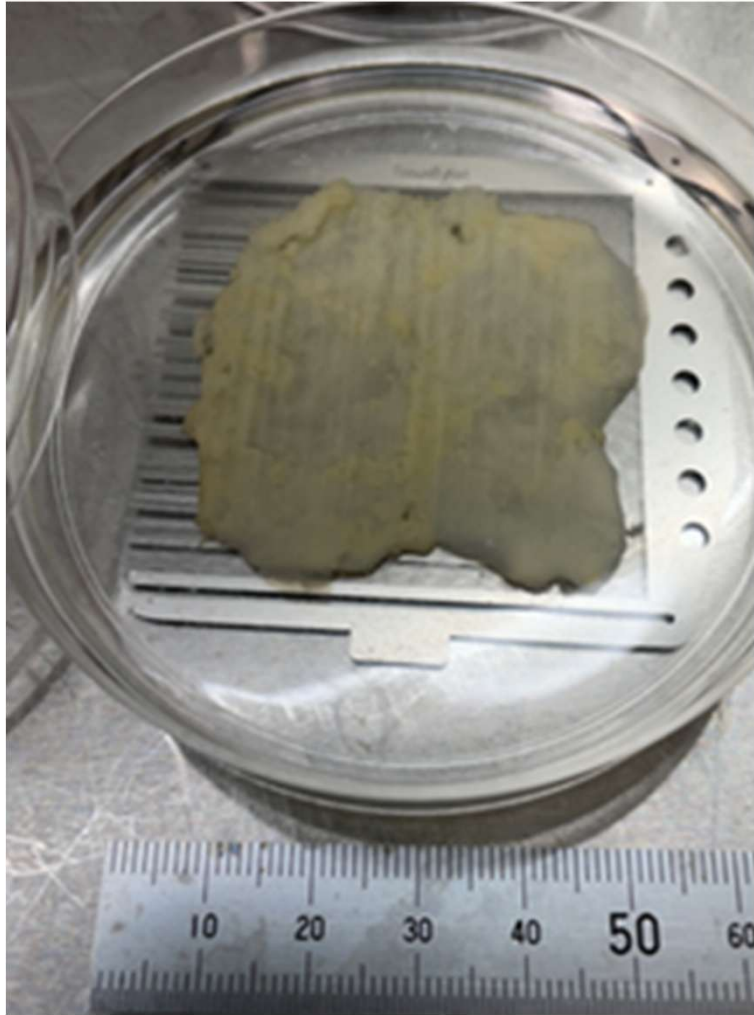


ウシ



培養肉実例

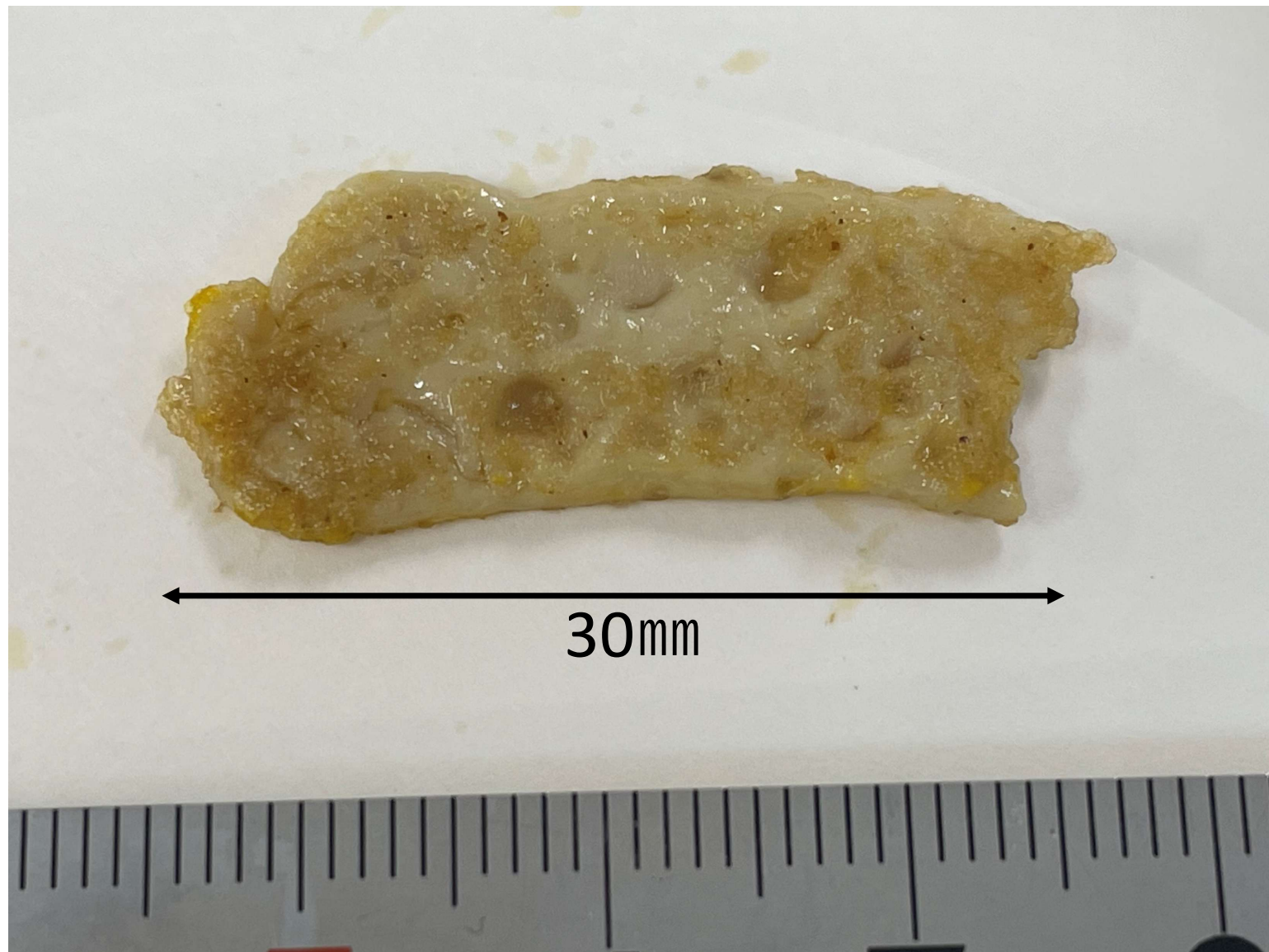
培養雞肉



培養鵝肉



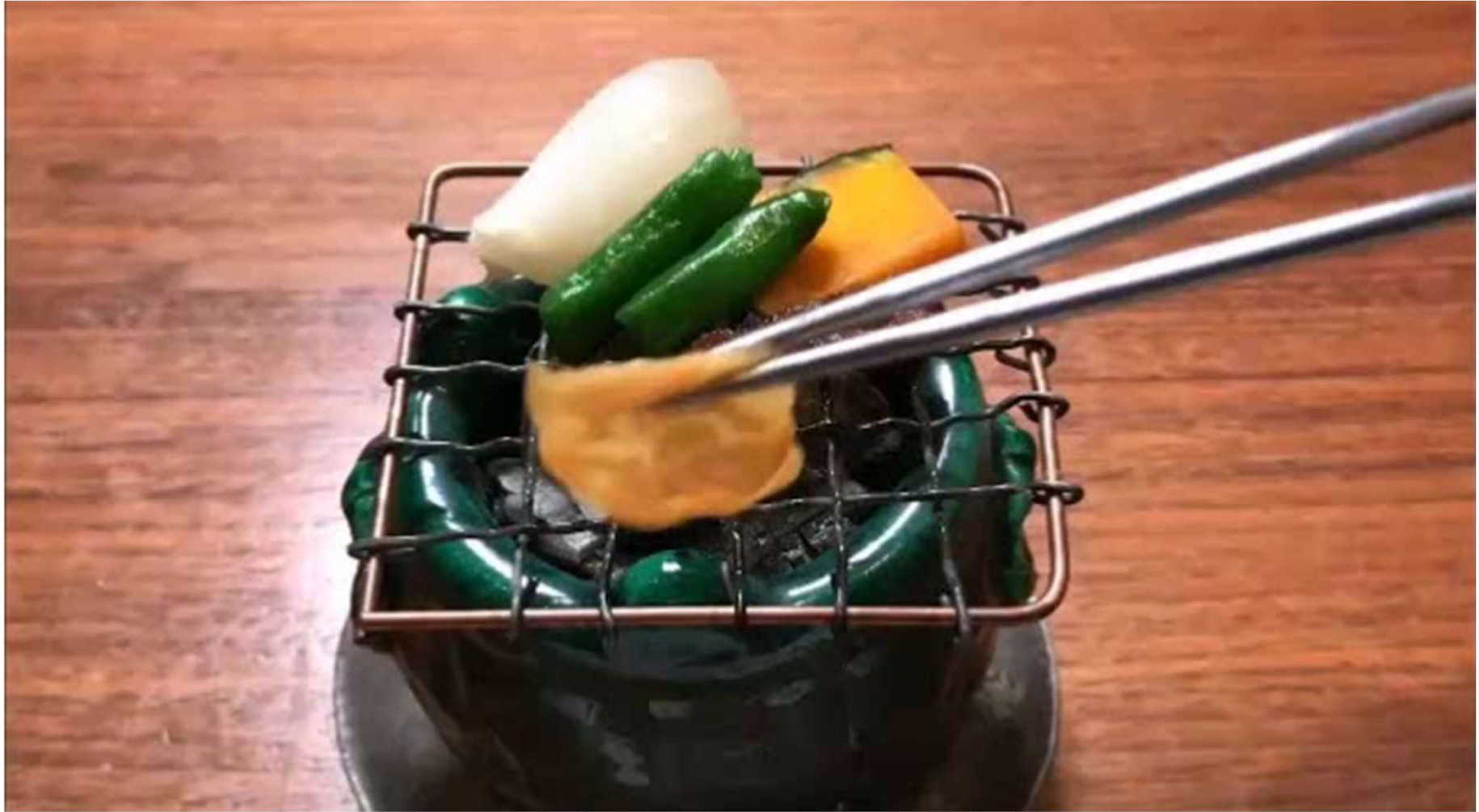
培養鶏肉（鉄板焼き後）



培養鶏肉（炭火焼き後）



培養鶏肉の炭火焼き



培養肉の課題

- **コスト：**
 - 世界中で開発進む
 - 今始めないと、世界に取り残される
- **社会受容性：**
 - ・安全：科学的データによる検証
 - ・安心：人の気持ち
 - （未知のものに対する恐怖）
 - 試食が必須

