再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業

再生医療の産業化に向けた細胞製造・加工システムの開発

ヒト多能性幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発

（網膜，未分化，肝臓）

紀ノ岡　正博

大阪大学大学院 工学研究科 生命先端工学専攻

将来の細胞培養加工施設と自動システムに対する理念・技術構築

プロジェクト動画　YouTube: https://www.youtube.com/watch?v=s2Hz3cuaTWo

共同研究機関:
幹細胞評価基盤技術研究組合
（澁谷工業，ニコン，エイブル，クラレ，藤森工業，堀場製作所，島津製作所，大日本印刷，日本光電，住友ベークライト，大陽日酸，富士フィルム和光純薬，JBA），産総研，金沢大，基盤研，東京大，東京女子医大，名古屋大，京都大

アウトプット目標:

〇各プロセスが連携した細胞製造システムの開発

・プロセスごとの作業，操作の必要な省力化，省人化
・再生医療製品を低コストで製造するためのシステム

〇プロセスの正確性・確実性を担保するための工程管理技術

・個別の自動化装置や培地・基材等の周辺製品の開発
・最適に組み合わせ連携させた製造／品質システムの構築

最終目標（平成30年度）

・低コストで製造可能な製造システムの構築（コスト現状の1/10）

・各プロセスに最適な装置などの構築

・最大10^{10}個/バッチを製造可能な自動培養装置

・最適に組合せ連携させた製造システムの構築

・事業終了後3年程度で製品化可能なレベル

目標達成に向けたキーワード:

コトづくり
Kotozukuri
モノづくりのみではなく，ヒトづくり（教育），ルール作り（標準化，規制）をも含めた社会システムの構築

つなぐ技術
Interface Technology
多様性を有する再生医療の各工程間や異なる分野をつなぎ，一貫したシステムを構築する，技術のパッケージ化戦略

細胞製造性
Cell Manufacturability
生きた細胞を最終製品とする，細胞製造における，種々の変動を考慮する際の製造設計の容易性（製造性）

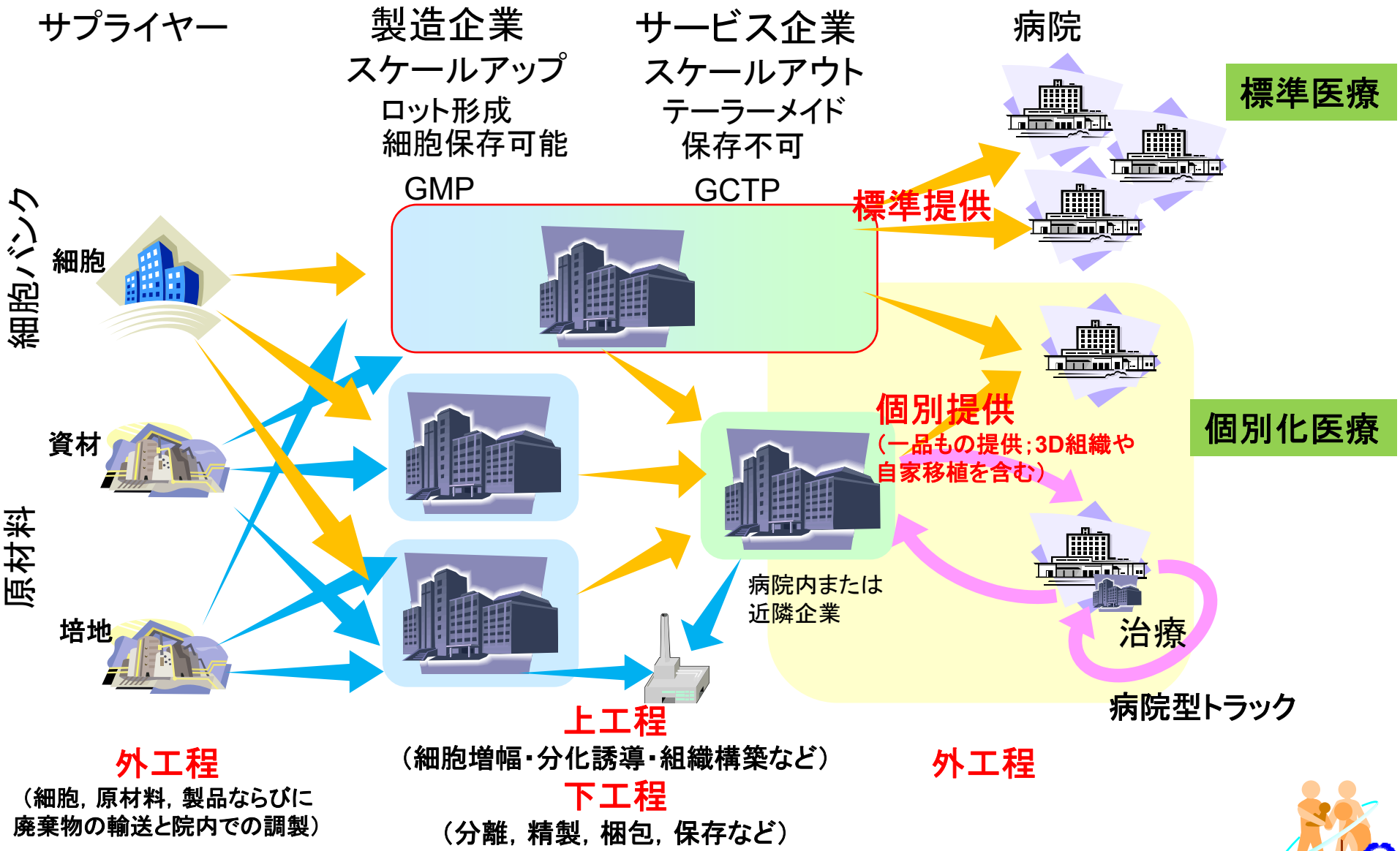
スケールアップ
Scale-up
増幅・分化（上工程）から精製・分注（下工程）までを一貫した、細胞品質維持を考慮したバッチスケールによる大量生産

細胞製造の一貫性

サプライチェーンならびにバリューチェーン構築に向けて

コトづくり

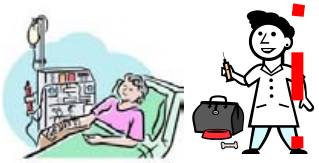
同種細胞 → 自家細胞 → 原材料ならびに廃棄物



将来の細胞培養加工施設と自動システムに対する理念・技術構築

再生医療等

治療



医師法・医療法
治療行為

再生医療等
安全性確保法

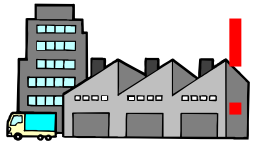
特定細胞加工物
preparation
製造（調製）
cell processing

保険非収載
（自由診療）

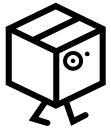
将来は一部民間保険に依存？

連携

製造



独立



医師法・医療法
治療行為
（一部の細胞調製を含む）

流通・販売

薬機法
再生医療等製品
product
製造
cell production

保険制度

保険収載

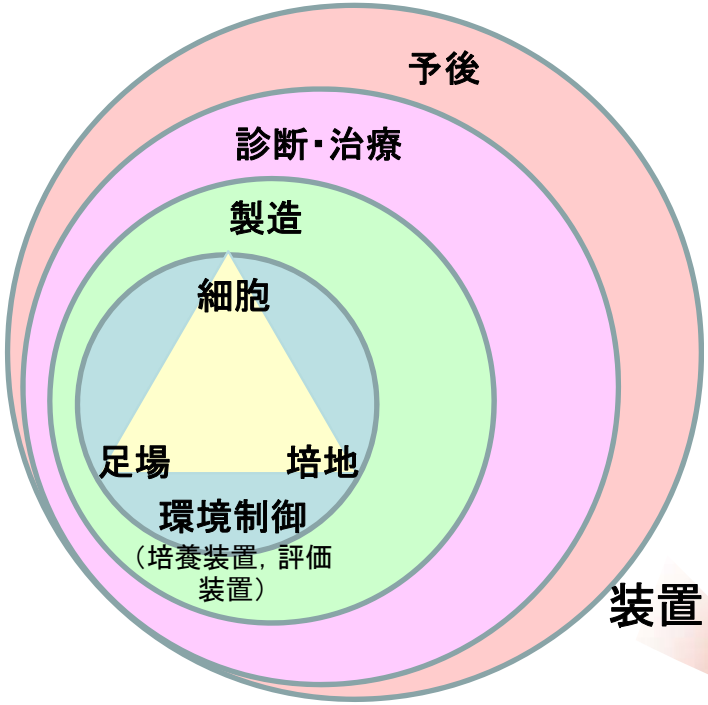
保険適用範囲
（一部まだ保険収載していない）

再生医療技術を普及させるために

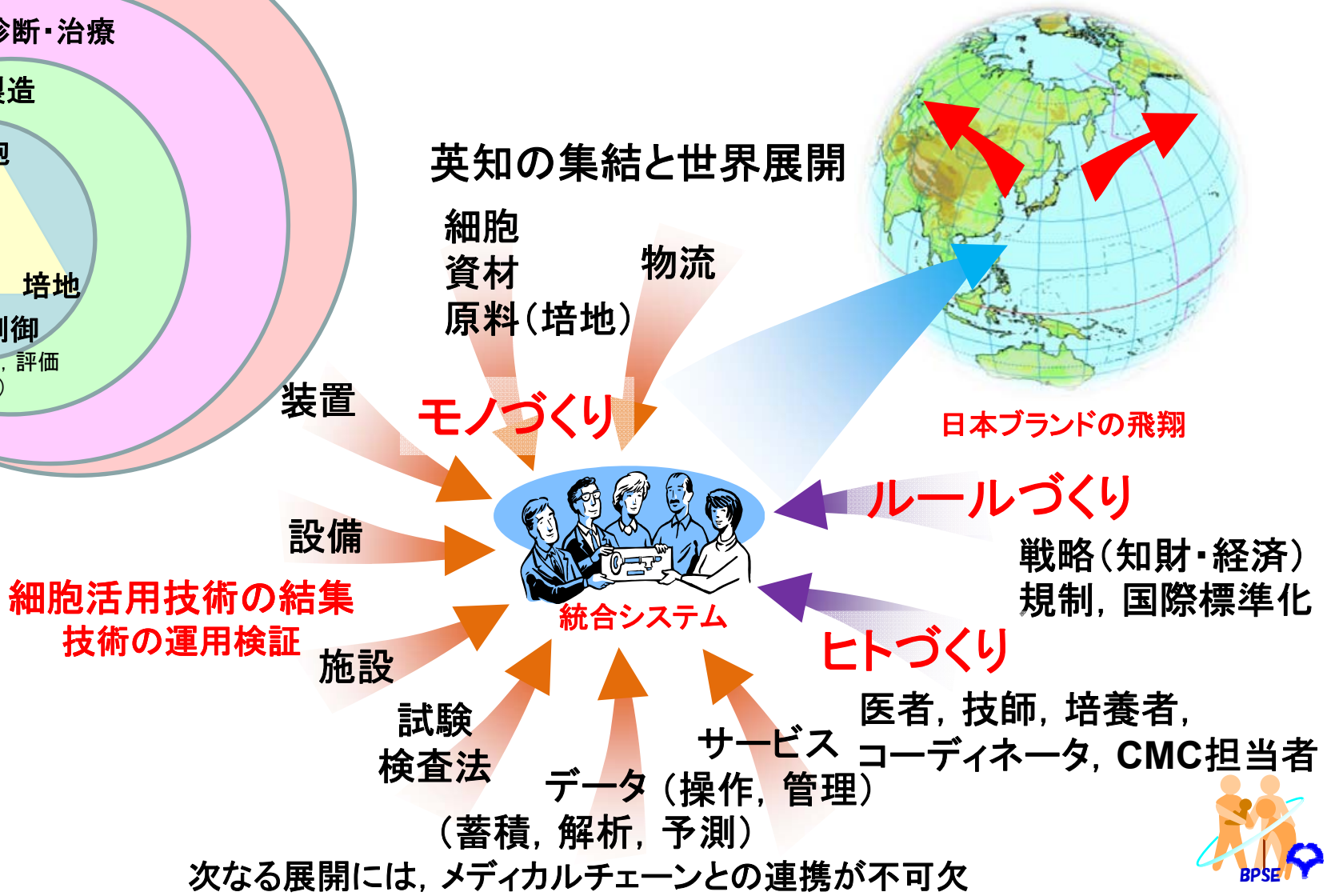
コトづくり

新しいバリューチェーン

新展開産業の創出例：再生医療技術産業における「コトづくり」



再生医療技術産業におけるパッケージ戦略



再生医療産業のパッケージ化

コトづくり

本プロジェクト課題の範疇　　他プロジェクトとの連携

コトづくり　**運用試験によるプラットフォーム構築（本物を作る）**

工程ごとに必要な機器（モジュール）・運用手法を開発し，
インターフェースを標準化することで一貫した製造システムを構築

モノづくり　**①各工程に必要な機器開発と技術の検証**

除染、原料調整、初代・継代培養、培養観察・検査に対応
する各モジュール開発

モノづくり　**②技術結集による運用試験**

実際の再生医療技術開発現場での検証

ルールづくり　**③加工操作に対する標準化**

各工程の規格化（ガイドライン）・国際標準化

ヒトづくり　**④人材育成促進の施策構築**

細胞を適切に調製できる人材育成とその制度施策

コトづくり　**⑤ビジネスプラン施策とパッケージ化戦略**

上記開発事項を加味した安全で低コスト製造におけるビジネス
プランの構築と技術結集におけるパッケージ化戦略の策定

BPSE

チーム作り

細胞製造性

育む設計

幹細胞培養

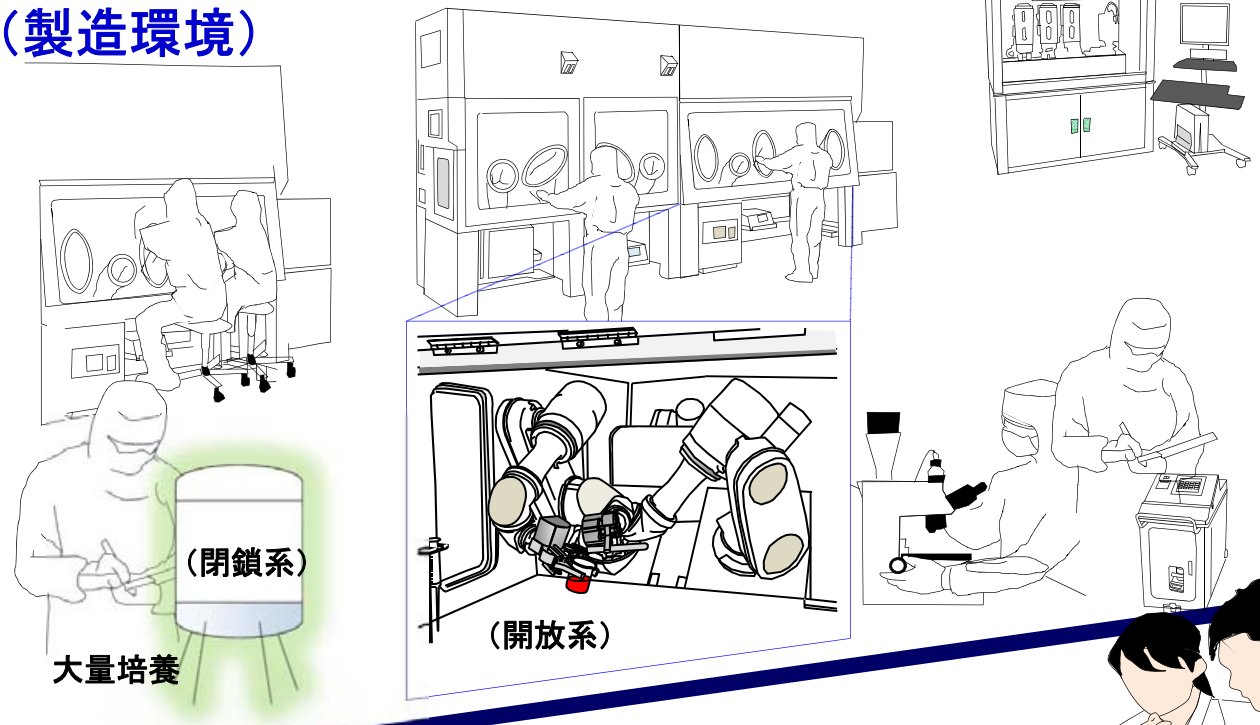
運命制御

造る設計

無菌環境管理
（製造環境）

細胞加工操作管理
（製造工程）

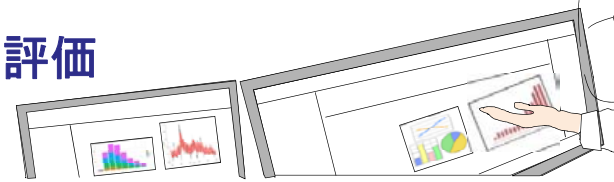
培養操作メトロロジー



診る設計

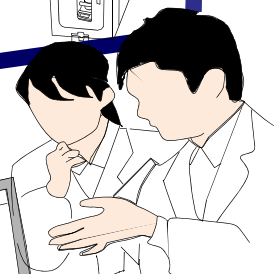
シミュレーション

データ評価



統合マネージメントシステム

バーチャルファクトリ　バーチャルセラピ



BPSE

本事業における開発要素

モノづくり

開発要素はないが、システム構築の上で必要な工程（ユーザーフォーラムとしての協力）

上工程　下工程　外工程

細胞リソース提供	増幅培養	分化誘導	分離・精製	形成・梱包	保存／輸送	製造細胞利用用途
	品質管理／評価					

①-1 iPS細胞 CiRA

①-2 自動培養技術

容器開放系（筐体密閉型装置）丁寧な操作

容器閉鎖系（容器密閉型装置）大量の処理

省スペース自動操作モジュール 澁谷

インキュベータモジュール 澁谷

観察インキュベータモジュール ニコン，澁谷

細胞観察ソフト（平面） 医基盤，ニコン，名大

培養基材，逸脱細胞除去 阪大

懸濁集塊培養技術（大量）

スケールアップ

大量培養モジュール（大スケール） エイブル

大量培養モジュール（特大スケール） 藤森

集塊形成操作 クラレ，京大

高密度化操作 阪大

細胞洗浄濃縮操作 阪大

pHセンサー 堀場

細胞観察ソフト（懸濁） DNP，女子医

静置集塊培養技術

大量集塊培養モジュール 島津，クラレ

①-3 分離・精製技術

未分化iPS細胞の分離精製技術

分離精製モジュール 産総研，阪大

①-4 形成・梱包技術

懸濁細胞分注・凍結モジュール 澁谷

①-5 保存・輸送技術

（②からの技術展開）

温度管理

凍結保存液

輸送容器

阪大，大陽日酸

網膜色素上皮細胞 ヘリオス

iPSセルバンク CiRA，企業内バンキング

肝細胞 横市大

①-6 幹細胞評価技術 阪大，産総研，和光純薬

品質管理マーカー開発／安定供給，幹細胞品質管理キット，幹細胞ゲノム異常判別チップ

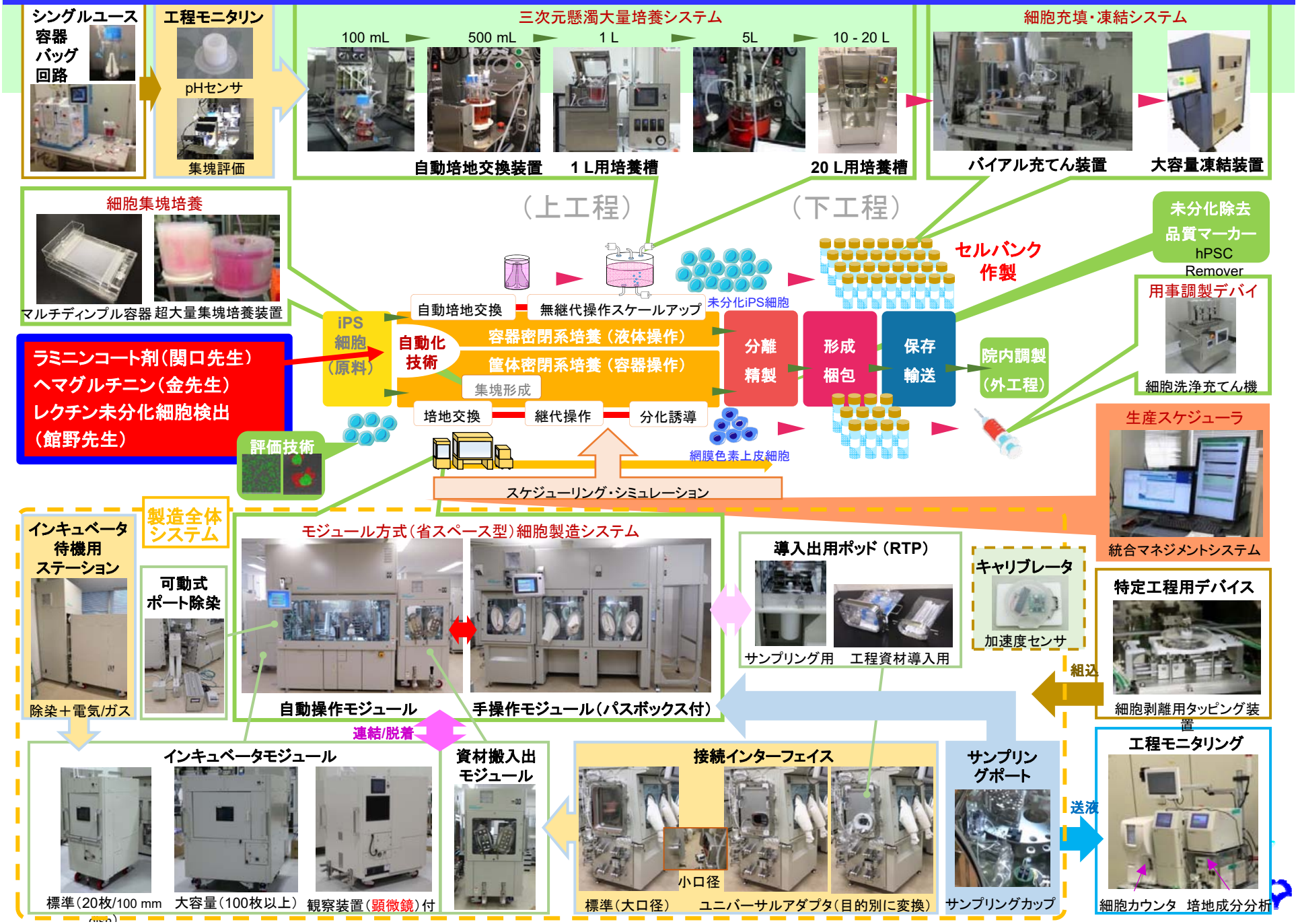
①-7 つなぐ技術 一貫培養（iPS未分化細胞，網膜色素上皮細胞） 阪大，女子医　無菌インターフェース，トランスファーモジュール，搬送ポッド，資材導入モジュール・ポッド，手・自変換モジュール，除染ポッド，液移送デバイス 澁谷，住べ　自動操作キャリブレーター，サンプリングデバイス 光電

