

〈総説〉

培養肉作りを支えるコラーゲンの新技術

¹⁾佐賀大学 理工学部 化学部門 有機材料化学講座

²⁾佐賀大学 医学部 医学科 病因病態科学講座

成田貴行¹⁾、原口椋多¹⁾、有島希仁¹⁾、青木茂久²⁾

はじめに

近年、世界人口の増加、気候変動、天然資源の枯渇といった課題が深刻化する中、持続可能な食料生産システムの構築が国際社会の重要課題となっています。従来の畜産業に依存しない「培養肉」は、温室効果ガス排出の削減、動物福祉の向上、土地利用の最適化といった観点から注目されています。しかし、現行の製造技術には多段階の工程が必要であり、大型の培養装置（バイオリアクター）を要し、再現性やコスト面での課題が指摘されています。このような背景から、培養肉の実用化に向けた低コストで効率的な細胞足場（細胞が接着・増殖するための支持体）の開発が急務となっています。本稿では、天然由来のコラーゲンを用い、紫外線（UV）照射と炭酸塩バッファーによる相分離制御を組み合わせた新しい技術について紹介します。この技術により、自己組織化型の多孔性マルチチャンネルコラーゲングル（MCCG）を作製することが可能になります。本技術の最大の特徴は、従来の3Dプリンターや電気紡糸法などの複雑な製造装置を必要とせず、自己組織化のプロセスにより均一な多孔性構造を得られる点にあります。これにより、低コストでのスケールアップが可能な培養システムの実現が期待されます。

1. 培養肉製造技術の現状と課題

従来の培養肉作製法は、初期の細胞採取から大量培養、分化誘導（細胞を筋肉細胞などに変化させる過程）、組織の立体化、そして最

終的な組織統合に至るまで、多段階のプロセスを要します。特に細胞の大量増殖と組織化には、厳密な環境管理と高度な培養装置が不可欠であり、これらの設備は高額な初期投資と運転コストを伴います。そのため、大手企業や研究機関に限定された取り組みとなり、中小規模への普及が困難な状況です。培養肉製造において、細胞が適切に増殖・分化するためには、三次元的な細胞足場が必要です。従来は3Dプリンティング、電気紡糸法、凍結乾燥法などが用いられてきましたが、それぞれに課題があります。3Dプリンティングは高精度な装置と専用材料を必要とし、また、すべてのポリマーと細胞が3Dバイオプリンティングに効果的に使用できるわけではない課題があります。電気紡糸法は非常に細い繊維状の足場を形成しますが、細胞接着性や機械的強度が十分でなく、長期培養には適していません¹⁾。凍結乾燥法は多孔性構造を作製できますが、生成されたエアロゲル（超軽量ゲル）は脆弱で、実際の培養環境での耐久性に問題があります。また、巨視的な培養肉組織では、内部に十分な栄養や酸素を供給し、老廃物を効率的に除去するための人工的な血管網に似た灌流システムが必要です。しかし、従来の技術では、培養組織内の微小な流路を均一に形成することが難しく、栄養供給不足や老廃物の蓄積が細胞の増殖や分化を妨げる要因となっています。私たちが提案するマルチチャンネルコラーゲングル（MCCG）技術は、UV照射と炭酸塩バッファーによる相分離・ゲル化の競合制御を利用し、自己組織化によって血管網に類似した多孔性構造を実現します（図1）²⁾。UV照射条件の最適化によりゲル化前

の溶液（プレゲル）の粘度を制御し、適切な炭酸塩バッファー濃度（約25 mM）が均一なチャンネル構造形成に寄与することが示されています。これにより、低コストかつ簡単な操作で、灌流型培養に必要な細胞足場を製造することが可能になります。

2. 新規コラーゲン技術の概要と形成機構

本節では、マルチチャンネルコラーゲンゲル（MCCG）の形成メカニズムについて説明します。MCCGは、UV照射と炭酸塩バッファーによる相分離・ゲル化の競合反応を利用して、自己組織的に均一な多孔性構造（ハニカム型）を形成する技術です。

まず、コラーゲン溶液にリポフラビン（ビタミンB2）を添加し、特定の波長（366 nm）のUV光を照射します。この過程では、リポフラビンが光触媒として機能し、UV照射により発生したラジカル（例：一重項酸素）がコラーゲン分子内の特定のアミノ酸残基（チロシンやフェニルアラニンなど）を介して部分的な架橋反応を促進します。この架橋反応により、プレゲル溶液の粘度は照射時間に依存して上昇し、その後のゲル化および相分離反応の進行速度と均一性に大きな影響を与えます。UV照射条件は、完全な架橋を目指すのではなく、プレゲル溶液の物性（粘度・流動性）を調整するために最適化されます³⁾。