安全性試験

以下の試験は

「令和3年度補正予算農林水産物・食品輸出促進緊急対策事業のうちフードテックを活用した新しいビジネスモデル実証に対する支援事業」の助成により行われた。

実証の取組と成果

実証試験：食品として流通している鶏から細胞を採取し、培養肉を作製。下記試験を行った。
結論：すべての安全性試験結果において陰性。遺伝子配列に大きな変化は見られなかった。

安全性試験 評価項目詳細：

毒性 AMES（復帰突然変異試験）

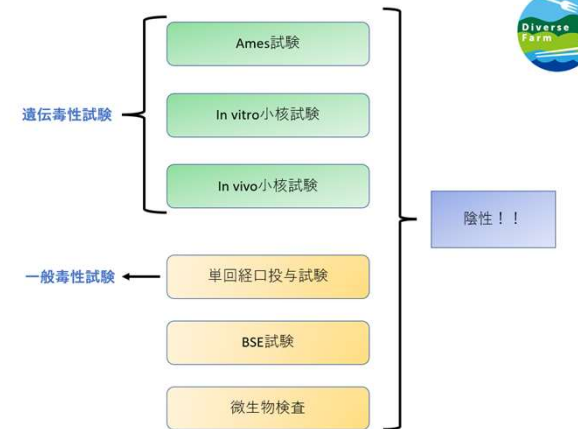
遺伝毒性（小核inVitro、小核inVivo）

微生物検査：サルモネラ、カンピロバクター

経口毒性（単回経口投与試験）

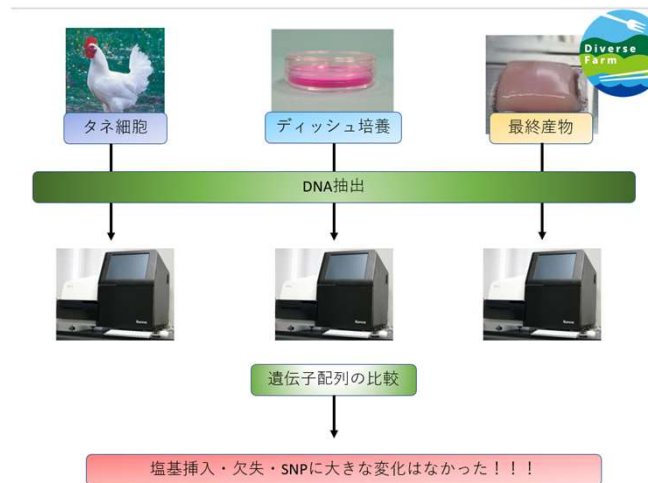
BSE 異常プリオン

→ すべて陰性



全ゲノムシーケンス

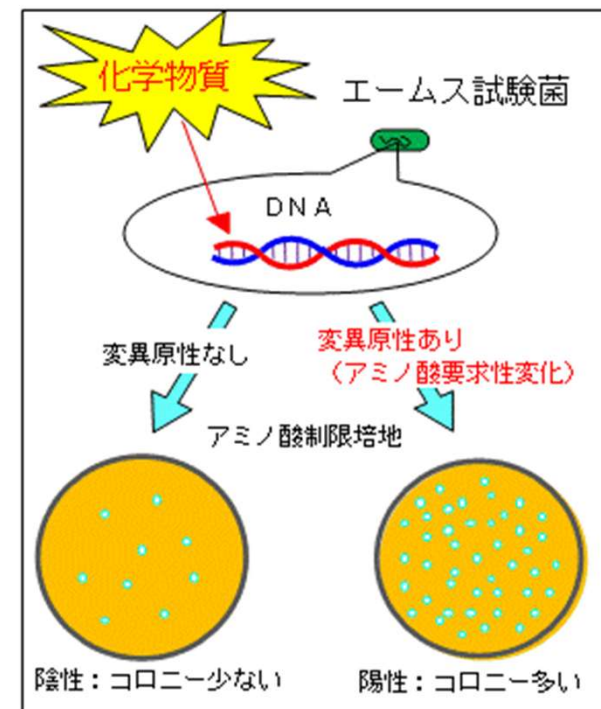
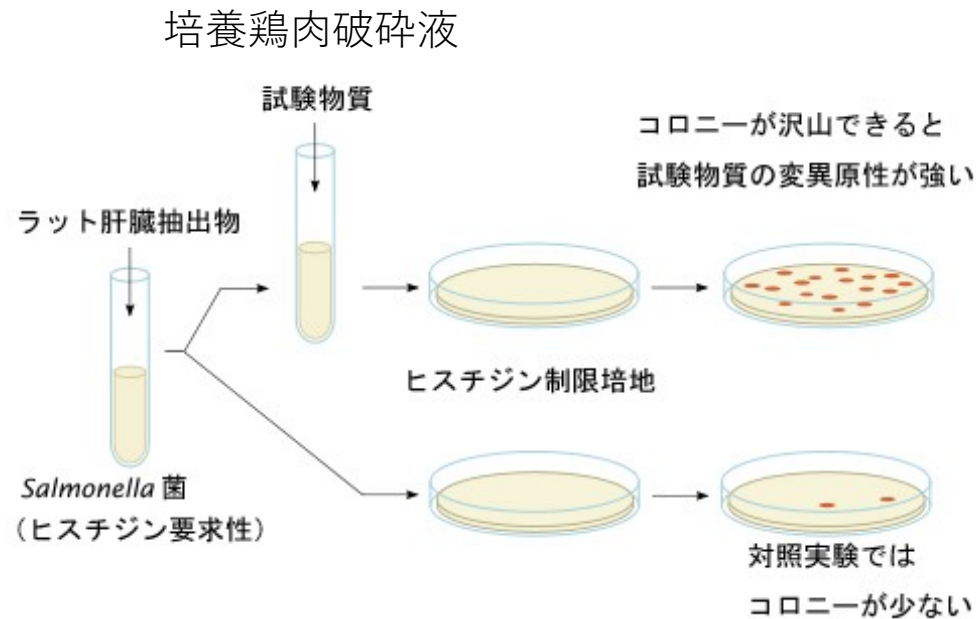
鶏から採取した細胞と、培養途中、培養後の細胞におけるシーケンスを比較