①-8 スケジューリング，データ予測技術 スケジューラー 澁谷　シミュレーター 阪大，産総研，東大，名大

①-9 産業化支援 ユーザーニーズ，経済性評価，知財，国際標準化，規制対応，市場展開評価 組合，JBA，産総研

基礎技術　薬機法レベルでの運用試験

細胞製造工程フローにおける開発システムの構成と位置づけ



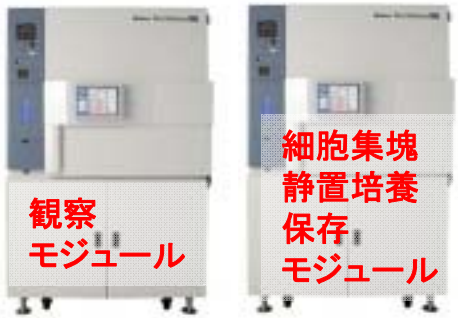
種々の新規モジュールとの結合
（開発当初のコンセプト）

アイソレータシステム

インキュベータ

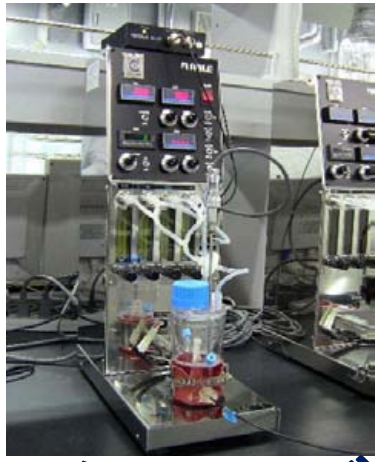
自動化

種々の
機能モジュール



インター
フェース

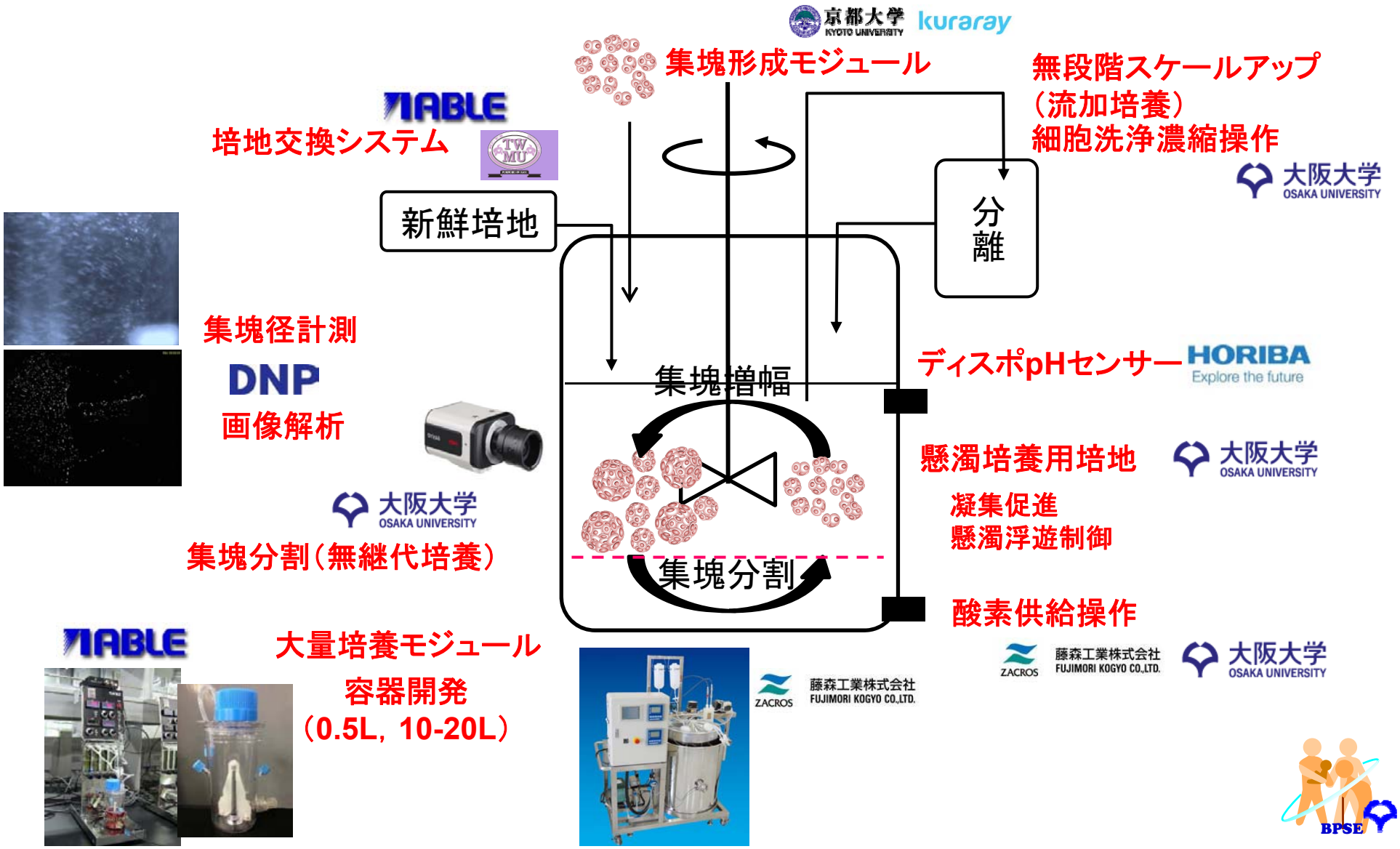
大量培養モジュール



クローズシステム

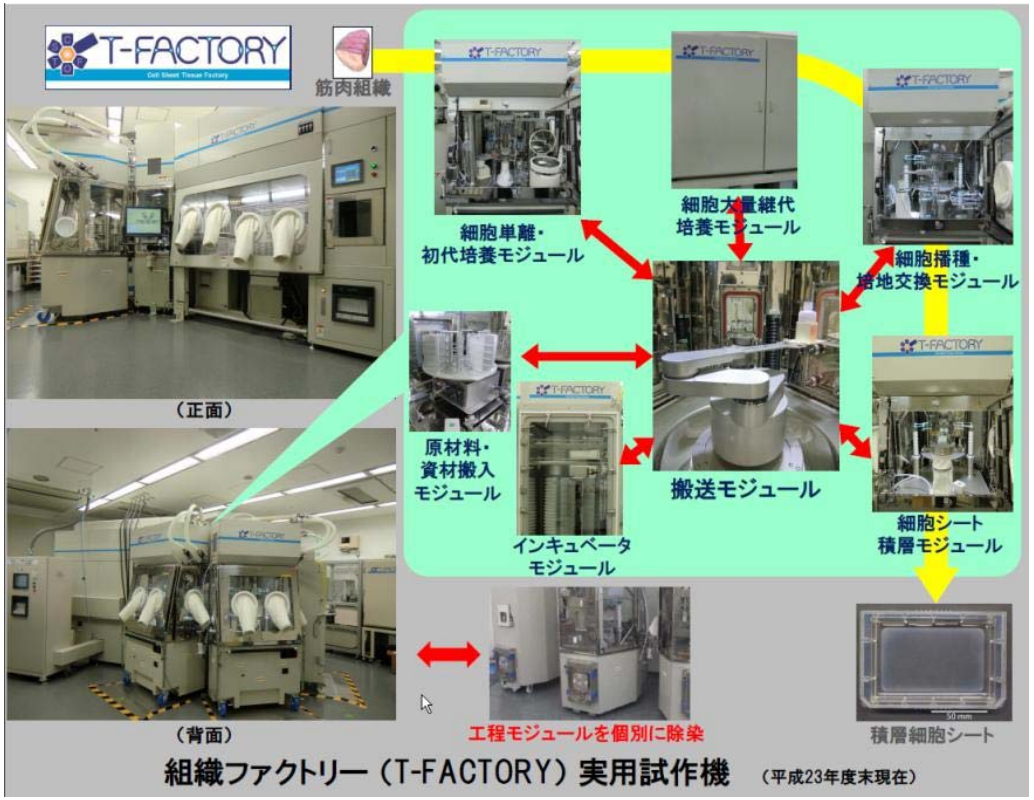
大量培養システム

シングルユース懸濁培養装置に各項で開発される要素技術を統合

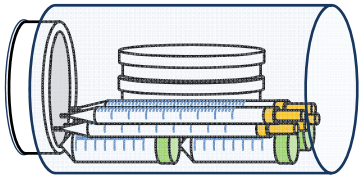


既設資産を利用した運用ノウハウの蓄積（つなぐ技術）とその他ツール・ルール開発

一貫プロセス運用　　細胞製造工程に関する安定性評価

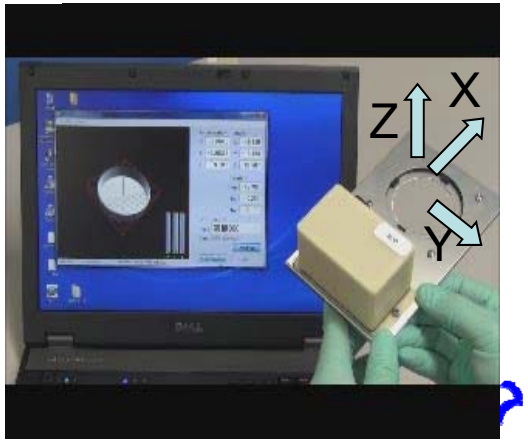


国内外の規制に対応した（改正薬事法レベルにて）製造を可能とする柔軟な製造システムを構築



動作キャリブレーター

加速度センサーによる機械操作の定量化



fMPを活用した細胞製造設備に対するバリデーション手法の確立

実践的スケジューラの開発

組合活動と集中研の意義
（大阪大学吹田キャンパスの立地）

生物工学国際交流センター
（オフィス）

産学共創本部A棟
（実験室）

工学研究科　生物工学コース

阪大医学研究科＋
未来医療センター

細胞製造に向けた生物化学工学者としての貢献

モノづくり

製造を考える

最近の製薬業，化学産業等でのプロセスエンジニアリングの傾向

The process is the product.

プロセスが製品品質に重要な影響を及ぼす．
製造工程・方法論そのものに，特許性が認められ，
製品を販売できる．

⇒再生医療等製品の製造は未知の領域で数多くの問題が存在する．つまり，素材だけではなく製造プロセスそのものが商品価値として高い

細胞製造に向けた生物化学工学者としての貢献

モノづくり

製造を考える

現状

製造（大量製造）工程の構築

●ラボスケール：工程の確定・工程の選択

忘れられている

？

●プロダクションスケール：実生産（設計・建設・運転）

細胞製造に向けた生物化学工学者としての貢献

モノづくり

工学研究は，将来の発展の基盤として重要

製造を考える

本来のあるべき姿

製造（大量製造）工程の構築

- ●ラボスケール：工程の確定・工程の選択

標準的な操作の確定

本プロジェクトの範疇

- ●ベンチスケール：工程内操作の最適化
  工程一貫性操作の確認（技術の選択，統合）

周辺技術の構築

機械化，自動化，
安定化，効率化

環境，操作，
分析，解析

- ●パイロットスケール：工程の実現性確認
  スケールアップ（実生産に向けた効率化，安定化）

- ●プロダクションスケール：実生産（設計・建設・運転）

開発する立ち位置が大切

できると思って工程を構築⇒最適な工程に至らない
できないと思って工程を構築⇒理論構築を行い最適な工程を生み出す

BPSE

再生医療に資する細胞製造の問題点

モノづくり

製造を考える

製品の製造：一定品質の製品を安定供給できることが要求される

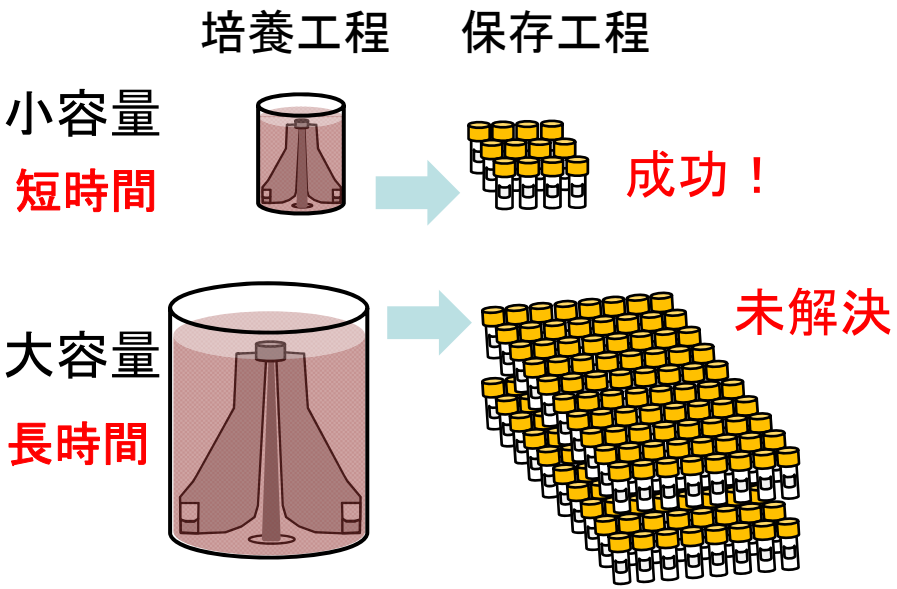
本邦の製造での強み：安定供給→世界における日本ブランドの信用

生きた細胞製品とすることを考慮した安定化技術の工学的開発が必要

生きた細胞を扱う上では、必ずしも同じ（均一）にはならない

医薬品製造とは異なる細胞製造独特の工程確立が必要

例）培養工程および保存工程におけるスケールアップ問題



懸濁時の液流れストレス

時間差により細胞の質の変化

（1時間程度の制限時間内での処理）

工業化⬇

優しくかつ高速処理できる技術開発が不可欠

なぜコストが増大するのか？
ー生産密度についてー

モノづくり

製造を考える

	反応体	製造期間	製造 スケールレベル
低分子医薬品	化学・微生物 反応	数日	10^4~10^5 L
抗体製品 （バイオロジックス）	生産株 細胞反応	数週間	10^3 L
再生医療等製品	正常ヒト 細胞反応	数週間から 数か月	10^{-2}~10^0 L

生産密度　(生産量/年)
＝製造スケール×年間製造回数（バッチ数/年）

現状：再生医療等製品の生産密度が低い⇒製造コストの増大

要求：製造スケールの増加（スケールアップ）または並行生産による回数増加

生産密度の改善

モノづくり

要求：製造スケールの増加（スケールアップ）または並行生産による回数増加

生産密度が低い

スケールや
製造回数が小さい

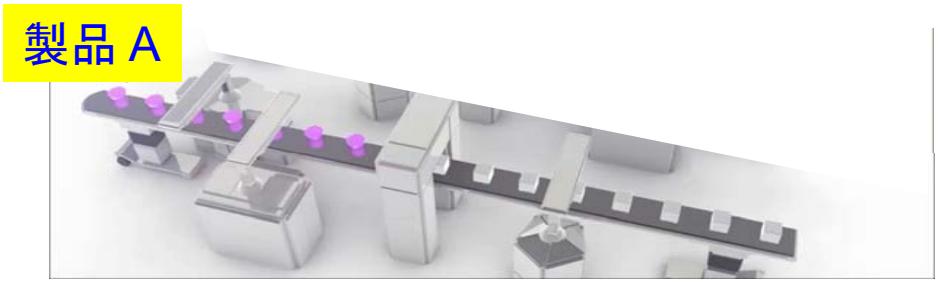
大くする

束ねる

生産密度の向上

スケールアップによる大量製造

装置統合による並行生産



生産回数は少ないが大スケール

小スケールだが多品目並行生産
（製造回数増）

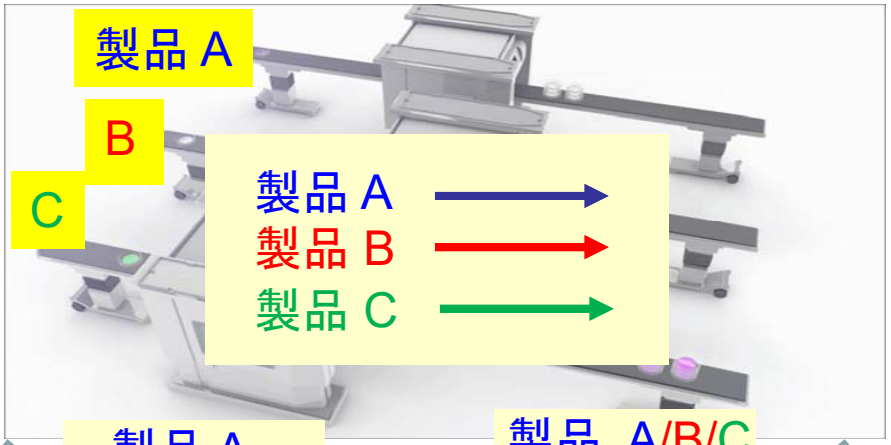
生産密度の改善

モノづくり

要求：製造スケールの増加（スケールアップ）または並行生産による回数増加

生産密度が低い

スケールや
製造回数が小さい



大くする

製品 A

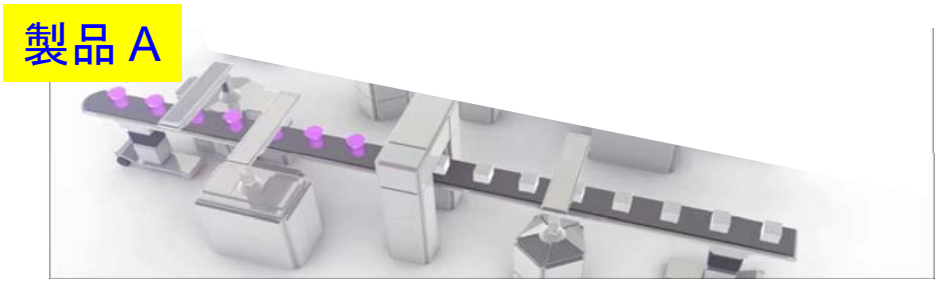
製品 A/B/C

束ねる

生産密度の向上

スケールアップによる大量製造

装置統合による並行生産



生産回数は少ないが大スケール

小スケールだが多品目並行生産
（製造回数増）

研究開発目標

・多品目対応の細胞製造システムの構築

→iPS由来RPE細胞をモデルとした再現性のある一貫製造の達成

・並行生産によるfMPのコスト削減効果の実証

→生産計画を仮定し、工数削減による有効性を検証

・GCTPに適合した生産管理システムの作製

→スケジューラ含む統合マネジメントシステムの構築

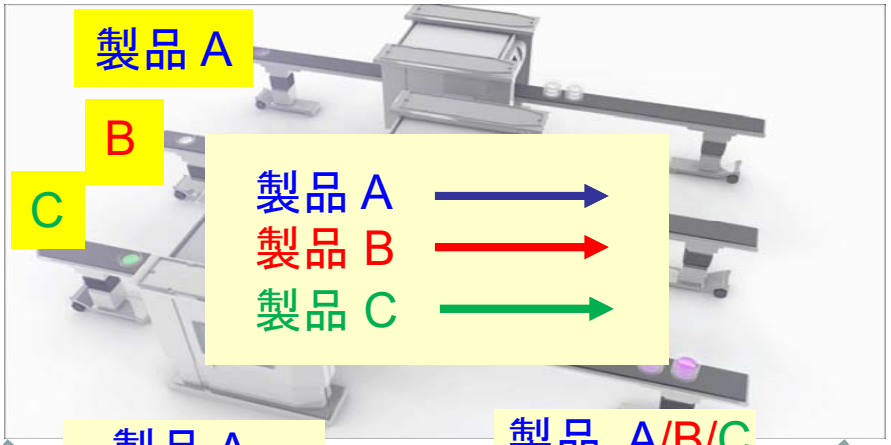
生産密度の改善

モノづくり

要求：製造スケールの増加（スケールアップ）または並行生産による回数増加

生産密度が低い

スケールや
製造回数が小さい



大きくする

製品 A

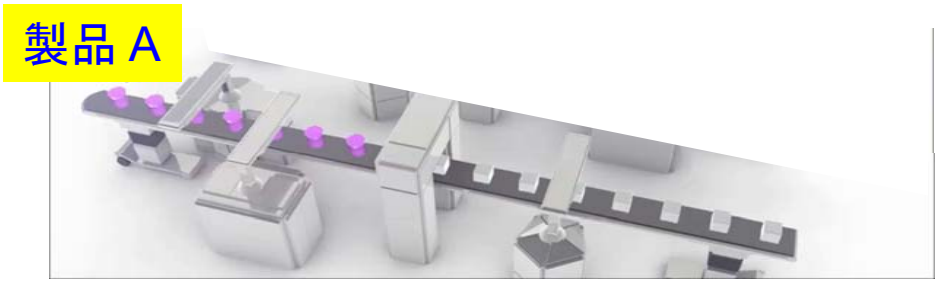
生産密度の向上

製品 A/B/C

束ねる

スケールアップによる大量製造

装置統合による並行生産



生産回数は少ないが大スケール

小スケールだが多品目並行生産
（製造回数増）

現在までの成果概要

誰でも，何処でも可能な安定化技術：神の手/神の目 から 普通の手/普通の目 へ

大量懸濁培養の手順構築

安定した操作手順の構築

分注装置設計

外部環境

自動培養技術

形成・梱包技術

外乱

システム

遮断（無菌化）

プロセス

操作（細胞を製品とする難しさ）

インプット（原料）

細胞

培地・試薬

工程資材

iPS細胞培養

分化誘導培養

RPE細胞培養

懸濁液 製剤化

製品

アウトプット（最終製品）

4つの重要操作

高密度播種

培地交換

細胞選抜

細胞回収

弱接着細胞培養

強接着細胞培養

神の手の技術の克服

動作キャリブレータの活用：動作測定に基づく論理的解釈
→すべての工程の機械化に成功

品質管理監督システムの構築・維持管理

つなぐ技術

原料・工程資材の迅速導入方法

工程品質管理手順の構築

スケジューリング

成果の上市（レクチン）

BPSE

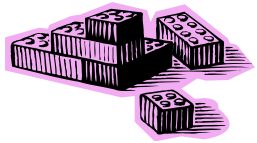
本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 操作設計