UV照射後のプレゲル溶液は、培養プレートなどに注入され、一定濃度の炭酸塩バッファ

ーに浸されます。バッファー中の炭酸イオンが溶液中に拡散すると、コラーゲン分子の電荷が中和され、局所的にpHが上昇します。これにより、コラーゲン分子間の反発力が低下し、溶液が相分離を起こします。すなわち、ゲル化と相分離が同時に進行することで、溶液内に不均一な濃度分布が形成され、コラーゲンが濃縮した領域と希薄な領域が生じます。これらの希薄領域が後に水分の凍結乾燥過程において連続した孔（チャンネル）として固定され、ハニカム型の多孔性構造が得られます（図1）。

3. 細胞培養試験と培養システムへの応用

3.1 細胞適合性および増殖試験

MCCGを細胞培養足場として評価するため、まずは培養前の足場の足場を滅菌処理したうえで、ヒト皮膚由来の細胞（HaCaT）およびマウス由来の線維芽細胞（NIH/3T3）を用い、足場上への細胞播種を実施しました。細胞の増殖は、細胞増殖測定試薬（CCK-8）を用いて定量的に評価しました。播種後6時間を接着基準として、1日および3日、さらに長期間（最大7日間）にわたる培養期間中、各サンプルの吸光度（450 nm）を測定し、細胞増殖率を算出しました。これにより、MCCG上での細胞増殖が均一に進行すること、および最適な培養環境が整えられていることが確認されました。さらに、蛍光染色（DAPI：核染色、Phalloidin：アクチン繊維染色）やヘマトキシ

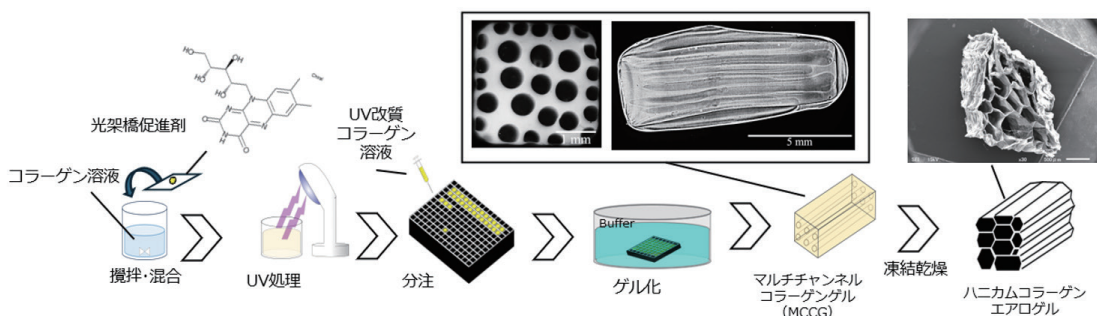


図1 マルチチャンネルコラーゲンゲル（MCCG）の作成方法。相分離とゲル化の競合反応により、MCCGが自己組織的に形成される。最終的に凍結乾燥工程を経て、連続した微細なチャンネルを持つマルチチャンネルコラーゲンエアロゲルが完成する。

リン・エオジン (HE) 染色による断面解析により、足場内部の細胞分布および浸潤状況も詳細に評価し、チャンネル内外にわたる細胞の均一な接着と、足場内部への進入が認められました⁴⁾。

3.2 灌流培養システムへの統合

MCCGを中空糸膜と組み合わせた灌流培養システムを構築し、培地の供給効率と細胞応答への影響を評価しました(図2)。具体的には、MCCG足場を内蔵したシリコンモールド内に、中央軸上にハローファイバーを配置する方法

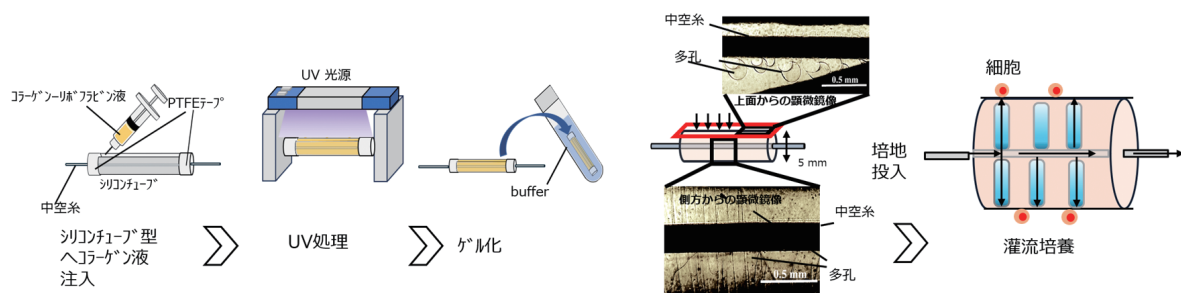


図2 灌流培養用MCCGの作製プロセスと培養システム。左から順に：シリコンチューブ内へのコラーゲン・リボフラビン溶液注入、UV処理による部分架橋、炭酸塩バッファーによるゲル化、形成されたMCCGの顕微鏡像（上面・側面）、そして右端にMCCGを用いた灌流培養システムの模式図。中空糸を通して培地が投入され、多孔性チャンネルを通じて細胞に栄養が供給される。