Bacterial Reverse Mutation Test (Ames Test, OECD 471)



目的：培養鶏肉について細菌を用いる復帰突然変異試験をプレインキュベーション法により実施し、遺伝子突然変異の有無を評価した。



Bacterial Reverse Mutation Test (Ames Test, OECD 471)



試験成績（一部抜粋）

生育阻害は、S9 mix非存在下および存在下のいずれの検定菌においても認められなかった。被験物質に由来する沈殿は、S9 mix非存在下および存在下ともにすべての用量で認められた。陰性対照値の2倍以上となる変異コロニー数の増加は、S9 mix非存在下および存在下のいずれの検定菌においても認められなかった。すべての試験において、用いた最高用量の被験物質調製液およびS9 mixへの雑菌の混入は認められなかった。また、いずれの検定菌においても陽性対照物質の遺伝子突然変異誘発性が検出され、陽性対照値および陰性対照値は、ともに背景データの変動範囲内（平均値 $\pm 3 \times$ 標準偏差）であったことから、当該試験系の妥当性が確認された。

以上の結果に基づき、培養鶏肉は、用いた試験系において遺伝子突然変異を誘発しない（陰性）と判定した。

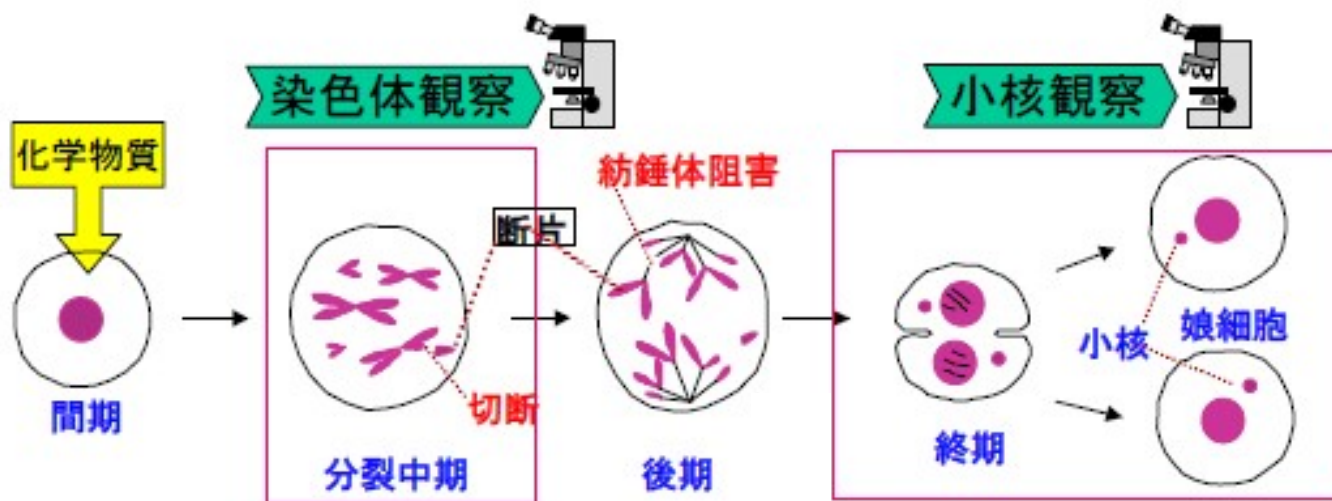
In vitro小核試験 (OECD TG 487)



目的: 間期細胞の細胞質内における小核の検出を指標に被験物質の染色体異常誘発性を評価

判定方法: 以下の条件を満たす場合に陽性

- ①小核を有する単核細胞の出現頻度が、陰性対照群と比べて統計学的に有意な増加を示し、その出現率が当施設の陰性対照群背景データの95%管理範囲外である
- ②Cochran Armitage の傾向検定で有意な用量依存性が認められる



In vitro小核試験 (OECD TG 487)