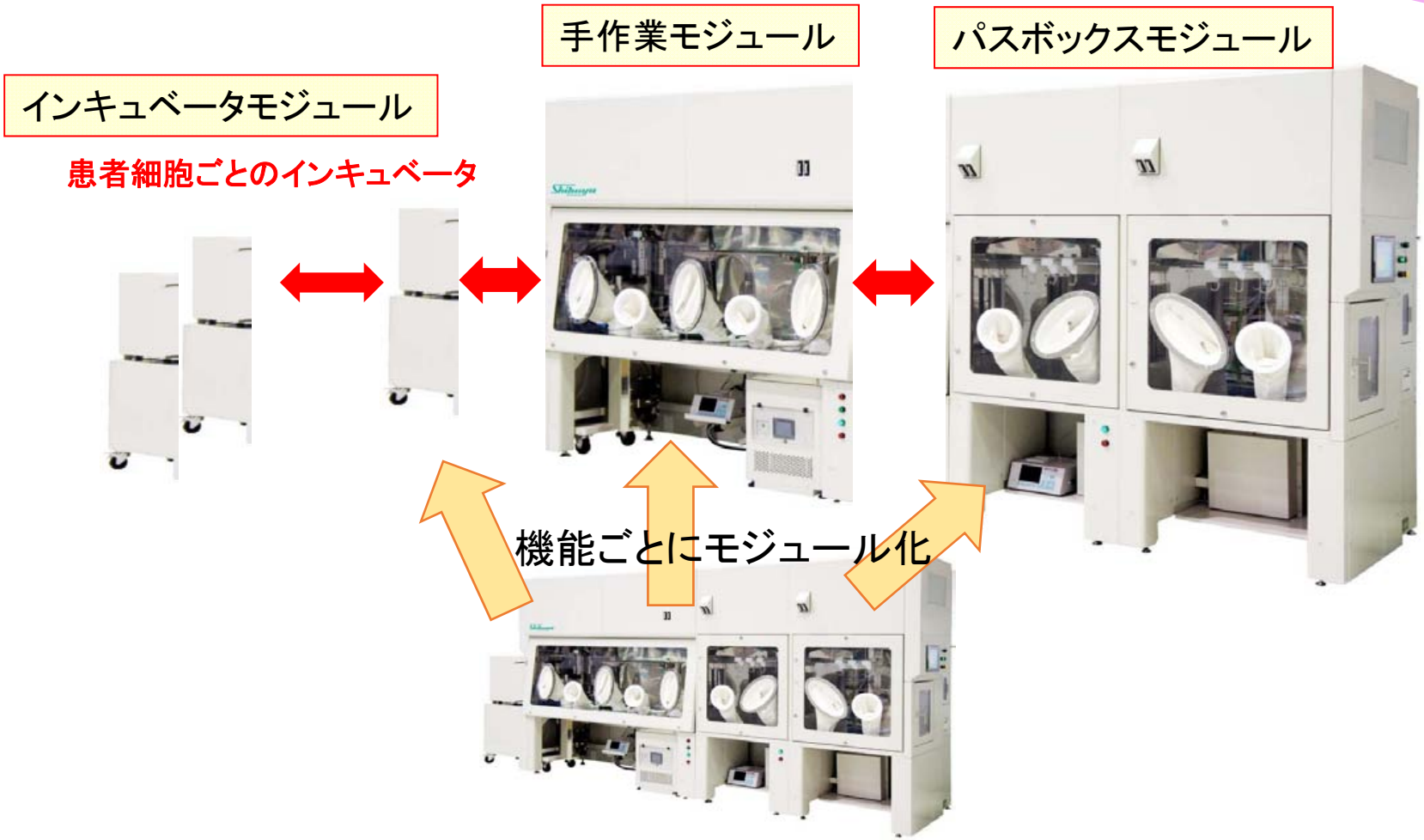
アイソレータ技術の活用

液ハンドリングより容器ハンドリング技術への適用

柔軟にモジュールが組み合わせられるアイソレータシステム

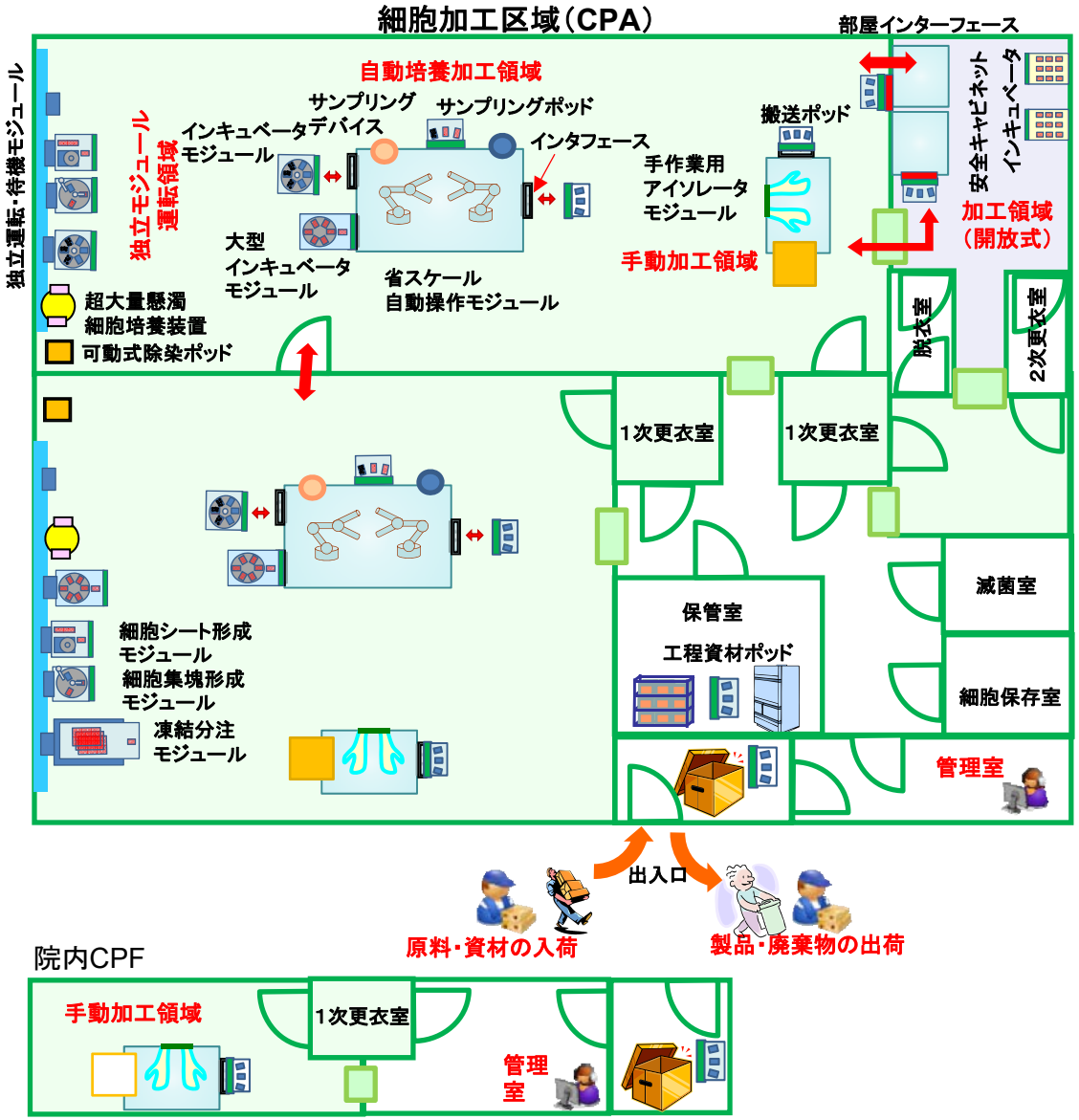
flexible Modular Platform(fMP)





本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 操作設計

フレキシブルモジュラープラットフォーム(fMP)を活用した仮想施設



開放系，アイソレータシステム，閉鎖系システムのモジュール化（柔軟にモジュールを選択し最適化できる一貫システム）

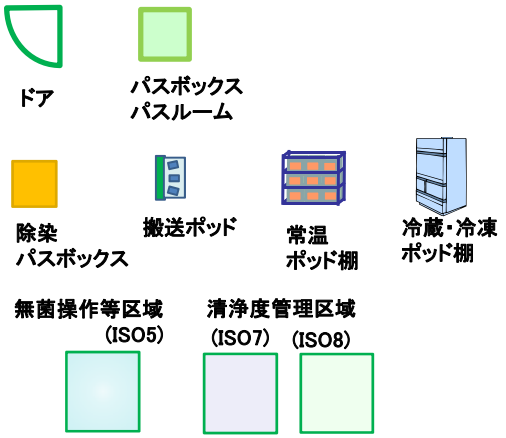
つなぐ技術（部屋や施設同士をつなぐインターフェースの活用）

無菌搬送ポッドでの搬入

シングルユースソフトポッドによる加工の柔軟性拡大

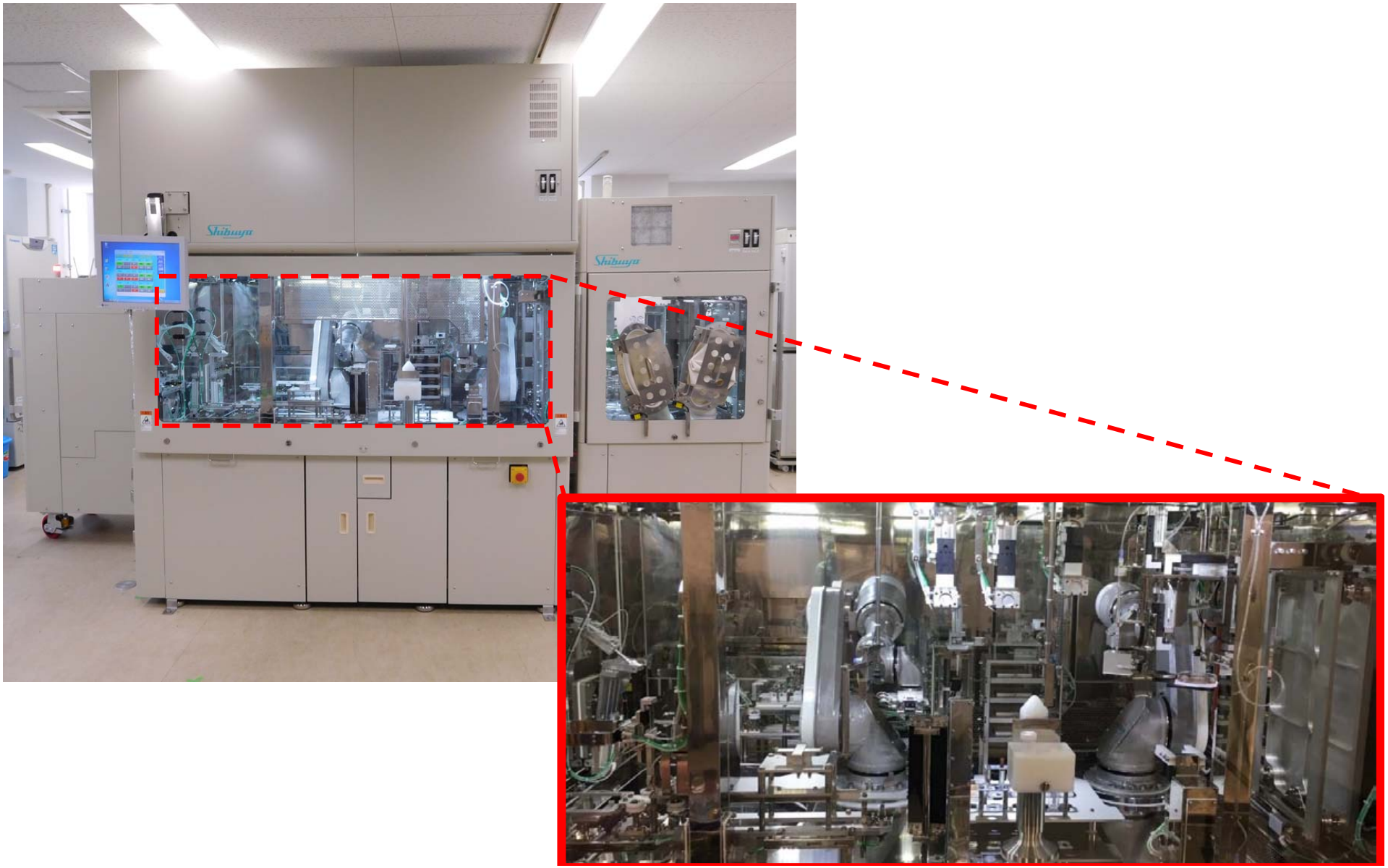
トレーサビリティーシステム

3-4人で運用



本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 操作設計

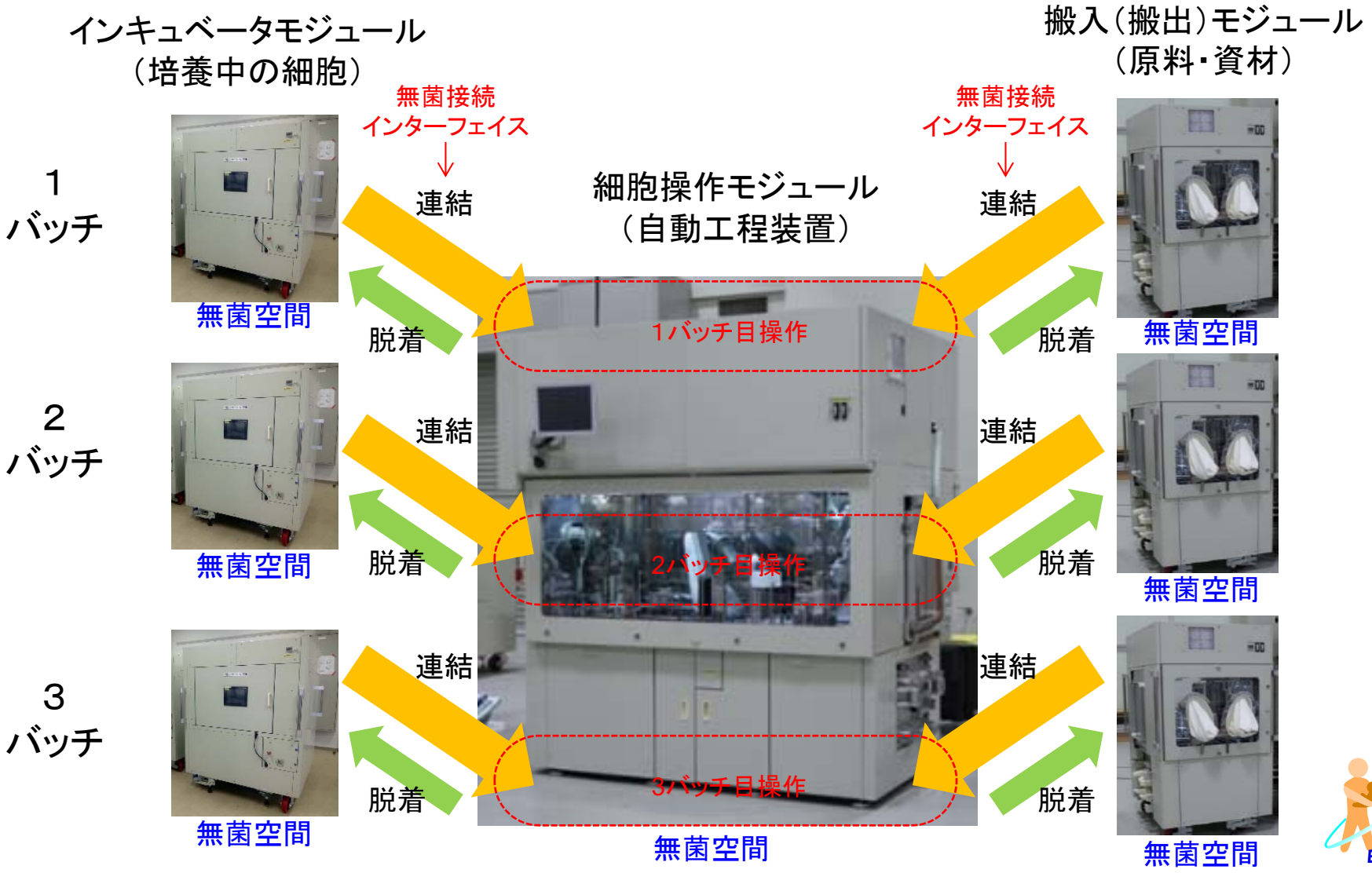
少量多品種製造の考え方



本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 操作設計

少量多品種製造の考え方

無菌空間と無菌空間を標準インターフェイスで接続し，並行生産可能⇒生産密度向上

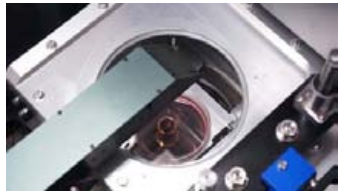


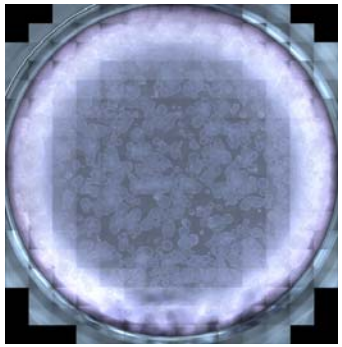
本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: デバイス

名古屋大学 Shibuya Nikon NIBIO

< ca.20 dishes

< ca.60 dishes



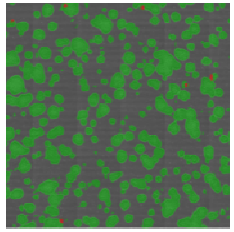


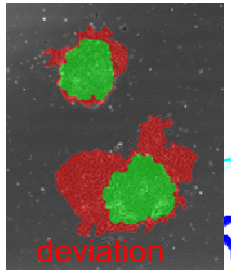
< ca.20 dishes with observation

Operator supporting system

Applicable
for manual operation system

Applicable
for observation in isolator system





本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: インターフェース

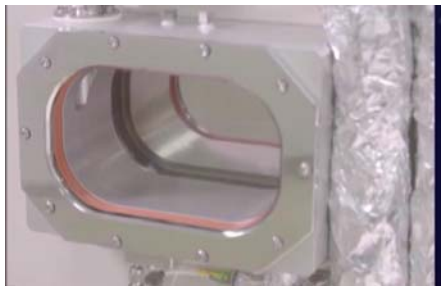
Universal interfaces

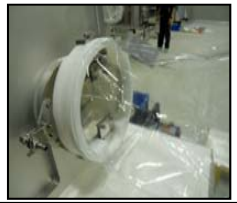
Single (large)

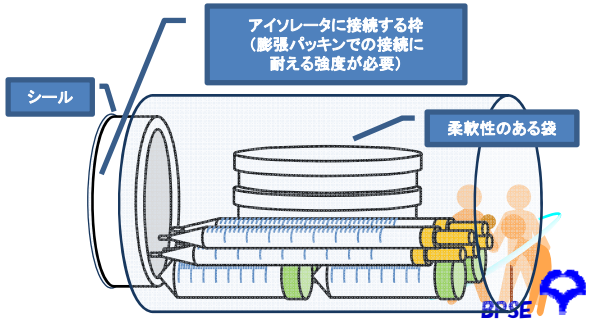
Double (large and small)

Double (large and small manual)

Single (small)







本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: サンプリング

NIHON KOHDEN

7-min sampling for 5-m distance after setting

Automated cell counter and medium analyzer (connectable to other devices directly)

Disposable tubing connector kit

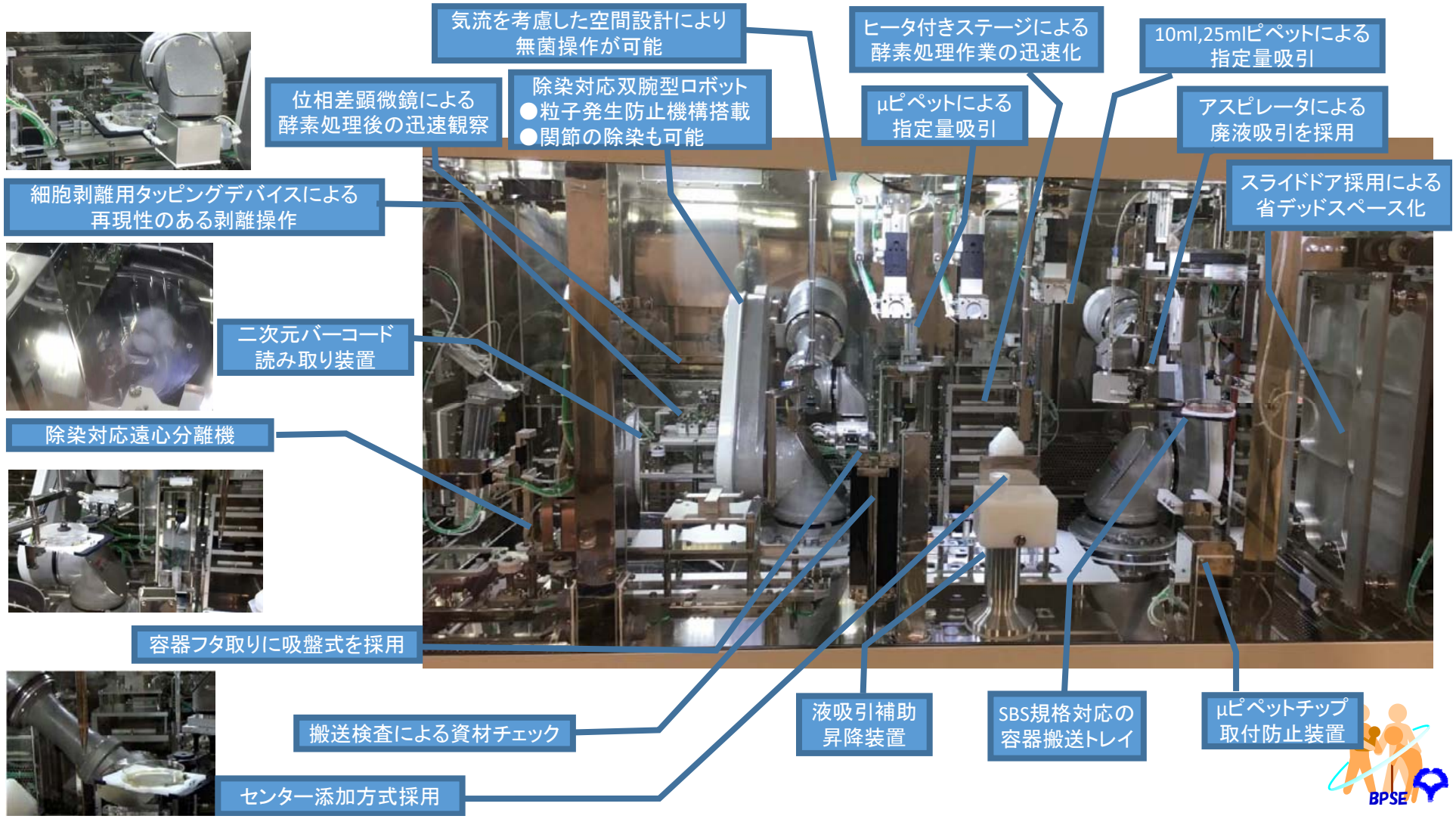
Setting in advance (no disturbance of main operation)

Sampling device by box or bag

本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 操作設計

省スペース自動操作モジュールの内部構成

自動培養装置は多種多様の工程を効率良く、安定的に培養をするために
ロボットと専用デバイスを搭載



本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 操作設計

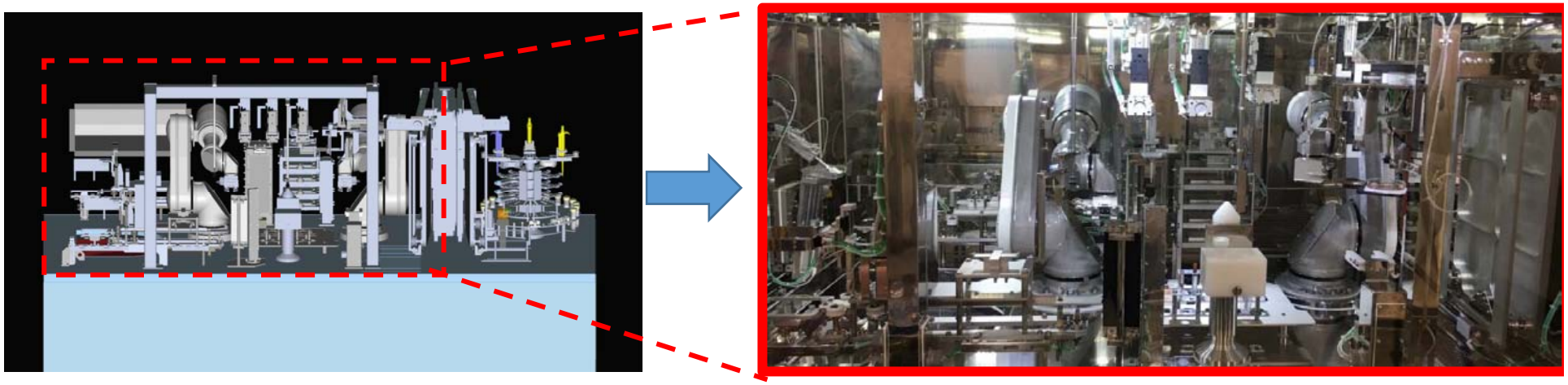
自動培養装置の工程設計におけるシミュレーションの活用

●自動培養装置の工程設計をする上での難点

1. 人手の培養作業や手順書をベースに設計するため、数値化できていない手技が設計に反映されにくい
2. 人用の培養手順をロボット用の手順に置きかえるため、人手とロボットの培養作業は厳密に同じではない