を採用しました。中空糸膜は主要な栄養供給経路として機能し、MCCG内の多孔性チャンネルが、毛細血管に類似した役割を果たします。実験装置は、シリンジポンプを用いて一定の注入流量で培地を供給し、装置外側に設置した受液容器で径方向（MCCG足場を通じた）への培地の滲出量を測定しました。中流量条件（約5.0 mL/時）においては、最適な炭酸塩バッファー濃度（25 mM）で調製されたMCCGが、約60%のチャンネル面積を示し、十分な栄養分供給を可能とすることが明らかとなりました⁵⁾。

構築した灌流培養システム内で、MCCG足場上に播種された細胞は、培地供給の改善に伴い、短期間で密度が増加しました。また、チャンネル内側の細胞は、細胞間相互作用や三次元的な細胞集団形成が促進されました。培養開始から7日目には、足場全体にわたり均一な細胞層が形成され、断面解析により、チャ

ネル壁に沿って細胞が配列している様子が確認されました。これにより、MCCG足場は、単なる支持材料としてだけでなく、細胞間の栄養・酸素交換を促進する人工的な血管網としても機能することが示唆されました⁵⁾。

また、灌流実験における培地の滲出挙動と細胞増殖率の相関解析からは、流量が高くなるほど、栄養供給の効率が向上する一方で、過度の流速が細胞の接着や形態維持に影響を及ぼす可能性も示唆されました⁵⁾。

4. まとめ

UV照射と炭酸塩バッファーによる相分離・ゲル化制御を基盤とした新規コラーゲン足場技術（MCCG）について、形態解析や機械的評価、さらに細胞培養試験の結果を踏まえ、その有用性を概説しました。低コストかつ柔軟なシステム構築が可能であり、従来技術の課題を克服し、将来的な培養肉生産や再生医療への応用が期待されます。今後は、さらなる工程の最適化およびスケールアップ実験を通じ、実用化に向けた検討が求められます。

謝辞：本稿で示した研究結果は佐賀大学ミッション実現戦略分プロジェクトから支援を頂きました。

文献

1) Teixeira MC, Singh KK, de Melo BAG, Severino P,

- Cardoso JC, Souto EB: Nanotechnology and Regenerative Medicine. Elsevier; 2023: 195-232.
- 2) Furusawa K, Sato S, Masumoto JI, Hanazaki Y, Maki Y, Dobashi T, Yamamoto T, Fukui A, Sasaki N: Studies on the Formation Mechanism and the Structure of the Anisotropic Collagen Gel Prepared by Dialysis-Induced Anisotropic Gelation. *Biomacromolecules* 2011; 13(1): 29-39.
 - 3) Ishibashi Y, Haraguchi R, Aoki S, Oishi Y, Narita T: Effect of UV Irradiation of Pre-Gel Solutions on the Formation of Collagen Gel Tubes. *Gels* 2023; 9(6): 458.
 - 4) Haraguchi R, Aoki S, Oishi Y, Narita T: Honeycomb-Shaped Collagen Aerogels Formed Using a Multi-channel Hydrogel as the Template. *Langmuir* 2025; 41(3): 1664-1674.
 - 5) Arishima M, Haraguchi R, Kawakita H, Aoki S, Oishi Y, Narita T: Development of Controllable Perfusion Culture Scaffolds Using Multi-Channel Collagen Gels. *Polymers* 2025; 17(2): 287.

Novel Collagen-Based Scaffolds for Cultured Meat Production: Self-Organized Multi-Channel Structures for Perfusion System

¹⁾Department of Chemistry and Applied Chemistry, Saga University

²⁾Department of Pathology and Microbiology, Saga University, Saga 840-8501, Japan

Takayuki Narita¹⁾, Ryota Haraguchi¹⁾, Mareni Arishima¹⁾, Shigehisa Aoki²⁾

Summary In response to the increasing demand for sustainable food production, cultured meat has emerged as a promising technology. However, conventional production methods require complex processes and high capital investments. In this review, we present a novel collagen-based scaffold technology that employs self-organized multi-channel collagen gels (MCCGs) as the foundation for low-cost perfusion culture systems. By controlling the competition between UV-induced collagen crosslinking and carbonate buffer-driven phase separation, MCCGs exhibiting a honeycomb structure with a high channel area fraction are formed. Detailed morphological and mechanical analyses reveal that optimal UV irradiation and buffer concentration yield scaffolds with uniform channel distribution, enhanced elasticity, and anisotropic mechanical properties. In vitro cell culture studies using fibroblast and keratinocyte lines demonstrate the scaffold's ability to support cell adhesion and proliferation, suggesting its potential to mimic vascular networks in perfusion systems. This technology offers a promising route to overcome the limitations of current cultured meat production methods.

Key words: cultured meat; collagen scaffold; multi-channel structure; perfusion culture; tissue engineering.