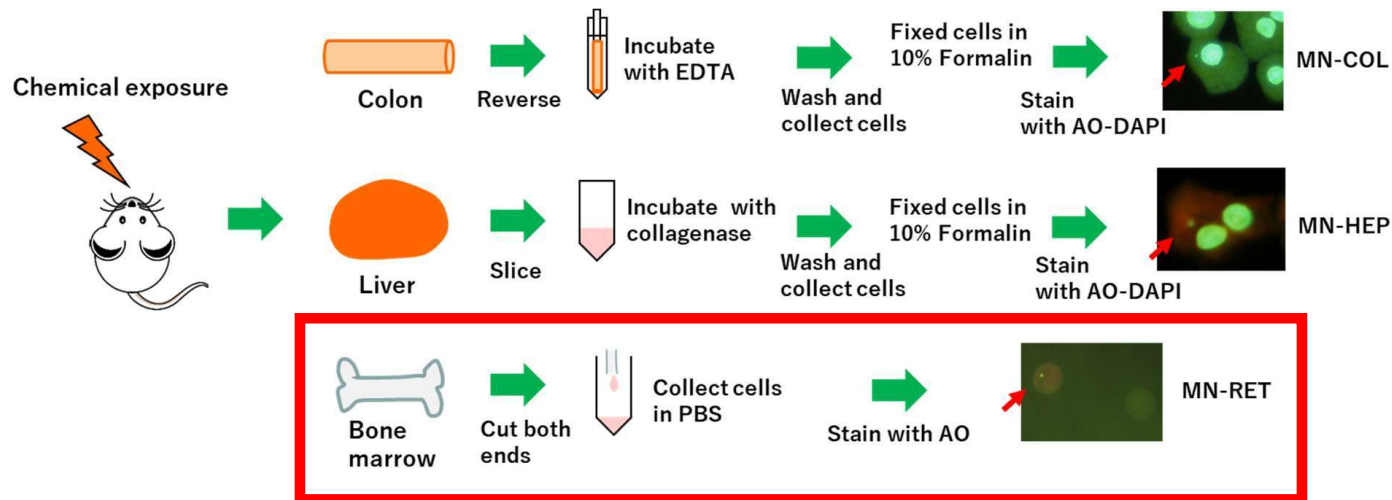


試験成績と考察（一部抜粋）

すべての処理条件について、陽性対照群においては、小核出現頻度の増加 ($p < 0.01$) が認められ、本試験系の妥当性が確認された。

以上の結果から、本試験条件下では、培養鶏肉は、CHL/IU細胞において染色体異常誘発作用を有しない (陰性) と判定した。

In vivo小核試験 (OECD TG 474)



EDTA: ethylenediamine-tetraacetic acid, PBS:phosphate-buffered saline,

AO: acridine orange, DAPI: 4',6-diamidino-2-phenylindole,

MN-COL: micronucleated colonic cells, MN-HEP:micronucleated hepatocytes, MN-RET: micronucleated reticulocytes

In vivo小核試験(OECD TG 474)



試験成績と考察（一部抜粋）

被験物質の小核出現頻度は、陰性対照群との間に統計学的な有意差は認められなかった。一方、陽性^{A1}対照群の小核出現頻度は1%水準で有意な増加が認められ、本試験系の妥当性が確認された。赤血球中に占める幼若赤血球の比率は、被験物質投与群と陰性対照群との間および陽性対照物質投与群と陰性対照群との間に統計学的な有意差は認められなかった。従って、被験物質あるいは陽性対照物質の投与による、骨髓細胞の増殖への明らかな影響はないと判断した。

以上の結果から、本試験条件下では、培養鶏肉は、マウス骨髓細胞において染色体異常を誘発しない（陰性）と結論した。

スライド 147

A1 表1と表2、並びに資料 1 を提出してください、データがスライドに入らない場合は、こちらの表現から削除してください。
作成者, 2023-03-02T10:27:16.305



単回経口投与試験

概要

動物に高用量の被験物質を単回（一回）投与した後、症状を7～14日間程度観察することで、急性毒性症状の発現と用量との関係性を調べる。

経口その他、経皮、皮下、皮内、静脈内、肺（気道）、腹腔内など多様な投与経路での試験が可能である。

通常は、数用量段階の被験物質を投与し、概略の致死量（動物の死亡発現が認められる量で、およその最小致死量）を推定する。

試験系

ラット、マウス、ウサギ、モルモットまたはサル・イヌ

検査・実験

投与（単回）、症状観察、体重測定、剖検

オプションとして、摂餌量測定、薬物血中／組織濃度測定、被験物質／投与液分析、生体試料分析、組織学的検査



単回経口投与試験 (医薬品毒性試験法ガイドライン [1])

- 試験成績および考察
 - 一般状態
いずれの群においても、観察期間中に死亡例はなかった。また、観察期間中に一般状態の異常は認められなかった (Table 1)。
 - 体重推移
いずれの測定日とも、被験物質投与群の体重は順調に増加し、対照群と比較して統計学的に有意な差は認められなかった (Table 2)。
 - 剖検所見
いずれの群においても、器官・組織に肉眼的な異常所見は認められなかった (Table 3)。
 - 考察
以上の結果から、本試験条件下では、培養鶏肉はラットにおいて急性毒性を示さないと判断した。