自動培養装置の動作をシミュレーションにより事前に確認する必要がある。

3次元空間モデルの具現化



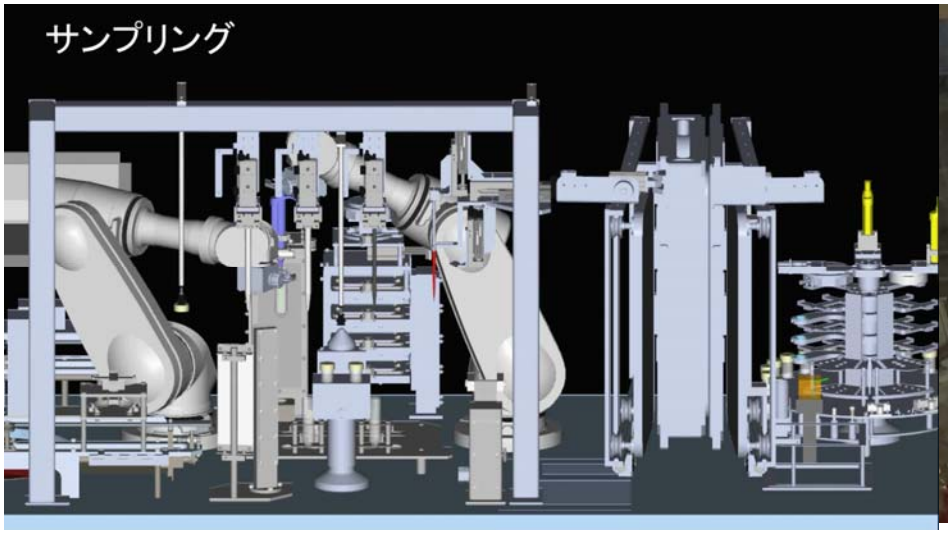
●シミュレーションによる動作確認のメリット

1. プログラムの実装前に、メーカとユーザの間で自動培養装置の動作確認ができる。
2. シミュレーションにより事前にロボットの干渉チェックができる

本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 操作設計

自動培養装置の工程設計におけるシミュレーションの活用

シミュレーションによる干渉チェックと実際の装置の動作



●シミュレーションによる動作確認のメリット

1.プログラムの実装前に、メーカとユーザの間で自動培養装置の動作確認ができる。

2.シミュレーションにより事前にロボットの干渉チェックができる

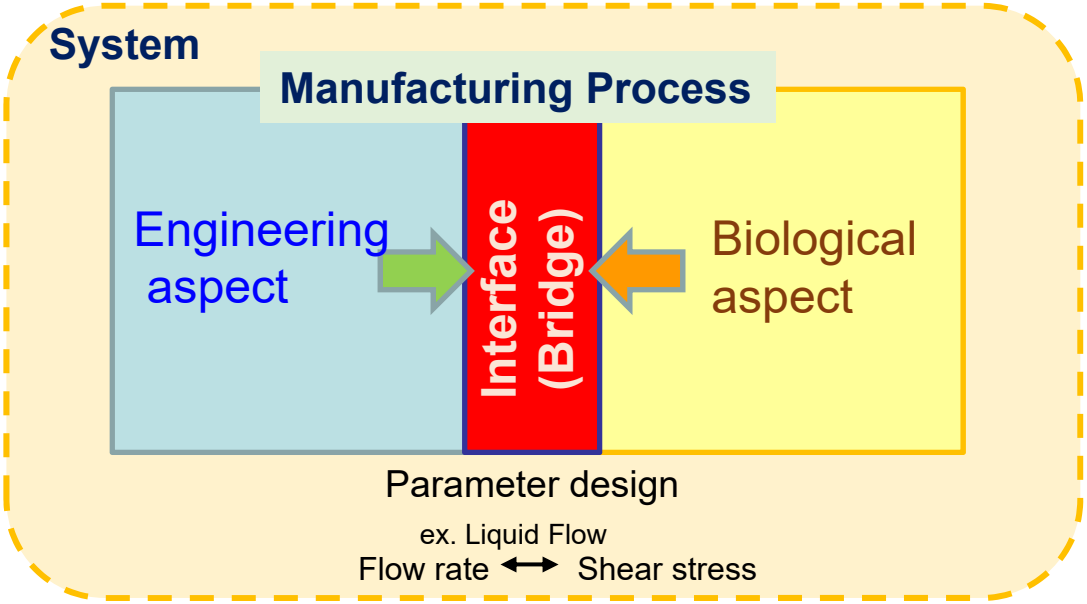
細胞製造性の重要性

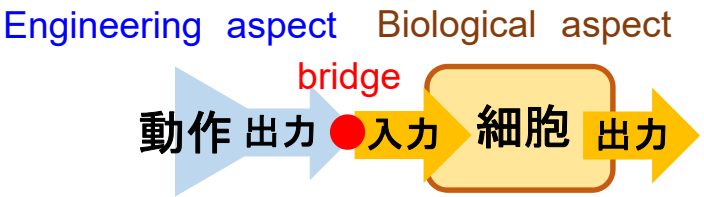
細胞製造性（Cell manufacturability）

生物的観点と工学的観点を理解し橋渡した工程による，細胞の製造に対する可能性

細胞製造性設計（Design for cell manufacturability）

顧客(患者)に対する安心と製品品質に対する安定を得つつ，製造所内外（原材料調達，搬送や病院での調製も含む）での簡易・安全・安価なプロセスにて，如何に簡単に製造するかを考える細胞製品の製造設計





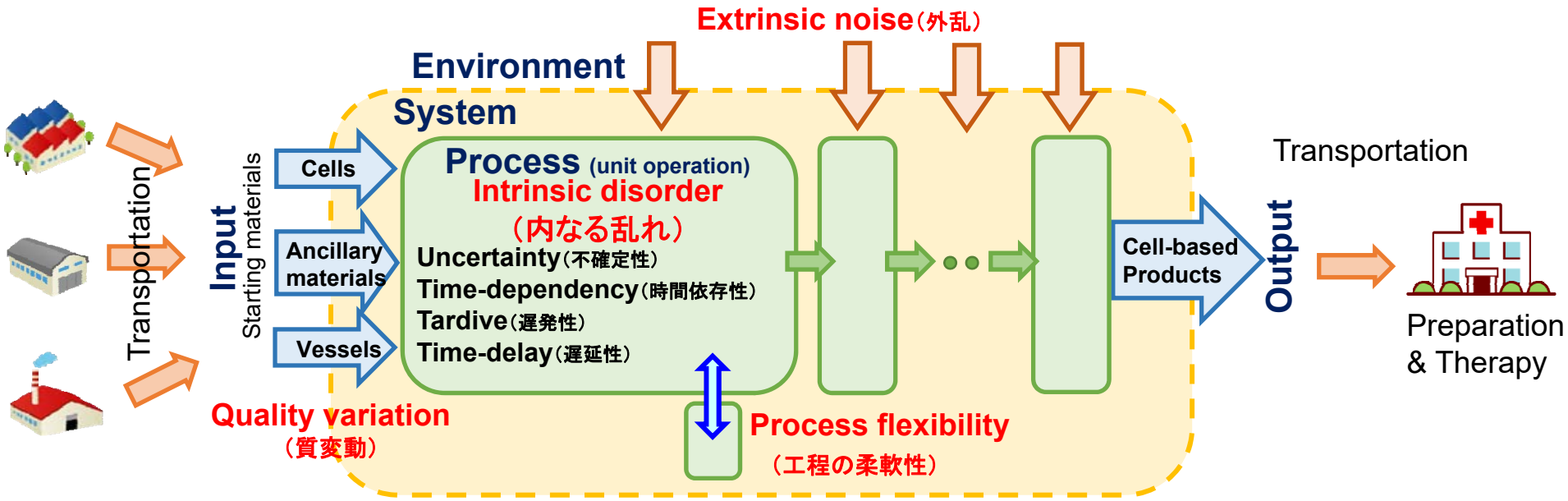
細胞応答評価系

細胞製造性の考え方

製品品質変動要因と投与・移植時の製品品質の重要性

製造における製品変動の要因　Fluctuations in manufacturing

- **外乱　Extrinsic noise** (environmental errors)
- **入力　Input** (quality variation of starting materials)
- **内なる乱れ　Intrinsic disorder** (in-process errors)
- **工程の柔軟性　Process flexibility**
  (replacement of tools and operators due to less mechanization and necessity of scale-up etc.)



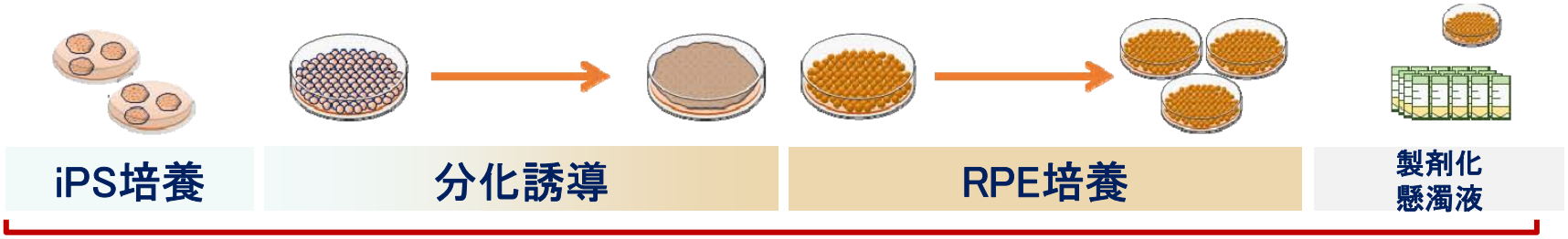
Out-stream
(transportation etc.)

Upstream
(medium preparation, cell expansion and differentiation etc.)
Downstream
(cell separation/purification, dispensing/packaging freezing etc.)

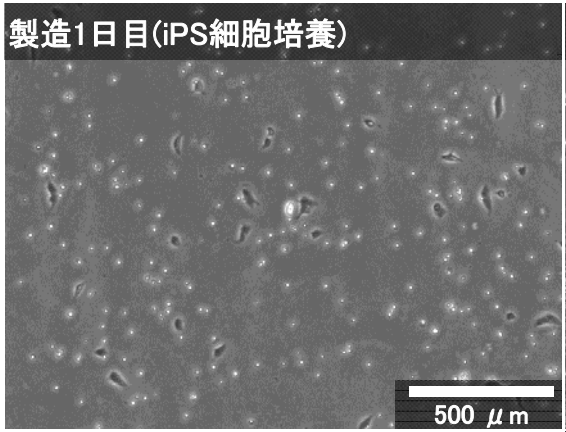
Out-stream
(transportation, thawing, washing etc.)

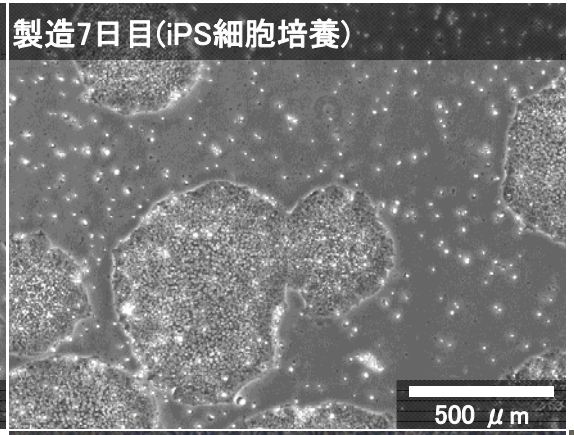
細胞製造プロセスの構築

モデルケース：iPS-RPE細胞培養（長期間連続運用）



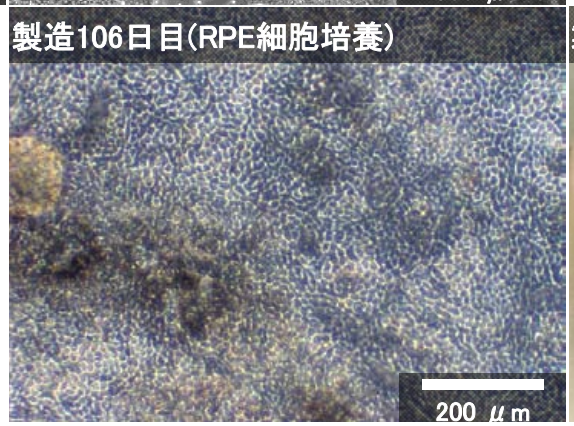
3-4ヶ月間の連続した製造運用が必要

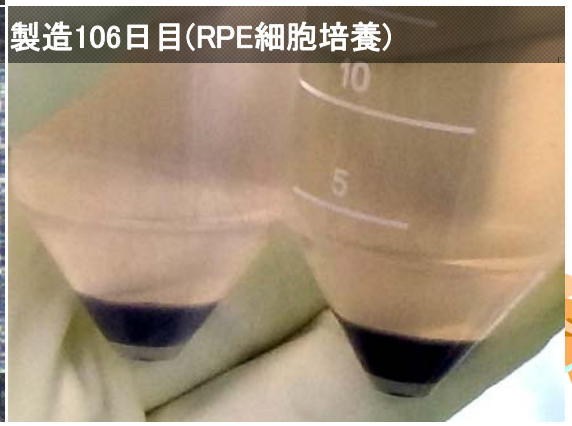




iPS細胞培養（ディッシュ5枚より回収）
回収生細胞数：ca．8×10^7 cells

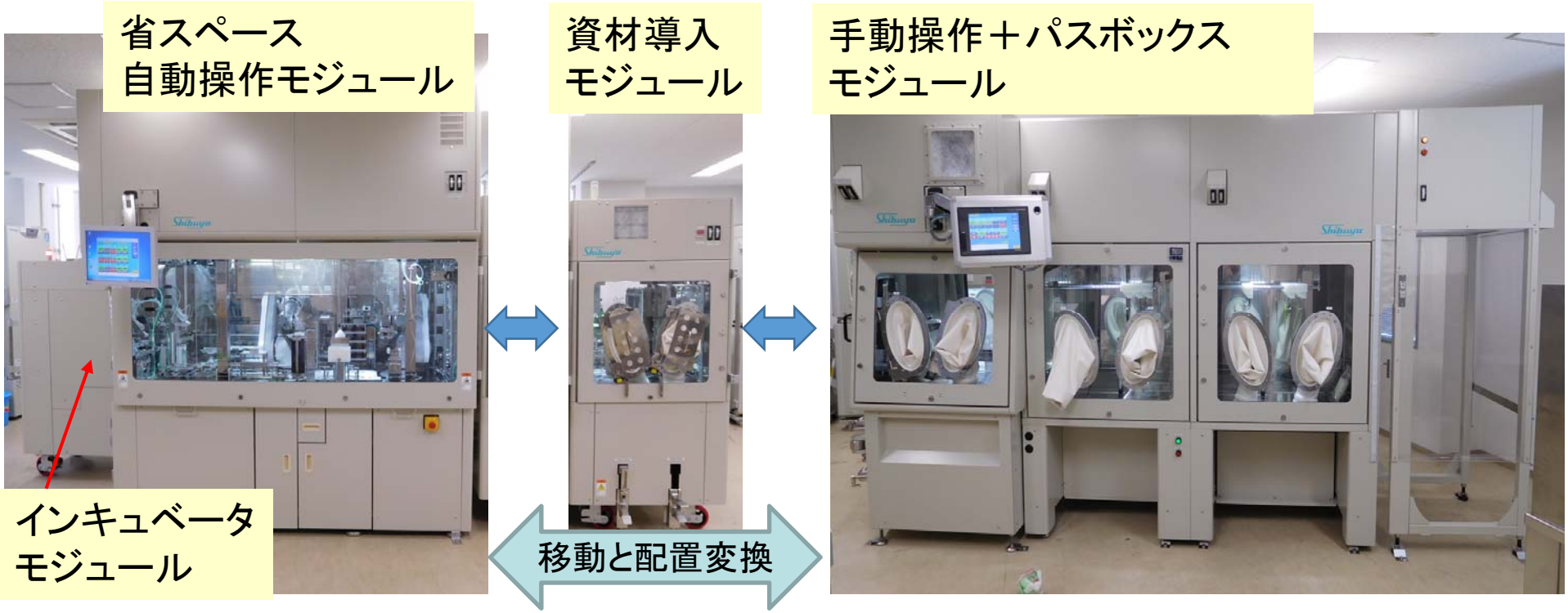
RPE細胞培養（ディッシュ5枚より回収）
回収生細胞数：ca. 4×10^8 cells





本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 操作設計

細胞製造工程における動作



機械操作
予め決められた配置（mm単位）での
単純な煩雑な操作
液サンプリング，細胞数測定，細胞播種
細胞観察，インキュベーション
培地交換，培地サンプリング
継代操作，3次元形成
分注，梱包，（凍結？）

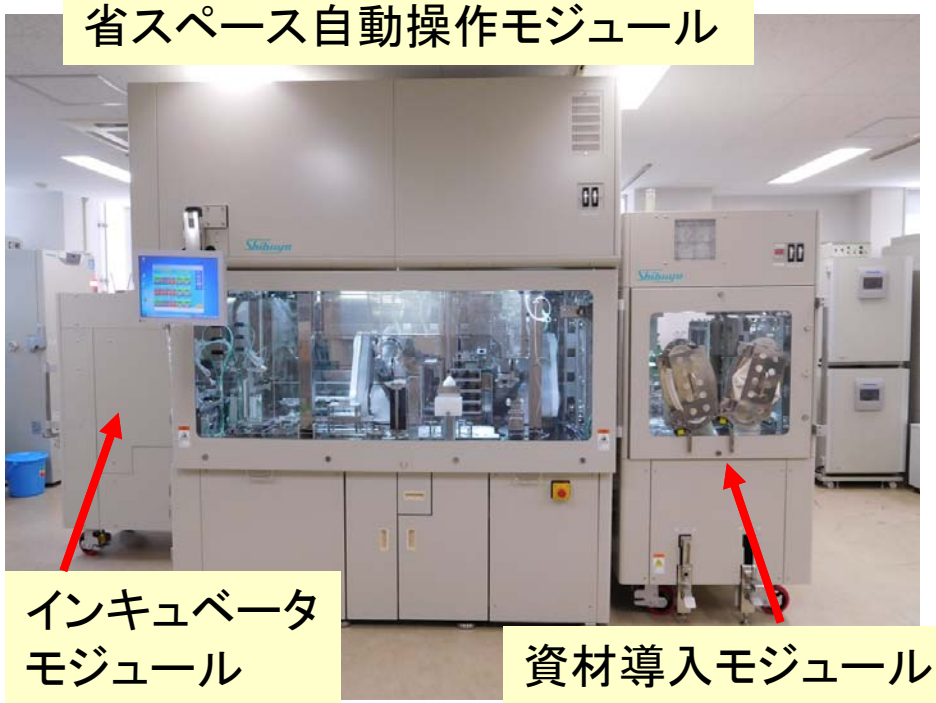
手操作
比較的柔軟な配置（cm単位）での
複雑または迅速な操作
資材導入，組織細切，細胞単離（複雑操作）
細胞解凍（迅速操作）

本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 動作開発法

動作キャリブレータ

動作の検証

省スペース自動操作モジュール



インキュベータ
モジュール

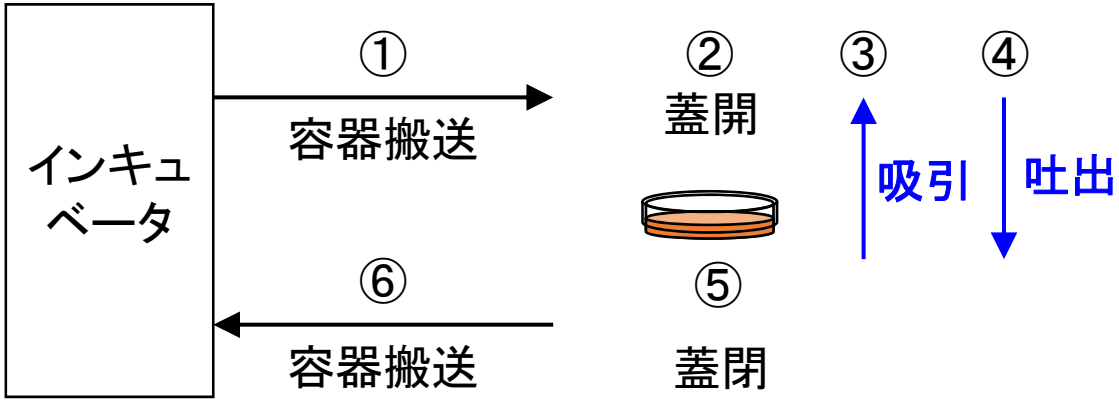
資材導入モジュール

手動操作モジュール

本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 動作開発法

動作の分類と高リスク操作のリスト化

培地交換



高リスク操作

iPS細胞の場合
③④、処理時間

分化誘導の場合
①③④⑥、処理時間

リスクに応じた動作群のパラメータ設定

容器搬送

空容器 → 飛ばない

液体入り容器 → こぼれない

細胞容器 → ？

	容器搬送の動作分類
①	空培養容器搬送
②	液体入り培養容器
③	接着細胞用培養容器搬送
④	弱接着性細胞用培養容器搬送（超低速，高リスク部分）

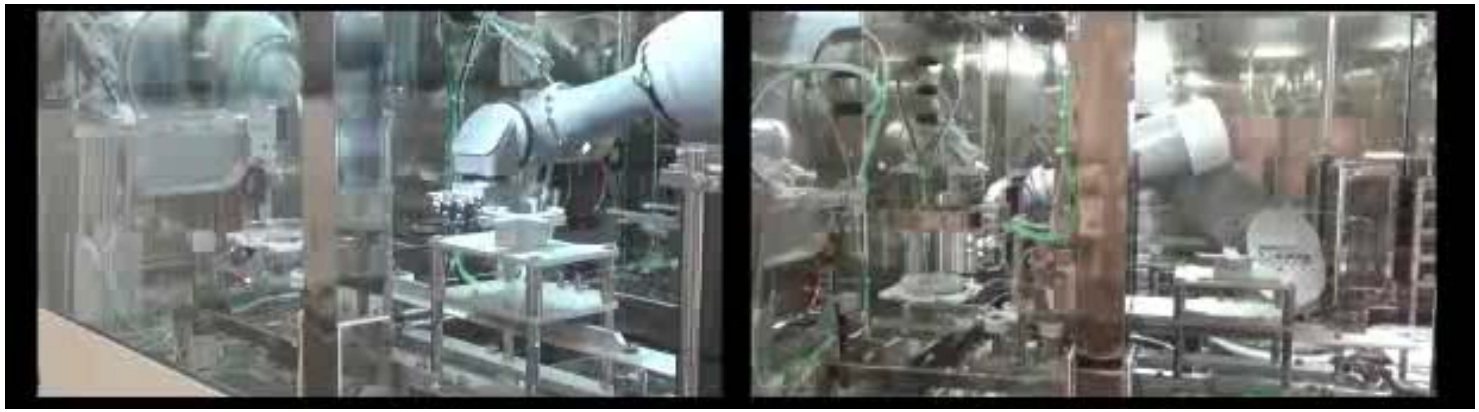
分類ごとに
加速度の調整を行う

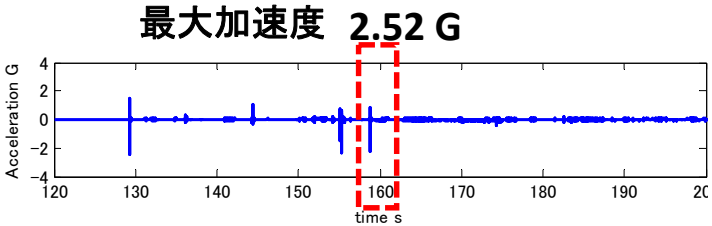
本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 動作開発法

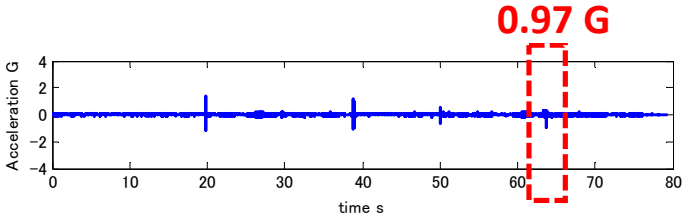
省スケール自動操作モジュール

分化誘導時の動作修正

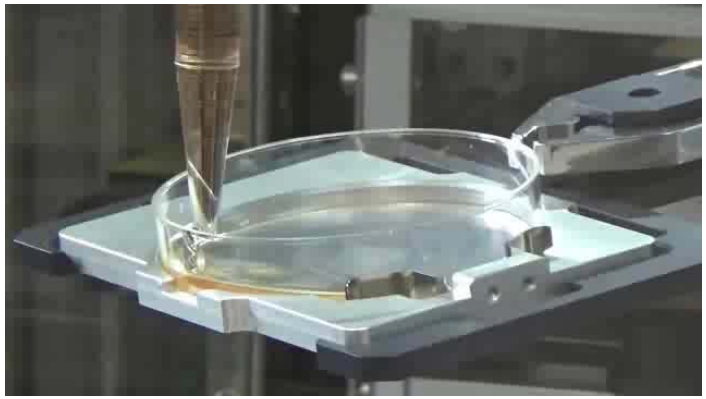
搬送時の衝撃



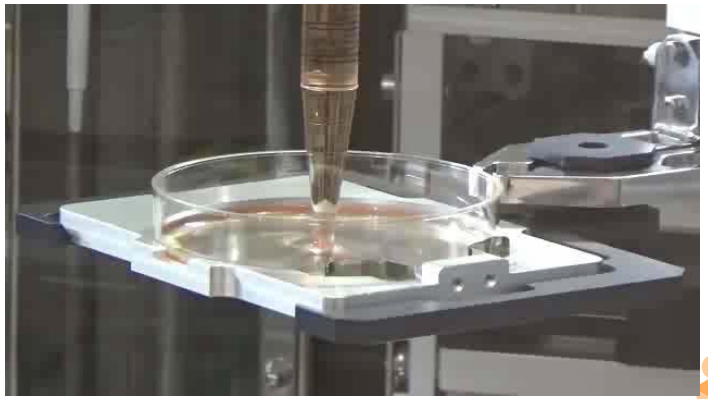




注液速度
位置



端注液



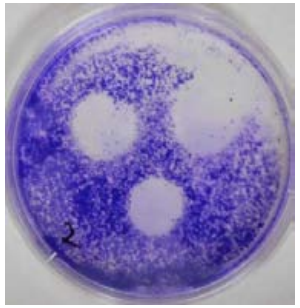
中心注液

本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 動作開発法

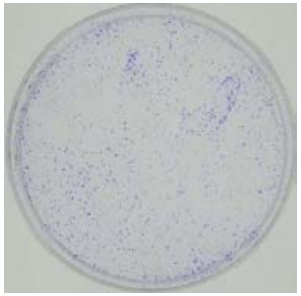
省スケール自動操作モジュール

細胞剥離手法の開発

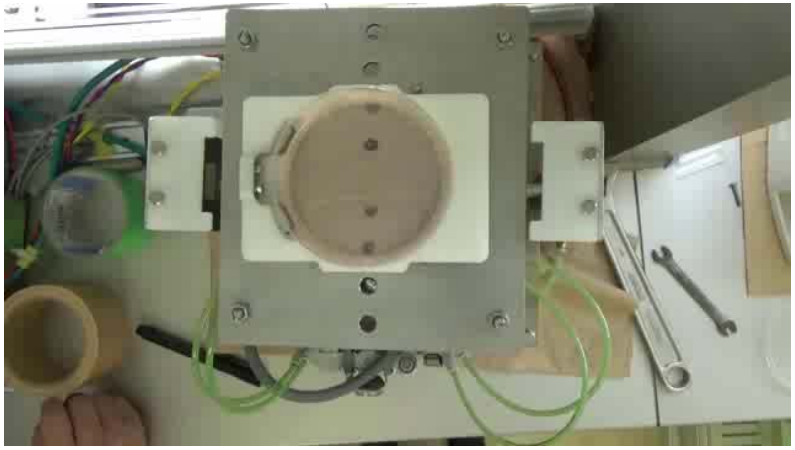
ピペッティング



タッピング

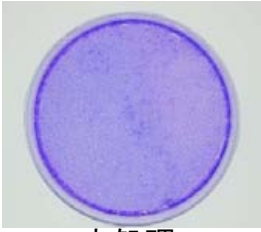


分化誘導後の剥離



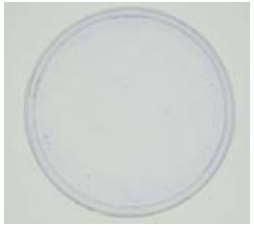
剥離後

Lonza社h-RPE細胞の剥離

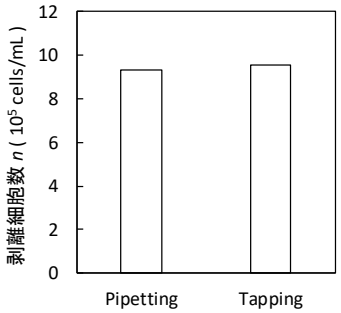


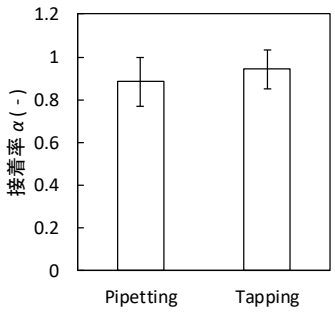
未処理

ピペッティング



剥離デバイス





本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 動作開発法

工程・操作・動作の定義

単位工程

終了時に，管理項目で評価できる一連の操作

単位操作

パラメータ群で規定できる一連の動作

単位動作

パラメータで規定できる一つの動作（1指令分）

基本工程

種々の製造で活用する同類の工程（基本操作の組み合わせは同じ）

基本操作

種々の工程で活用する同類の操作（基本動作の組み合わせは同じ）

基本動作

種々の操作で活用する同類の動作（パラメータ種は同じで，パラメータ値が同一または異なる）

工程・操作・動作の標準化：多品目生産，機械化，企業間連携，PSTの簡略

標準工程

異なる品目の生産にかかわらず活用する同一の工程（標準操作・動作のみからなり，かつ組み合わせが同じ）

標準操作

異なる品目の生産にかかわらず活用する同一の操作（標準動作のみからなり，かつ組み合わせが同じ）

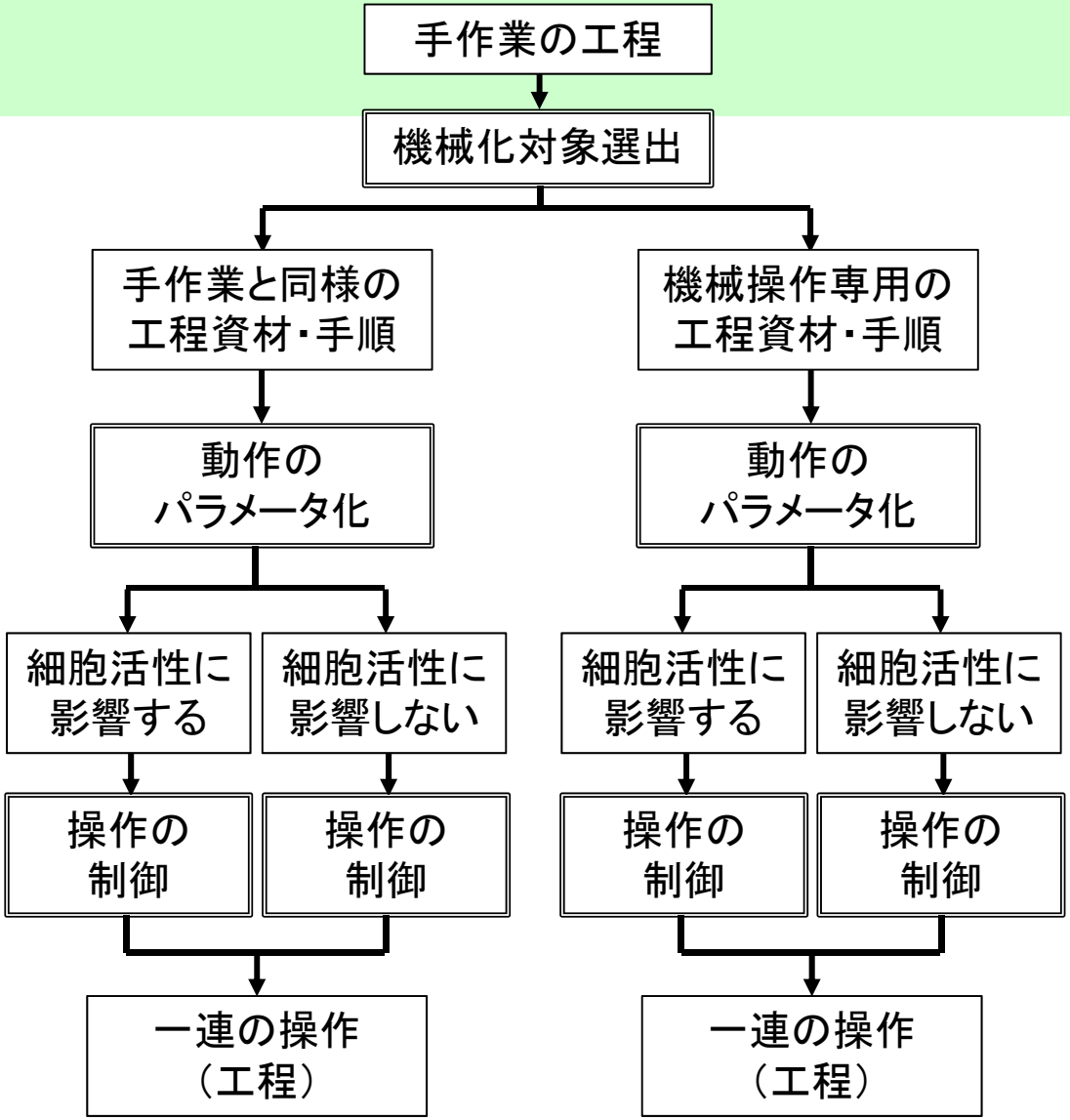
標準動作

異なる品目の生産にかかわらず同一の動作（パラメータ種は同じでかつパラメータ値が同一）

どこまで標準化できるか？→理想は，標準工程の構築
培養工程では，複雑なため標準操作の組み合わせまで？
分注・凍結工程，院内細胞洗浄工程は，標準工程？

本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 動作開発法

操作構築



- 手作業との互換性が比較的高い
- 熟練手作業のパラメータ化が煩雑
- 汎用製品からの工程資材規格決定

- 手作業との互換性確認が困難
- 機械制御パラメータで工程制御可能
- 専用工程資材の設計・規格決定

本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 文書体系

開発のアウトライン（未成熟産業の場合）
文書体系図

①（細胞を含まない）バリデーション

バリデーション実施計画書1

適格性確認(初期Ver.)

・手順書
・記録書
・報告書

代用(代行？)

納入仕様書（メーカー）

・URS
・要求仕様
・設計
・テスト
・成績

②工程設計

作業手順書(Original)

手

・解凍・播種
・継代1
・培地交換
・・・

設計検証計画書
（マスタープラン）

・手順書
・記録書
・報告書

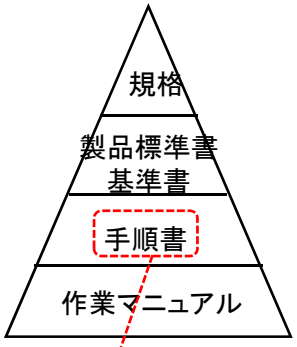
機械作業手順書

機

・解凍・播種
・継代1
・培地交換
・・・

ユーザー要求仕様
(URS)

仮



作業手順書（最終版）

・解凍・播種
・継代1
・培地交換
・・・

ユーザー要求仕様
(URS)

Final

③、④、⑤（細胞を含む）バリデーション

バリデーション実施計画書2

適格性確認(最終Ver.)

・手順書
・記録書
・報告書

プロセスバリデーション

・手順書
・記録書
・報告書

本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 文書体系

開発のアウトライン（未成熟産業の場合）

文書例：設計検証関連書類

設計検証手順書
(細胞を使用する検証)

手作業SOP
(動作手順書)

機械動作
手順書

設計検証の項目

判定指標

n_0 ： 手作業で測定した接着生細胞数(cells/mL)
n_1 ： 懸濁時生細胞数(cells/mL)
n_1' ： 回収生細胞数(cells/mL)
n_2 ： 希釈後の生細胞数(cells/mL)
n_{sv} :播種細胞数(cells/mL)
α ： 接着率(-)

評価方法

・N_M＞必要播種細胞数(参考値として N_B)
・α_M が α_B*の ±10%以内
・熟練者（ex.稲森さん）の目視および均一度による播種ムラの判定
* α_Bは開発段階で検討済
① n_1' ＞ 必要細胞数 1.4x10^{6}以上
② ϕ 100 um 以上の細胞がない
③ d ＜ ϕ 30 um 90%以上
④ α ＞ 0.6 ±S.D. (手作業)
⑤ムラの定量 ex. 2 倍以内

【結果】

Table 1

	項目	基準	結果	合否
1	回収細胞数 n_1 (cells/mL)	1.4×10^6 cells/mL 以上であること	1.91×10^6	合
2	6 well 全面観察時に懸濁細胞播種時の ϕ 100 um 以上の細胞集塊	無きこと	無	合
3	カウント時細胞集塊直径 ϕ 30 um 以下	90%以上を満たす	100	合
4	Day 1 における接着率 α (-)	0.6 以上であること		
5	ムラの定量	ex. 2 倍以内		

2

本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 文書体系

開発時・製造時のチェック項目
設計検証等

工程名	開発時 設計検証 入力	操作群	出力	細胞レベルの確認	PQ	製造時 PC 出力	QC 出力
解凍・播種 iPS細胞 (1 vial)	凍結細胞	解凍 播種	回収細胞数、 α、播種ムラ	必要	一貫工程の検証	回収細胞数 顕微鏡観察 成分分析	不要
培地交換 iPS培養時 (2 well)	接着細胞 (分布)	液交換	接着細胞の 画像差分	空運転に省略可 (5 dishがより高リスク)		log 顕微鏡観察 成分分析	不要
継代 iPS培養時 (2 well)	接着細胞	剥離 単分散処理 播種	回収細胞数、 α、播種ムラ	空運転に省略可 (5 dishがより高リスク)		回収細胞数 顕微鏡観察 成分分析	不要
培地交換 iPS培養時 (1 dish)	接着細胞 (分布)	液交換	接着細胞の 画像差分	空運転に省略可 (5 dishがより高リスク)		log 顕微鏡観察 成分分析	不要
継代 iPS培養時 (1 dish)	接着細胞	剥離 単分散処理 播種	回収細胞数、 α、播種ムラ	空運転に省略可 (5 dishがより高リスク)		回収細胞数 顕微鏡観察 成分分析	不要
培地交換 iPS培養時 (5 dish)	接着細胞 (分布)	液交換	接着細胞の 画像差分	必要		log 顕微鏡観察 成分分析	不要
継代 iPS培養時 (5 dish)	接着細胞	剥離 単分散処理 播種 処理時間	回収細胞数、 α、播種ムラ	必要		回収細胞数 顕微鏡観察 成分分析	不要
培地交換 分化誘導時 (2 dish)	接着細胞 (分布)	容 培 処					

同種の基本操作から構成される工程の設計検証では、ワーストケースのみを選び実施する

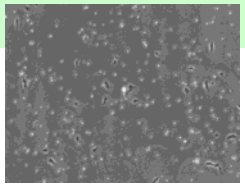
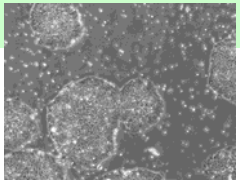
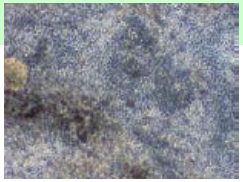
備考:PCは逸脱の確認が目的で改善ではない. 主観で判断の手本

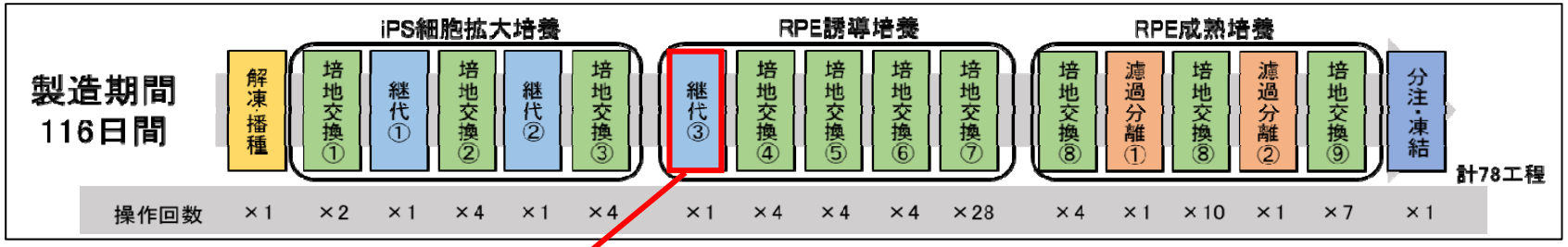
次ページへ続く

BPSE

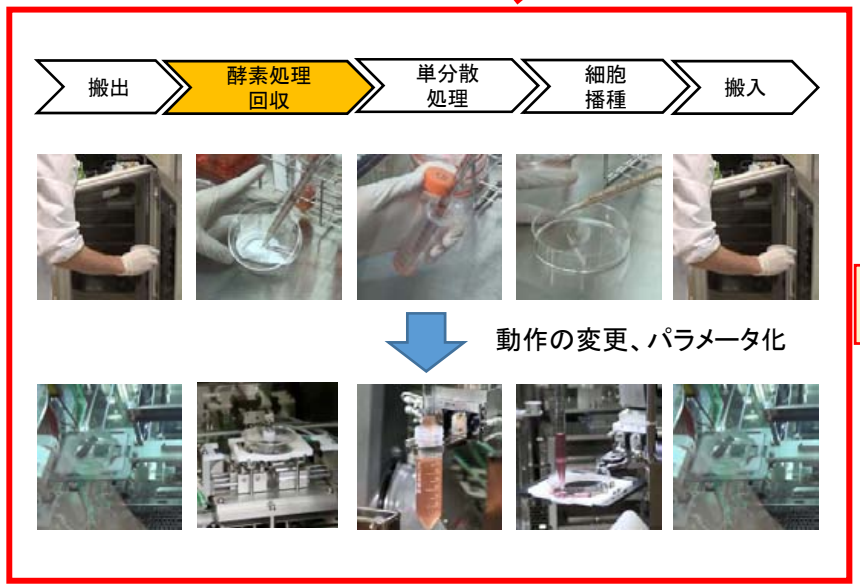
自動培養装置の動作設計

開発項目：高密度細胞播種（分化誘導時）



継代操作（高密度播種）



	Run1	Run2	Run3	Run4	Run5	Run6	成功率
手作業	×	×	×	×		×	1/6
機械作業						×	5/6

プロセスの安定性

スケールアップ (6ウェルからΦ100mmディッシュへ)

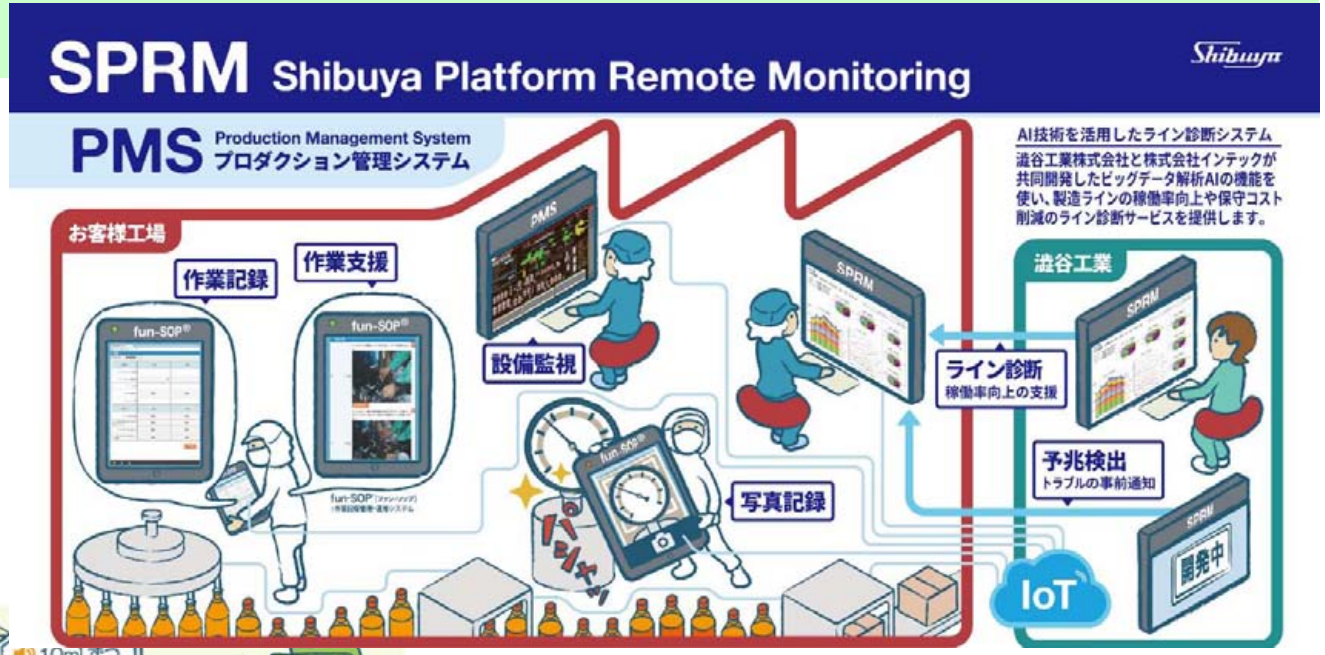
本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: スケジューラ

統合マネージメント開発

スケジューラー＋コスト計算

fMPを運用するための統合マネージメントソフトの開発

柔軟がゆえに難しい



本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 開発目標

コスト削減に向けた装置の稼働率向上に向けて

iPS細胞由来網膜色素上皮細胞製造工程

116日間

	iPS細胞拡大培養						RPE誘導培養					RPE成熟培養					
工程	解凍・播種	培地交換①	継代①	培地交換②	継代②	培地交換③	継代③	培地交換④	培地交換⑤	培地交換⑥	培地交換⑦	培地交換⑧	濾過分離①	培地交換⑧	濾過分離②	培地交換⑨	分注・凍結
操作回数	×1	×2	×1	×4	×1	×4	×1	×4	×4	×4	×28	×4	×1	×10	×1	×7	×1

計78工程

培養期間:

8時間×116日 ＝ 928時間

加工作業時間:

一体型;（搬入1時間＋操作1時間）×78工程

＝ **156時間** （占有率17%）

実質稼働率 8%！

1バッチ/台
（占有）

fMP型; 搬入1時間 ⇒ 搬出入モジュール
操作1時間 ⇒ 工程モジュール
} 並行して操作が可能

手動工程モジュール

一操作（x+y+z+i） 3.16時間×78 ＝**247時間**

3.7 バッチ/台

自動工程モジュール

一操作（x+y+z+i） 1.16時間×78 ＝**91時間**

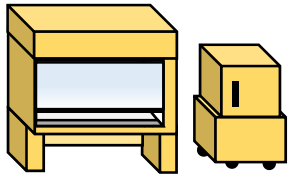
10.2 バッチ/台

工程モジュールの共有
稼働率100%へ

工程モジュールあたり10倍以上の稼働率を達成可能？

目標「コスト10分の1削減達成」におけるターゲットと戦略

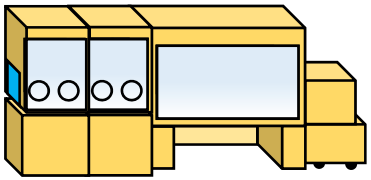
● POC戦略（1）：　従来技術の課題を解決した構造設備（ハード）の開発



（従来技術）安全キャビネット

・スループット　高い

・汚染遮断能力　低い



（従来技術）一体型アイソレータシステム

・スループット　低い

・汚染遮断能力　高い

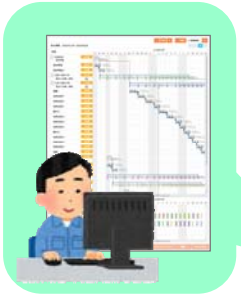
本事業
開発

両者の課題を解決

入退室時間の削減

衛生費の削減

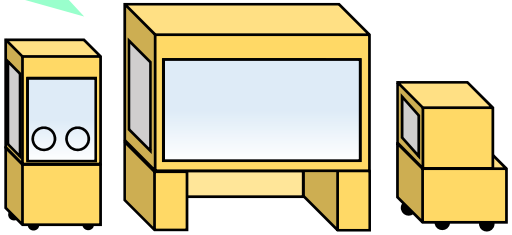
2分の1以下／工程



機械化 ／
スケジューラ

作業者数削減

熟練2名⇒非熟練1名



モジュール方式を採用した
アイソレータシステム

設備投資／維持費削減

10倍以上の稼働率を達成する能力

主設備数10分の1，設置場所面積2分の1以下

目標「コスト10分の1削減達成」におけるターゲットと戦略

● POC戦略（2）：　細胞加工工程の稼働率を向上する運用（ソフト）の開発

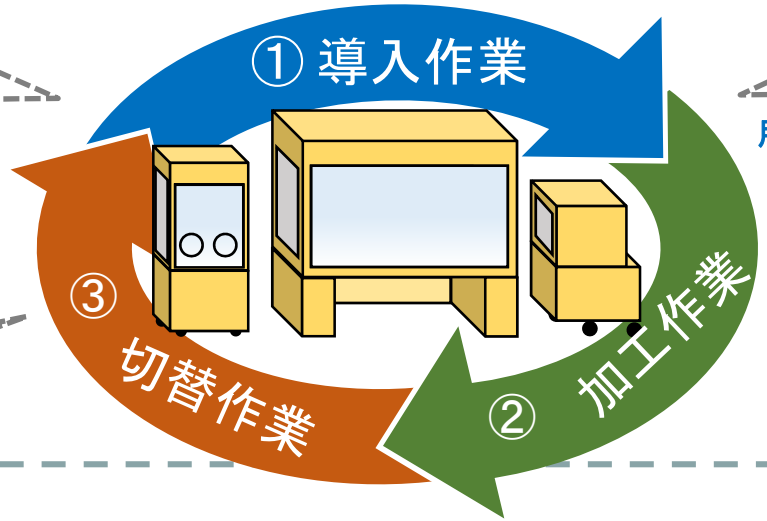
主工程 ＝ 細胞操作を行う一連の作業

● 無菌インターフェイス

● 資材キット＆搬入ポッド

10分で
接続

● 機械化
清浄化時間をカット



用事調製
不要

● 1×コーティング剤

細胞加工の工数を
20～30%削減可能

Ave. 1.3 hr ⇒ 1.0 hr

1作業

入室時間

アイソレータ化で
達成済み

主工程時間

導入作業 → 細胞加工作業 → 切替作業

退室時間

アイソレータ化で
達成済み

開発成果

短縮

導入作業 → 細胞加工作業 → 切替作業

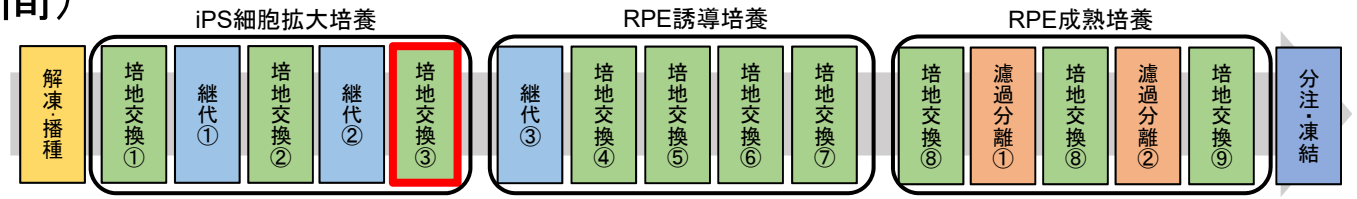
稼働率の向上 ⟺ スループットの向上 ⟺ 直接労務費の削減

BPSE

製造に必要な工数の試算（製造システムを占有する時間）

（一工程の設備使用時間）

本事業の工程：計96工程
（117日間）



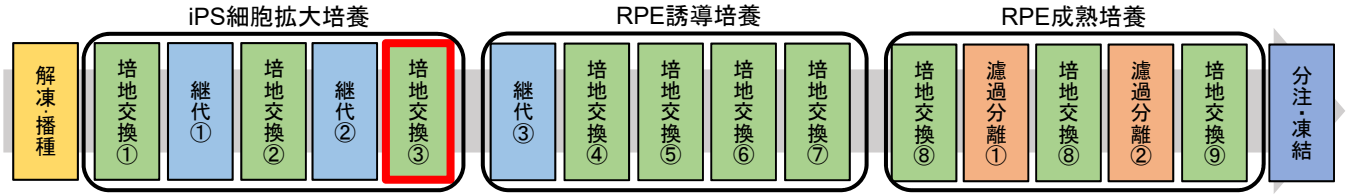
例：培地交換②

パターン	工数（h）					総工数（h）
	入室	主工程			退室	
		導入作業	細胞加工作業	切替作業		
A. 手作業（従来）＋安全キャビネット	0.4	0.4	1.0	0.6	0.4	2.8
B. 手作業（fMP）＋アイソレータ	0.1	0.4	1.0	1.2	0.1	2.8
C. 機械＋安全キャビネット	0.4	0.5	1.0	0.5	0.4	2.8
D. 機械（新fMP）＋アイソレータ	0.1	0.2	1.0	0.2	0.1	1.6

製造に必要な工数の試算（作業者が実際に従事する工数）

（一工程の労務時間）

本事業の工程：計96工程
（117日間）



例：培地交換②

パターン	人員（人）	工数（h） 入室	主工程 導入作業	主工程 細胞加工作業	主工程 切替作業	退室	総工数（h）
A. 手作業（従来）＋安全キャビネット	熟練 2	0.4	0.4	1.0	0.6	0.4	5.6
B. 手作業（fMP）＋アイソレータ	熟練 2	0.1	0.4	1.0	1.2	0.1	5.6
C. 機械＋安全キャビネット	非熟練 1	0.4	0.5	1.0	0.5	0.4	2.8
D. 機械（新fMP）＋アイソレータ	非熟練 1	0.1	0.2	0.2＊	0.2	0.1	0.8

＊ 設備の占有時間では算出しない．労務費にて，一時退出から再入室の時間を考慮した，作業者の遊休時間を除外
（安全キャビネットの設置する部屋への出入りが困難であるため他の部屋での作業が困難）

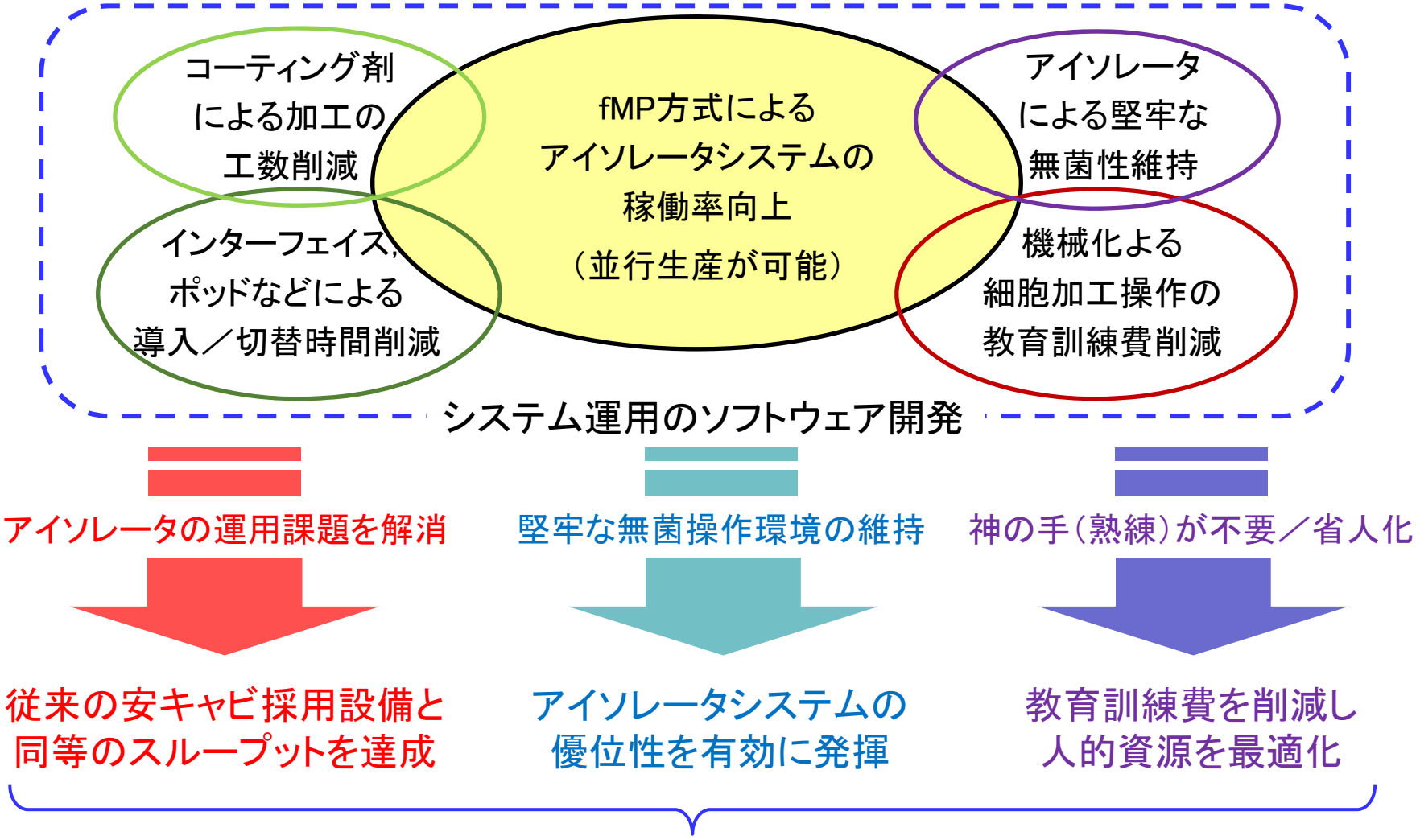
細胞加工に係る（運用）費用

（100バッチ／年の製造を行った場合における費用）

	人的資源費用（百万円）		無菌維持費用（百万円）		必要な細胞加工費（百万円）
A. （従来）手作業　＋安全キャビネット	5.6×96×100／1152 ×16.67 777.9	＋	0.02×96×2×100 384.0	＝	1161.9
B. （fMP）手作業・アイソレータ	5.6×96×100／1152 ×16.67 777.9	＋	0.004×96×2×100 76.8	＝	854.7
C.機械　＋安全キャビネット	2.8×96×100／1152 ×6.12 142.8	＋	0.02×96×1×100 192.0	＝	334.8
D. （新fMP）機械　＋アイソレータ	0.8×96×100／1152 ×6.12 40.8	＋	0.004×96×1×100 38.4	＝	79.2
	19分の1		10分の1		約15分の1

目標達成

目標「コスト10分の1削減達成」におけるターゲットと戦略



特に細胞加工に係る費用の削減効果を有し，ここでコスト10分の1を達成

生産密度の改善

モノづくり

要求：製造スケールの増加（スケールアップ）または並行生産による回数増加

生産密度が低い

スケールや
製造回数が小さい

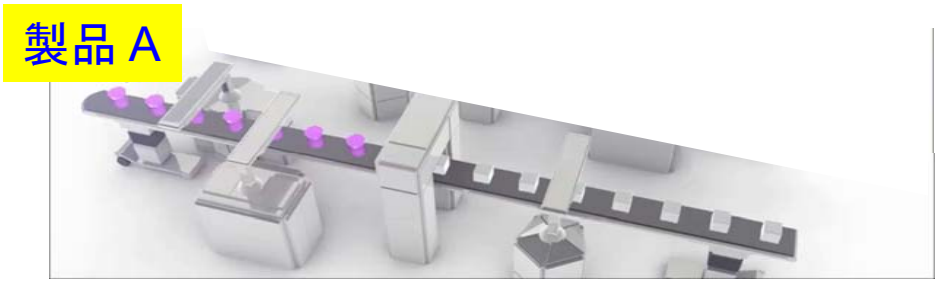
太くする

束ねる

生産密度の向上

スケールアップによる大量製造

装置統合による並行生産



生産回数は少ないが大スケール

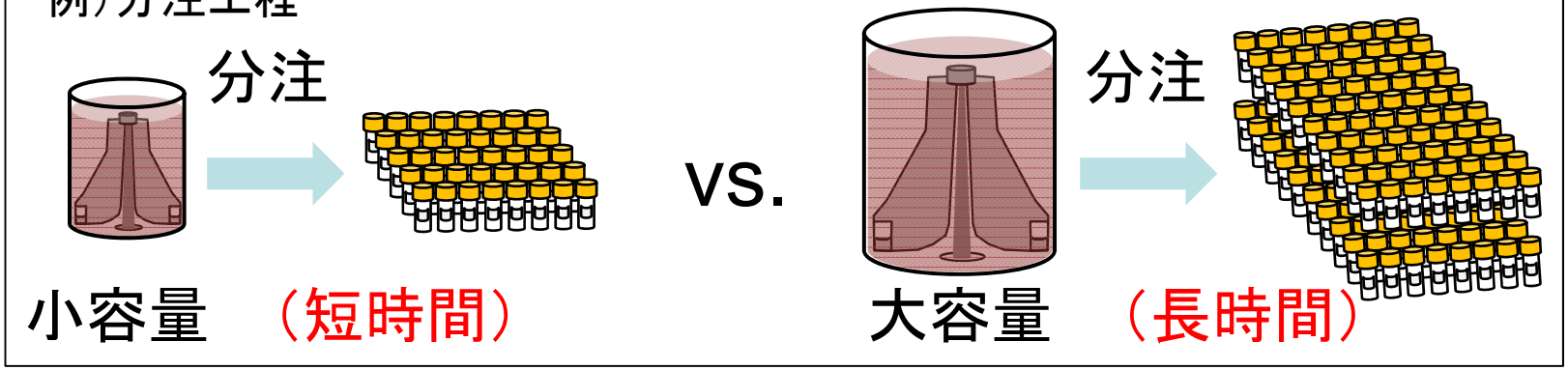
小スケールだが多品目並行生産
（製造回数増）

本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 大量処理

大量に処理することへの対応　　地味ですが，なかなか難しい技術

生きた細胞製品とすることを考慮した技術開発が求められる

例）分注工程



生きた細胞を扱う上では、必ずしも同じ（均一）にはならない

$$\frac{\text{1本当りの懸濁液量}}{\text{射出速度}} \times \text{バイアル本数} = \underline{\text{製造（バッチ）スケール}} \leqq \text{細胞の活性維持可能時間}$$