微生物検査（サルモネラ）



Positive Control:
Salmonella Typhimurium

Sample: Cultured Meat



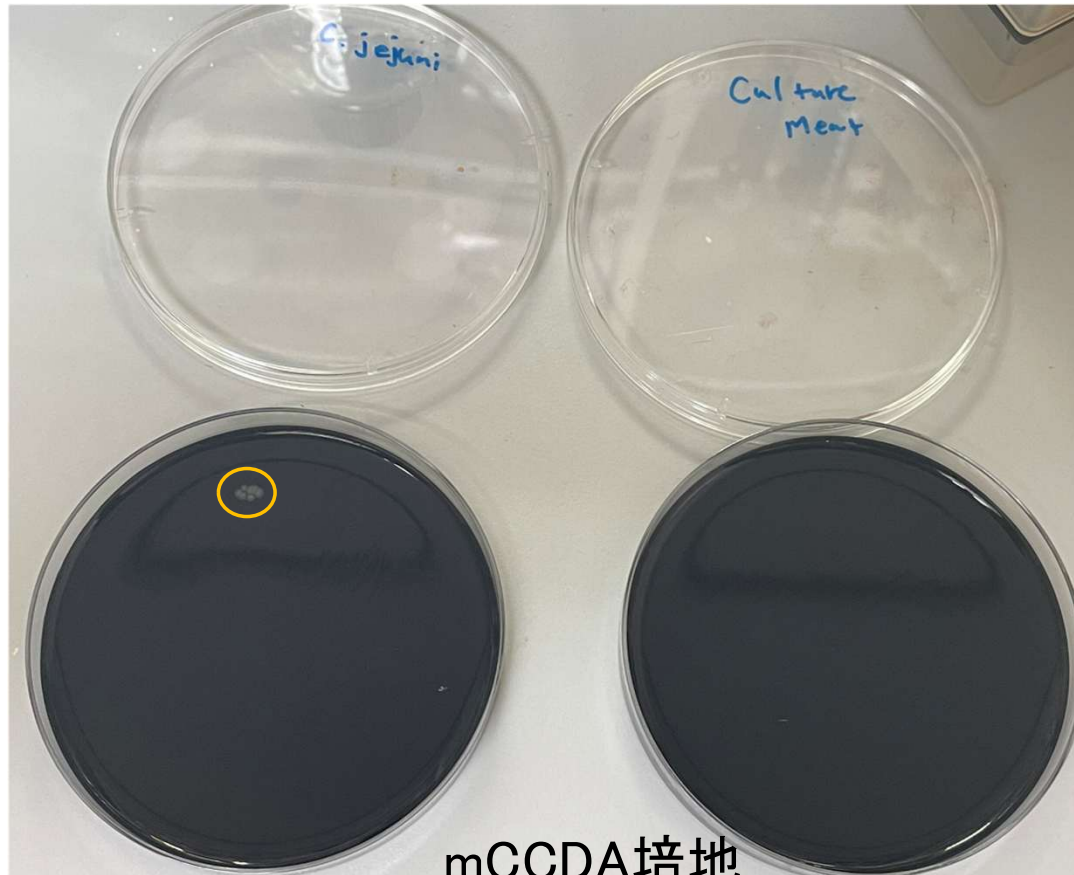
DHL寒天培地

培養肉中にサルモネラ菌による汚染は観察されなかった



Positive Control:
Campyrobacter jejuni

Sample:
Cultured Meat



mCCDA培地

培養肉中にカンピロバクターによる汚染は観察されなかった



BSE検査

ニッピー® BSE検査キットⅡ (96回用)

NippiBL® BSE Test Kit II (for 96 samples)