線速度により細胞が受けるダメージリスク

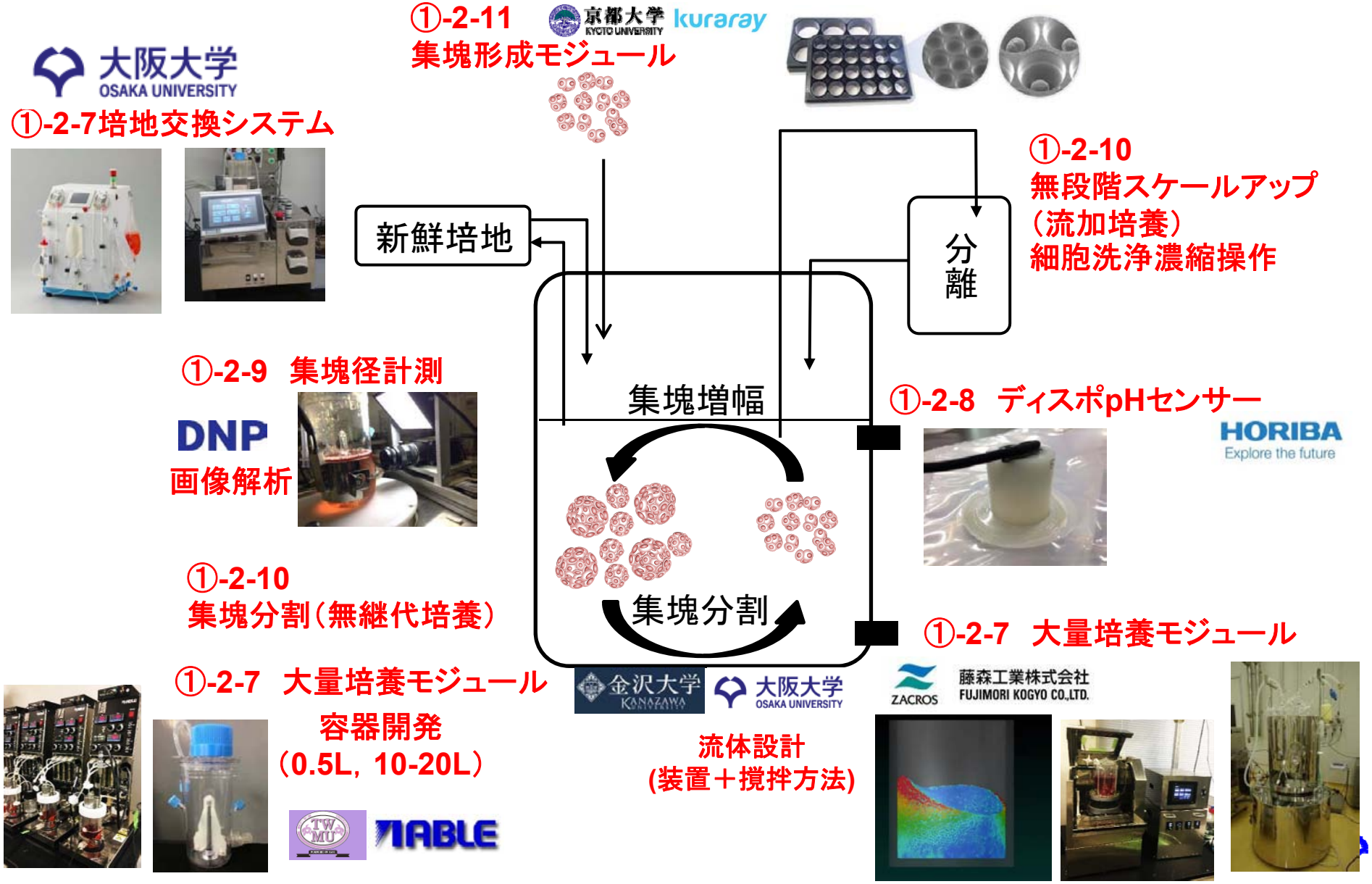
時間差により細胞の質が変化するリスク

保存液との混合により細胞が影響を受けない時間範囲にて設定可能

医薬品とは異なる、小ロットスケール製造の可能性

本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 大量処理

懸濁培養システム　シングルユース懸濁培養装置に各項で開発される要素技術を統合



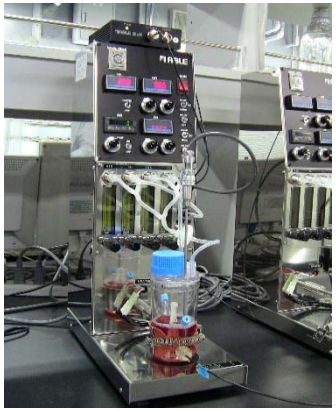
ヒトiPS未分化維持大量培養の効率化に関する研究

細胞増幅ユニット（懸濁培養装置の利用）

汎用コピー機がほしい

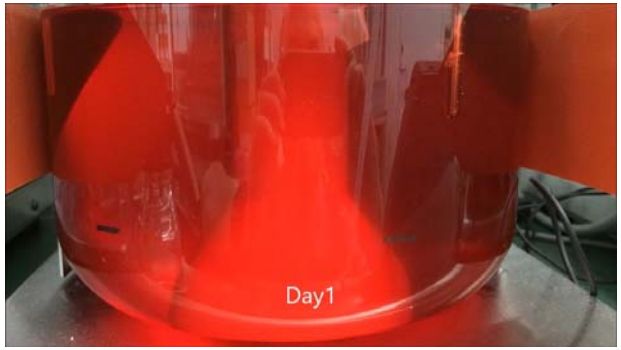
高速コピー機がほしい

100 mL



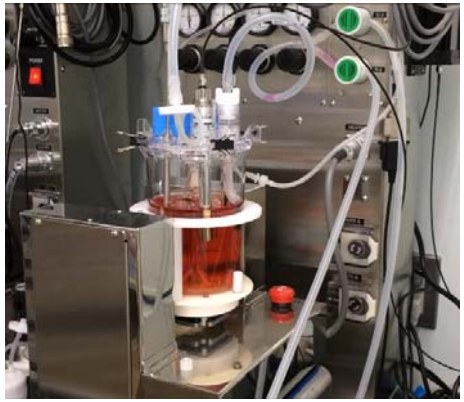
5 L

種々の撹拌方法

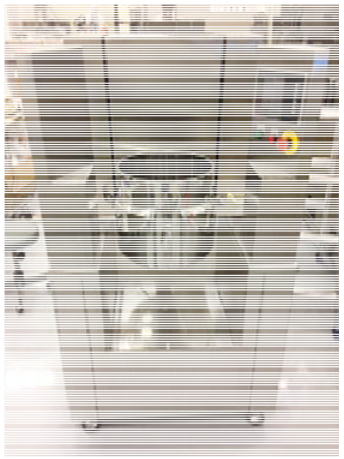


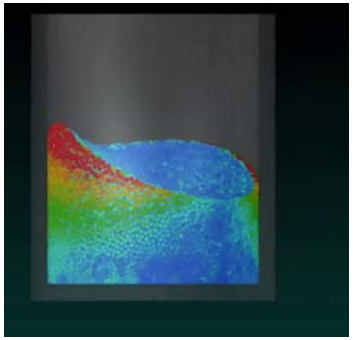
1L

培地交換装置（沈降方式）



20 L





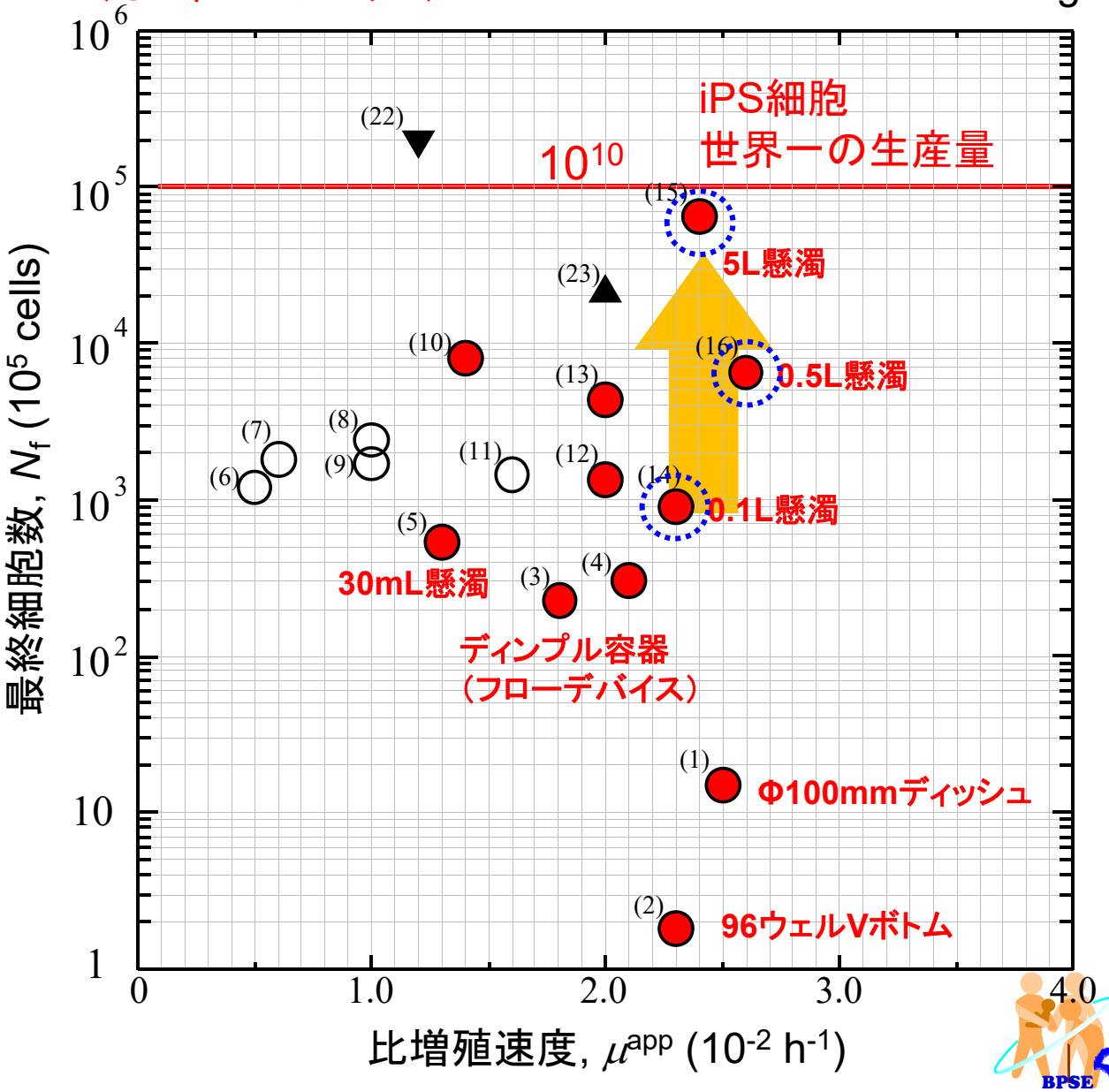
流体計算

本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 大量処理

高増殖・大量培養への対応

○:iPS（●:本プロジェクト）　♦:CHO　▼:HEK293E　▲:Meg01

高増殖速度を維持
したまま大量培養

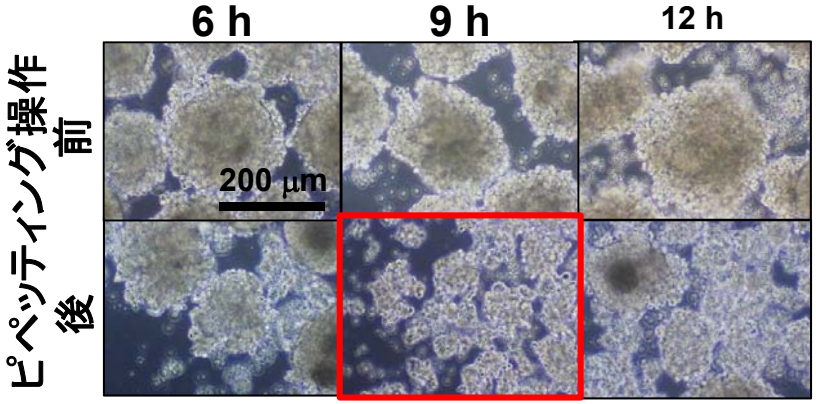


本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 大量処理

大阪大学 OSAKA UNIVERSITY
金沢大学 KANAZAWA UNIVERSITY

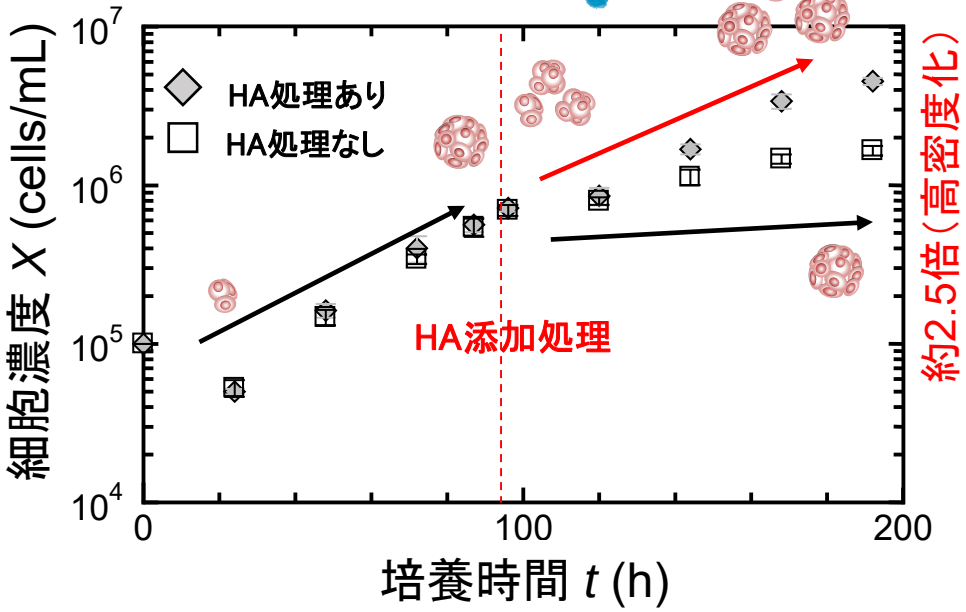
***Botulinum*由来Hemagglutinin**
（大腸菌組み換えタンパク）

ハサミがほしい



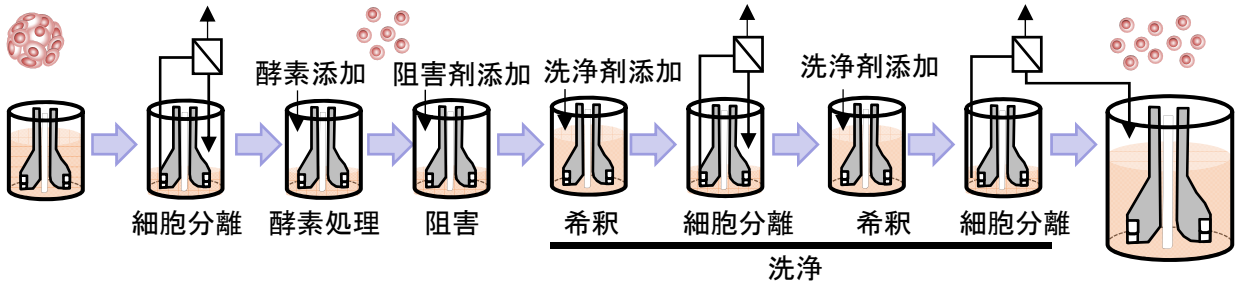
HA添加による細胞崩壊の時間依存性
（洗浄せずとも効果がなくなる）

HA-B 10 nM

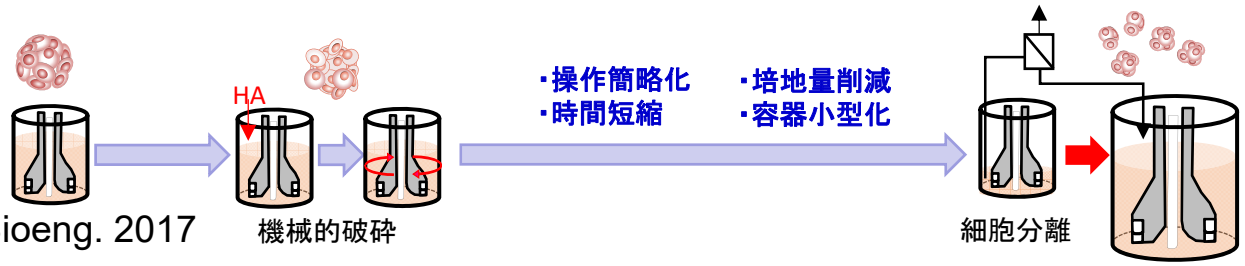


継代操作への展開

酵素処理による継代プロセス（従来法，酵素除去プロセス含）



HA処理による無洗浄集塊分割プロセス



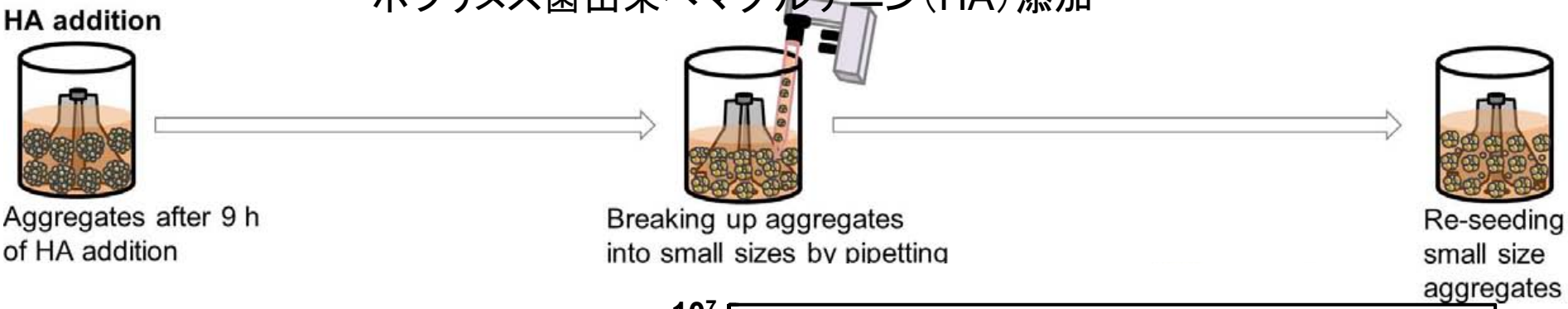
Nath et. al. Biotechnol Bioeng. 2017

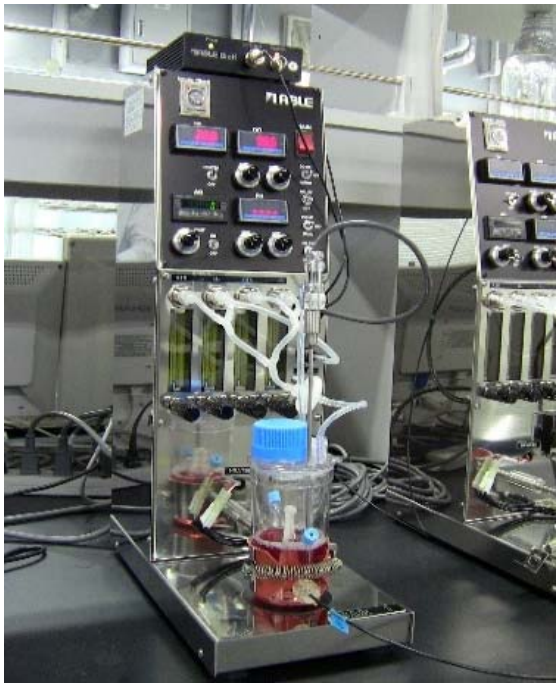
BPSE

本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 大量処理

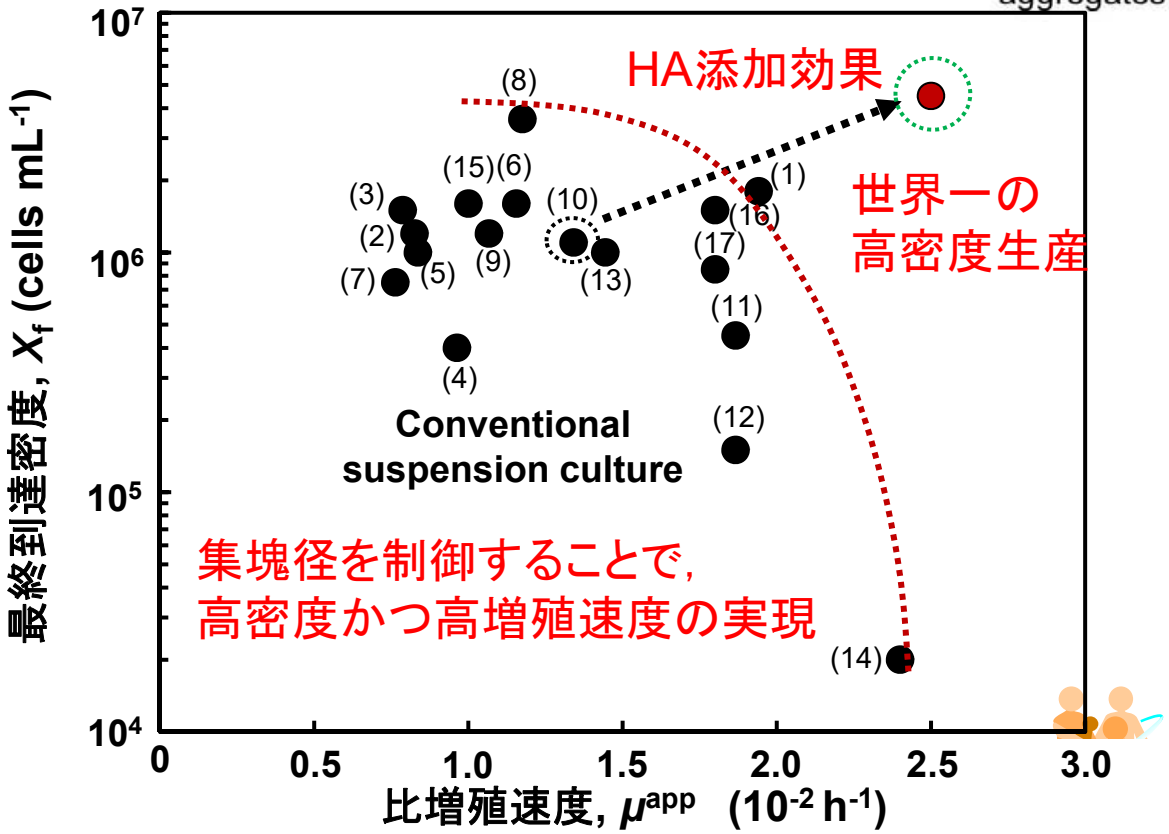
高密度・高増殖速度に向けた取り組み

ボツリヌス菌由来ヘマグルチニン（HA）添加





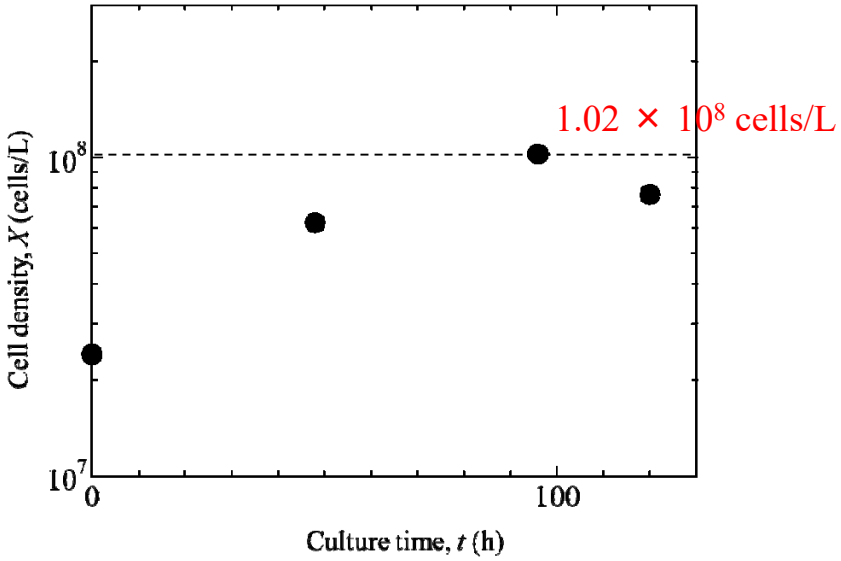
Nath et. al. Biotechnol Bioeng. 2017

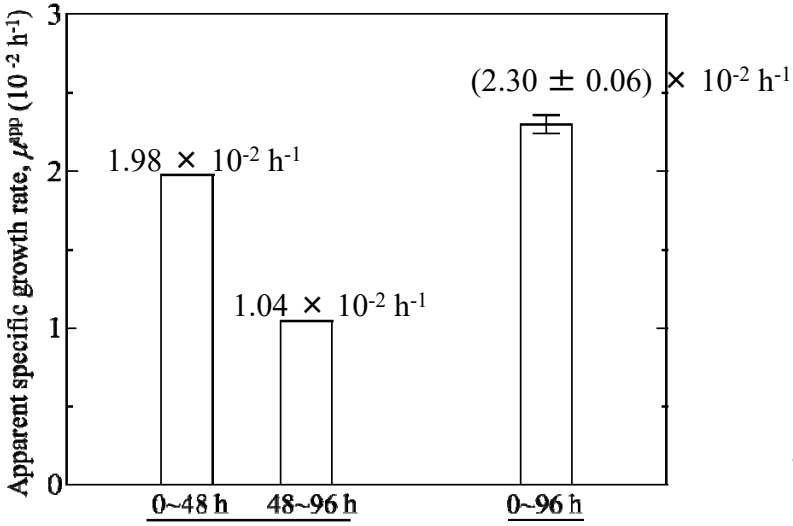


本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 超大量培養

塑性流体を用いた流動制御による培養系の構築

ZACROS 藤森工業株式会社 FUJIMORI KOGYO CO.,LTD.

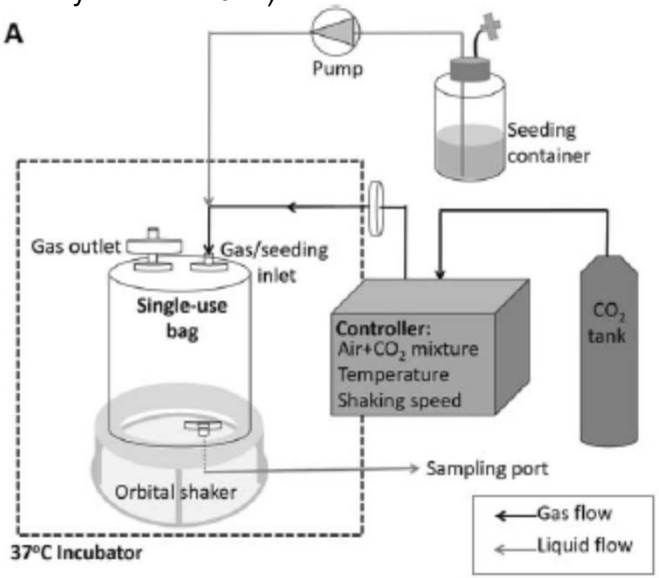




新規
間欠振とう懸濁培養（1L）

従来
懸濁培養（30mL）

1 L振とう培養装置 (藤森工業)
(R. Nurhayati et. Al 2017)



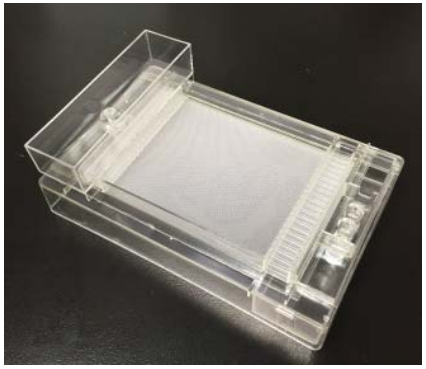
同一機構で
10 Lを実施中

将来は
2000 Lまで

本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 大量処理

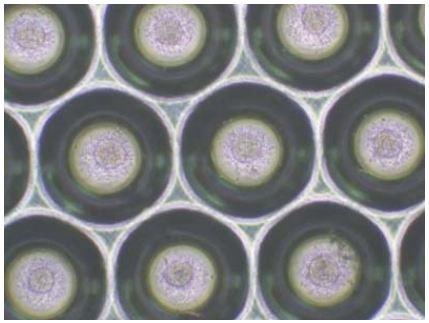
静置集塊培養における高密度・高倍率に向けた取り組み

kuraray

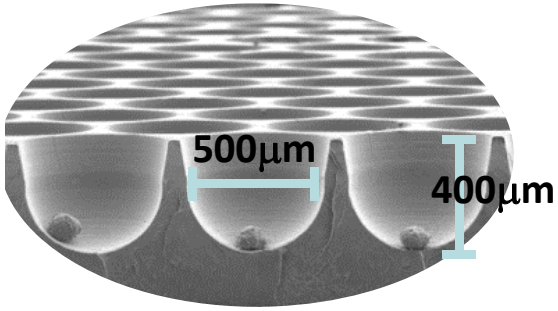


培地量; 8.4mL/vessel

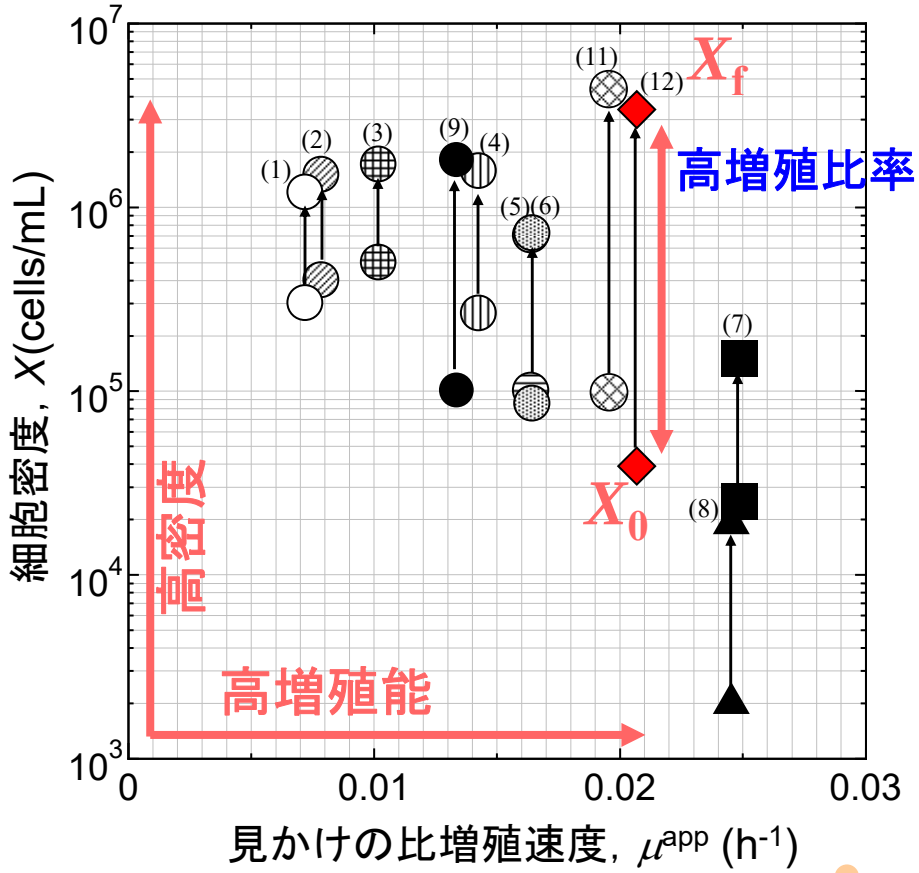
高頻度で培地交換を行うことで
高密度培養可能



初期播種密度
25 cells/dimple
（5X10^3 cells/mL）から
増殖可能



(1)-(5), (9), (11): Stirred bioreactor
(6): Bag culture
(7): 2D culture dish
(8): V-bottom plate
(12): Flow device