定価: ¥270,000



ニッピー ELISA試薬・前処理器材セット

Nippi ELISA Reagents and Pretreatment Equipment Set

定価: ¥90,000



全て陰性！！

Positive Control

Negative Control

#1

#2

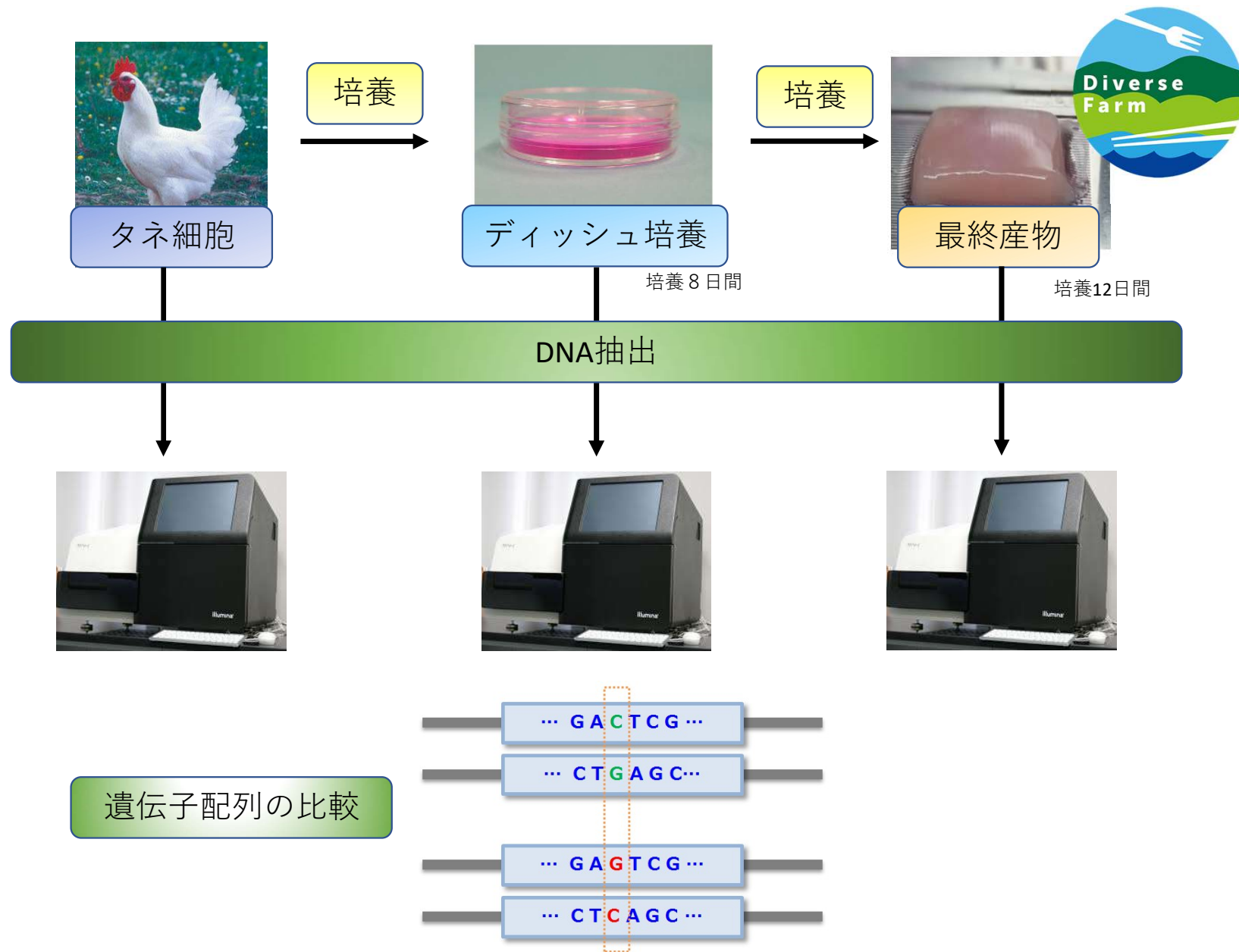
#3

#4

#5

濃度を変えた
サンプル5種類
を試験

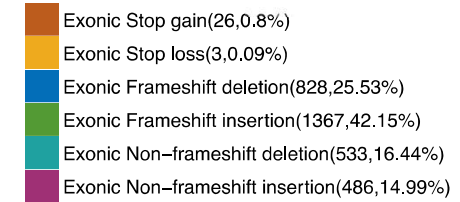
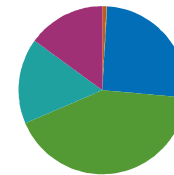
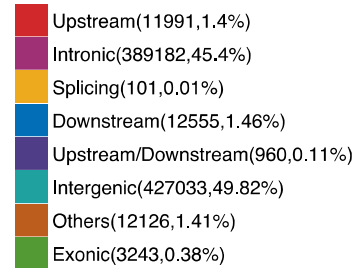
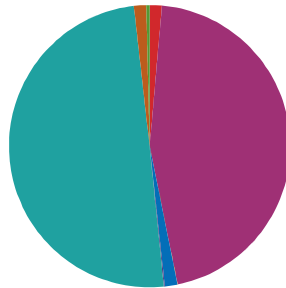
Negative Control



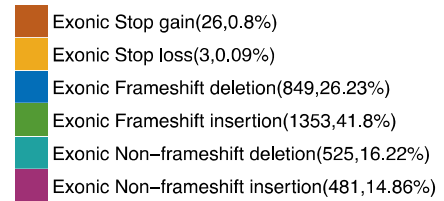
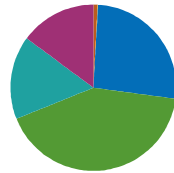
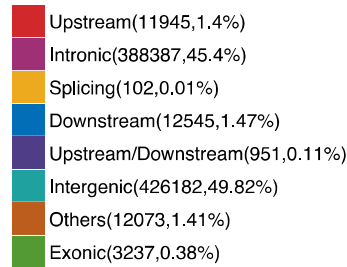
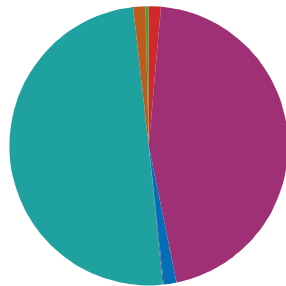
全ゲノム解析 (InDel)



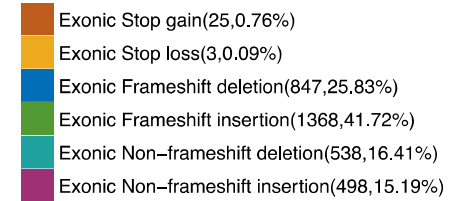
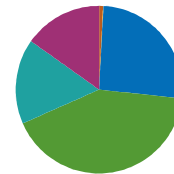
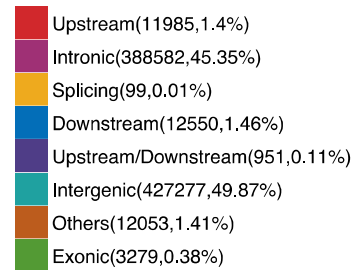
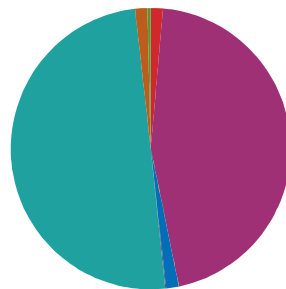
D01_Tissue



D02_Cell



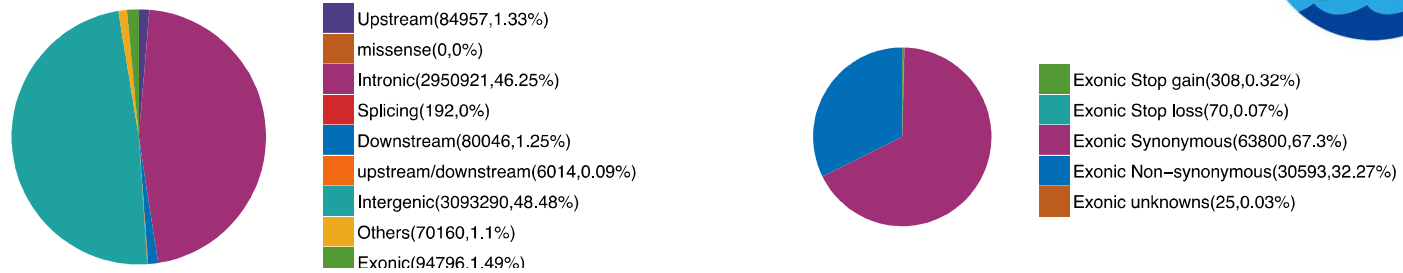
D03_Block



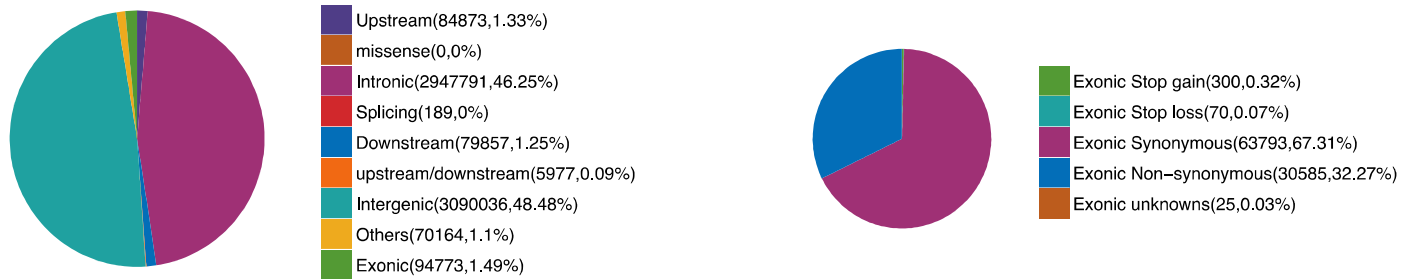
全ゲノム解析 (SNP)



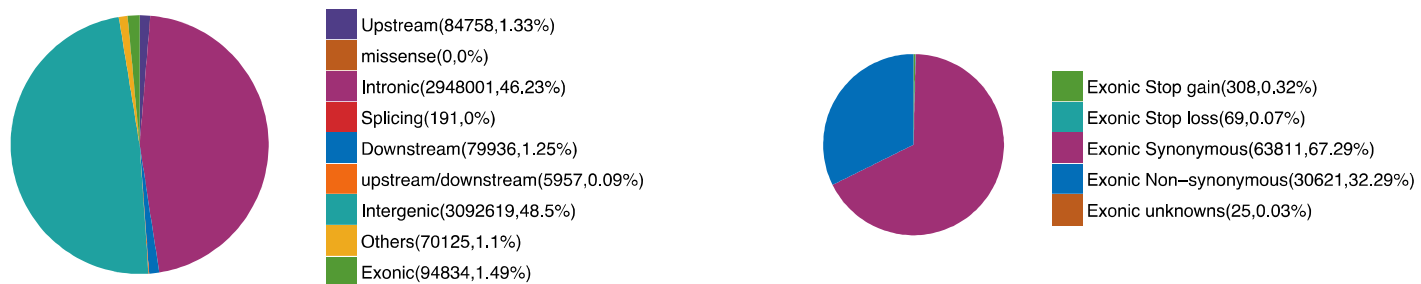
D01_Tissue



D02_Cell



D03_Block



詳細な解析はできていないが、タネ細胞、ディッシュ培養、最終産物のゲノム配列に大きな違いはみられなかった。



タネ細胞



ディッシュ培養



最終産物



DNA抽出



遺伝子配列の比較

塩基挿入・欠失・SNPに大きな変化はなかった！！

最後に

海外の巨大プラントは稼働するのか？



技術的課題

- ・ 無菌状態が担保できるのか？
コンタミすると総廃棄
細いパイプ内、バルブ、コネクタ部位すべて滅菌が必要
 - ・ 培養液の攪拌
細胞死起こさずに大容量の攪拌は可能か？
 - ・ 細かい管理
温度、濃度、攪拌スピードなど
- 初期の半導体製造装置と近似した状況
日本的な「アナログなものづくり」が先行できる可能性



ありがとうございました。