容器内の集塊数 = 1.4X10^4 aggregates/vessel
培地当たりの細胞密度 = 3.4X10^6 cells/mL（懸濁培養より高い）
容器1個での細胞数 = 2.9X10^7 cells（容器35個で10^9 cells）

一度の培養で87倍増幅可能
（容器を変えなくてよい，継代不要）

BPSE

本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 大量処理

大量に処理することへの対応

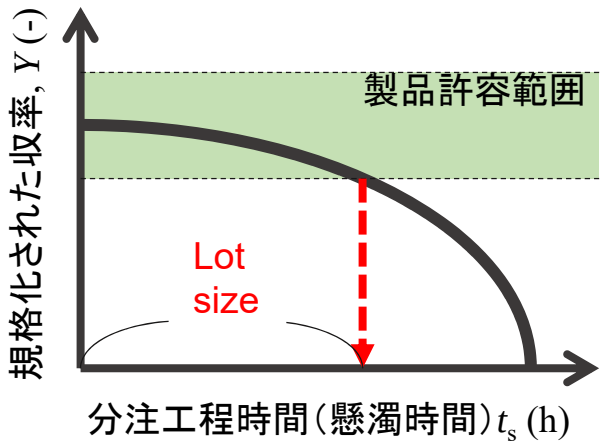
単細胞での浮遊時の生存率変化（時間依存性，遅発性）　**内なる乱れ由来**

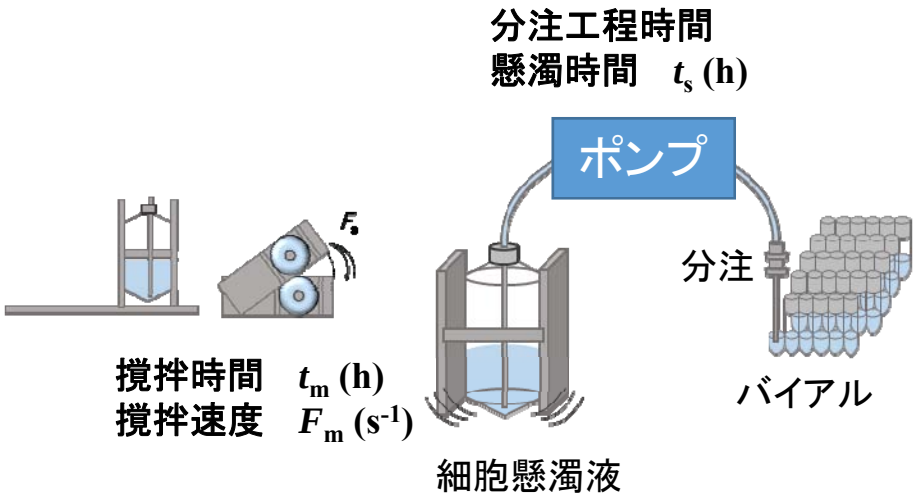
懸濁細胞の分注工程での考え方

ロット形成：同一バッチでの製品(バイアル)間で，
一定量・一定密度，一定細胞能力で分注できる
・充填液量の安定
・充填細胞濃度の安定
・充填細胞品質（増殖能）の安定

分注工程時間（細胞分散から凍結まで）依存
→細胞死滅（アポトーシス）

懸濁液の均一分散維持；撹拌→物理的ストレス





本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 大量処理

大量に処理することへの対応

単細胞での浮遊時の生存率変化（時間依存性，遅発性）

懸濁細胞の分注工程での考え方

内なる乱れ由来

種々の入力変数

懸濁時間　t_s (h)
撹拌時間　t_m (h)
撹拌速度　F_m (s^{-1})

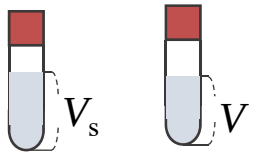
種々の入力変数に対する評価指標の作成が重要

製品内の細胞収率変動を評価する
相対細胞収率　Y

$$Y\,(-) = (V/V_s)_{ts,\,tm,\,Fm} \cdot (D/D_0)_{ts,\,tm,\,Fm} \cdot (P/P_0)_{ts,\,tm,\,Fs}$$

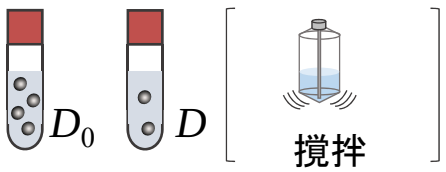
量安定性指標　　濃度安定性指標　　生存能力指標

相対充填量　(V/V_s)



V_s: 目標液分注量 (ml)
V: 分注量 (ml)

相対濃度　(D/D_0)



D_0: 初期粒子濃度（$t_s = 0$) (particles/ml)
D: 粒子濃度 (particles/ml)

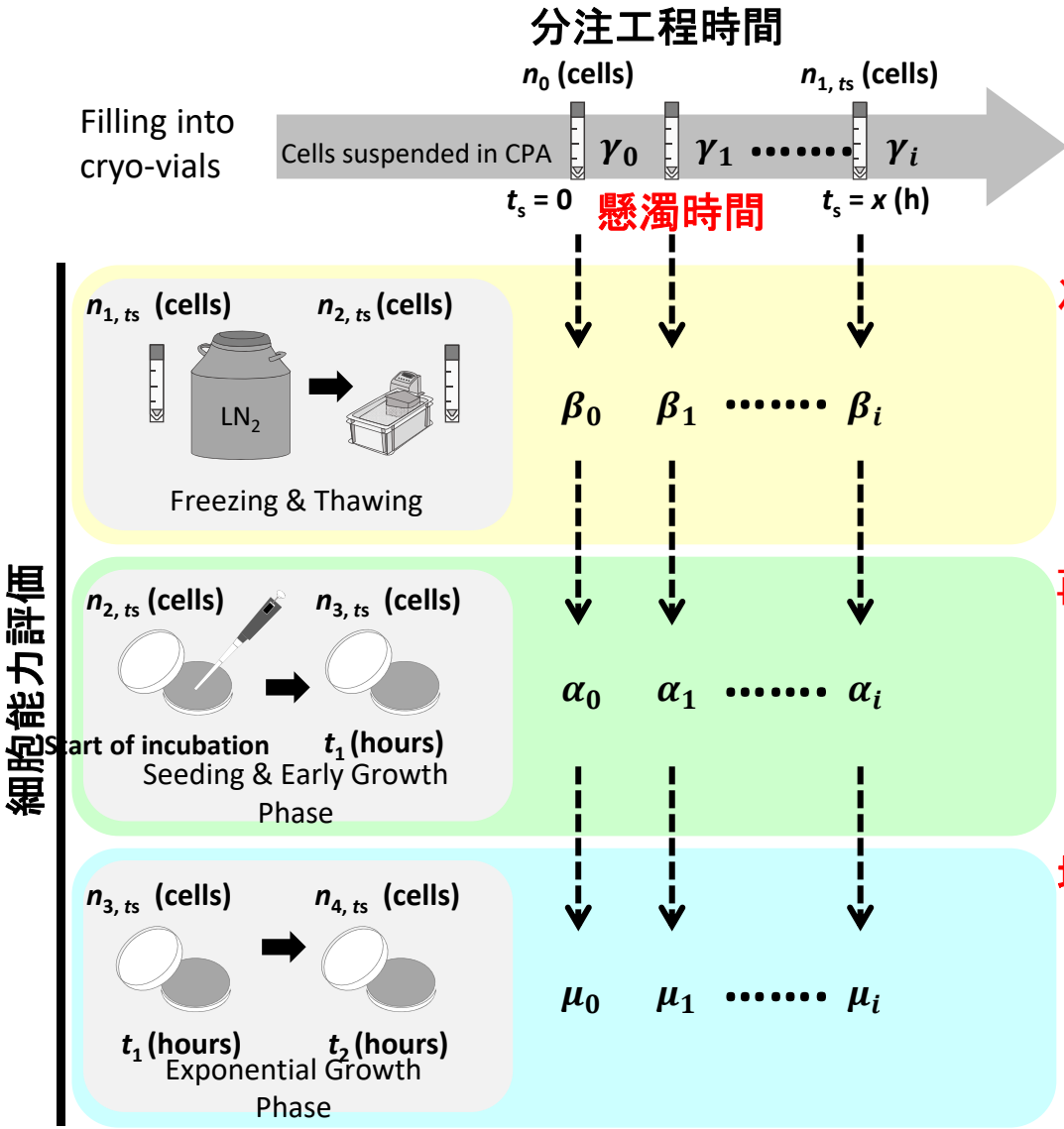
相対生存能力　(P/P_0)

?

本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 大量処理

大量に処理することへの対応

M.Kagihiro et al. Biochem. Eng. J. 2018



相対生存能力 $(P/P_0) = \alpha \cdot \beta \cdot \gamma$

懸濁中の生存率

$$\gamma\ (-) = \frac{C_x}{C_0}$$

凍結・解凍生存率

$$\beta\ (-) = \frac{C_x{}'}{C_x}$$

再播種1日後の生存率（接着能）

$$\alpha\ (-) = \frac{X_{t1}}{X_0} \qquad t_1 = 24\ \mathrm{h}$$

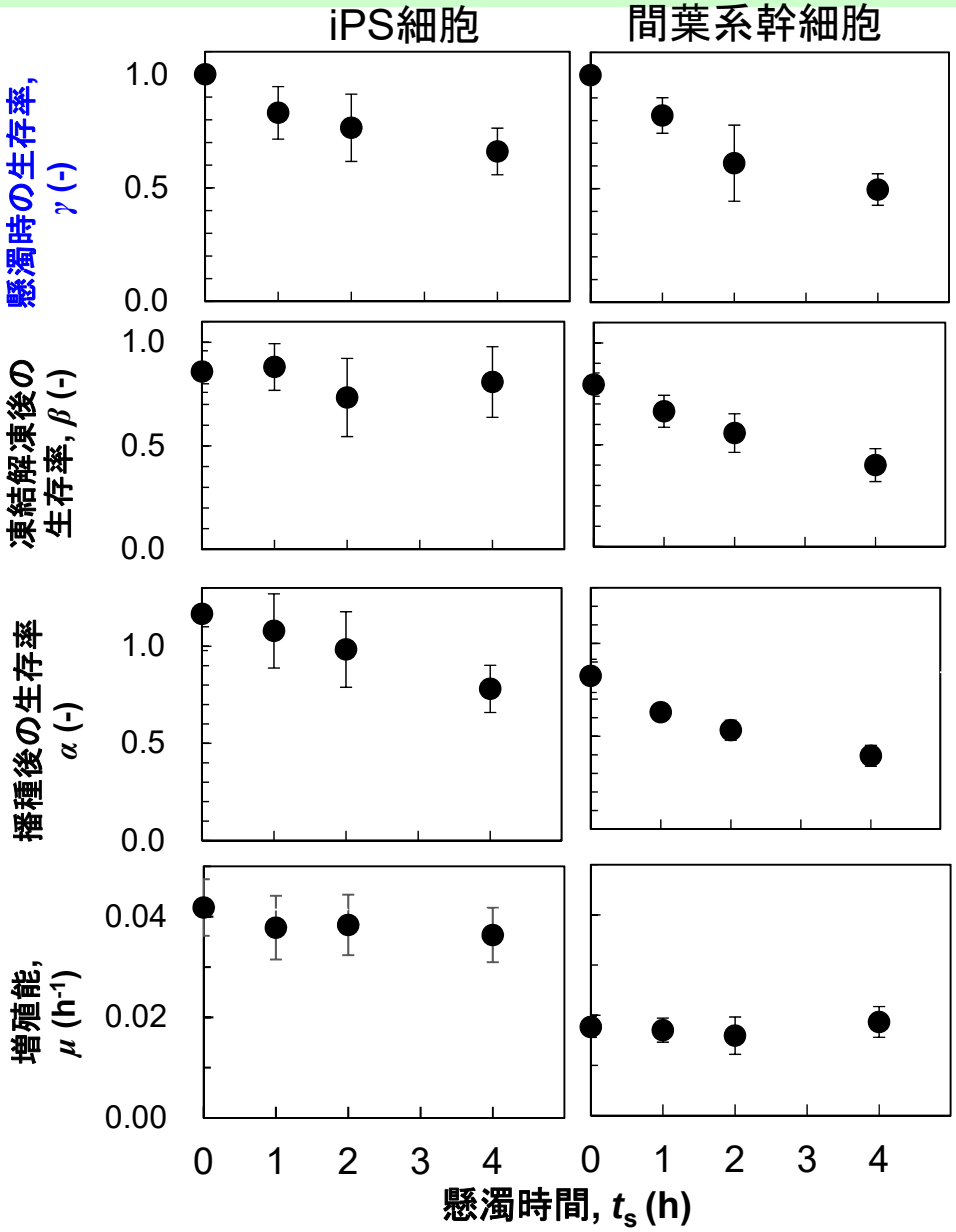
増殖能（見かけの比増殖速度）

$$\mu^{\mathrm{app}}\ (\mathrm{h}^{-1}) = \frac{\ln(X_{t1}/X_{t2})}{t_1 - t_2}$$

t_1 =24 h　t_2 = 96 h

本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 大量処理

大量に処理することへの対応



アポトーシスは始まると，止まらない？

iPS細胞の場合，凍結解凍時は懸濁時間に依存しない？

間葉系幹細胞は死にやすい？

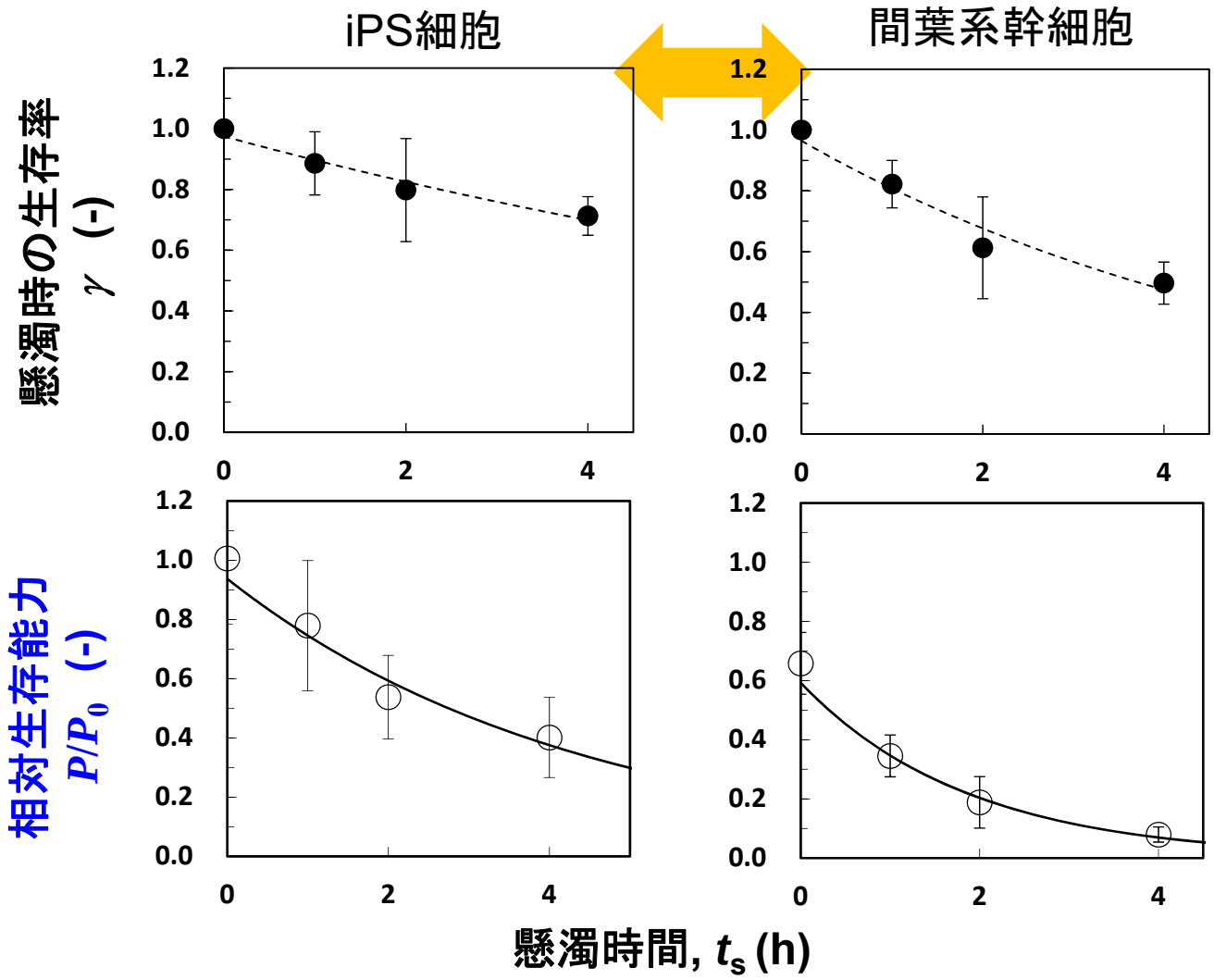
生きている細胞は増殖能力が同じ？

本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 大量処理

大量に処理することへの対応

相対生存能力 $(P/P_0) = \alpha \cdot \beta \cdot \gamma$

単細胞での浮遊時の生存率変化（時間依存性，遅発性）



分注工程の
状態量

状態（懸濁時の生存率）と
能力（収率）の大きなずれ
→潜在能力評価が不可欠

分注工程の
細胞生存能力

本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 大量処理

大量に処理することへの対応

分注量の均一性（V/V_{target}）

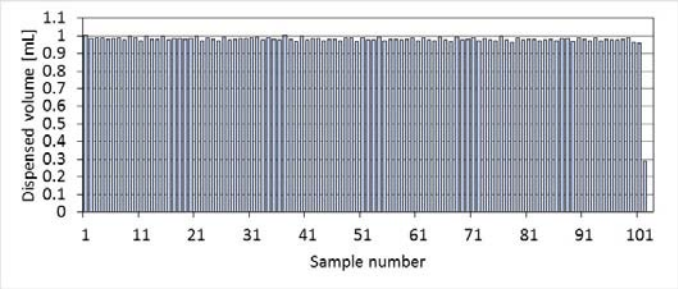
懸濁ため容器内の残液

分注試作機

分注時間：約30分

Total:102 vials, 99.5 mL

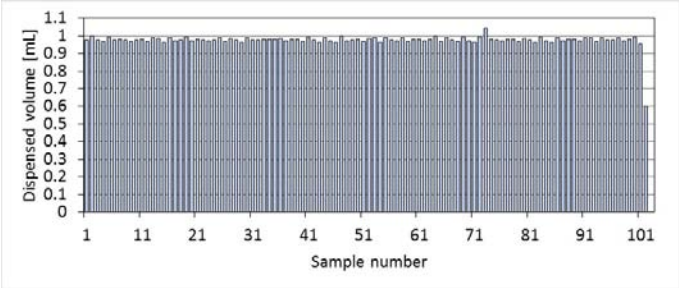
F_s = 0 s^{-1}



分注量[mL]

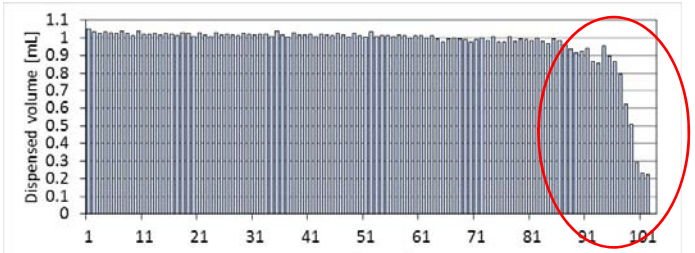
サンプル番号

F_s = 0.9 s^{-1}



最後の方で泡が入り分注が少なくなる

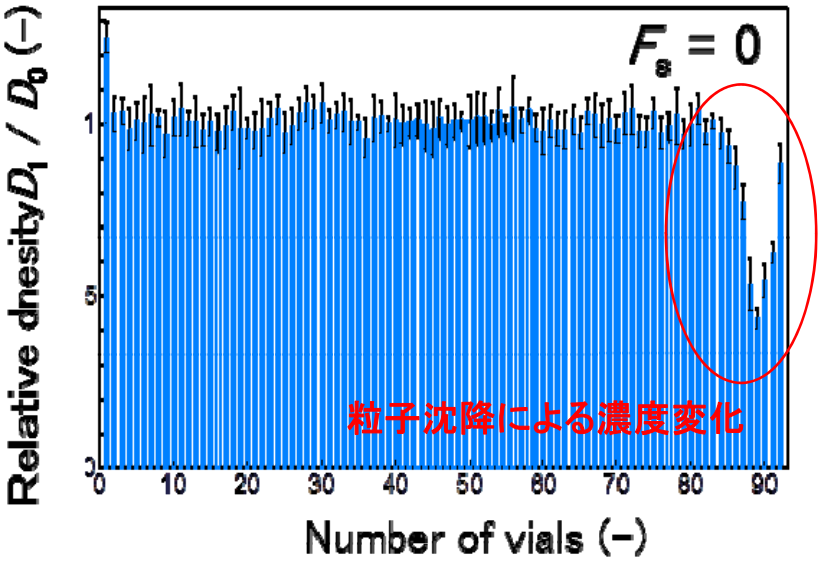
F_s = 5.8 s^{-1}

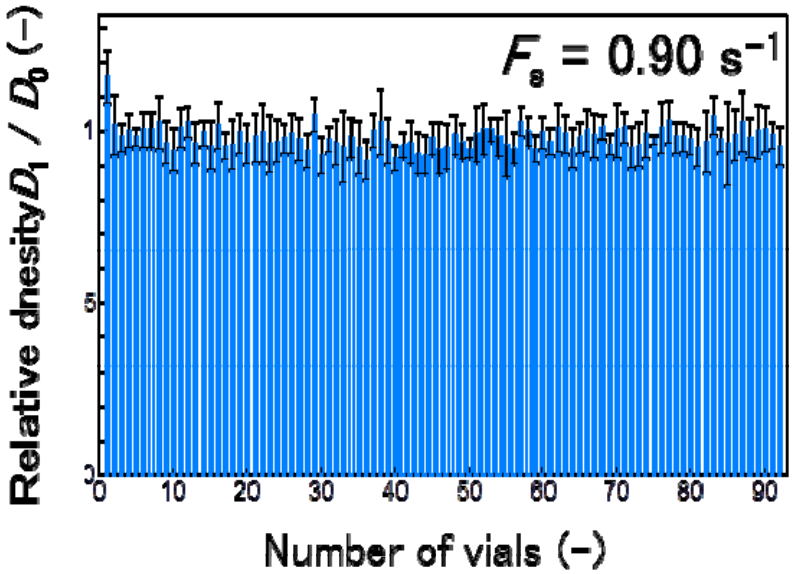


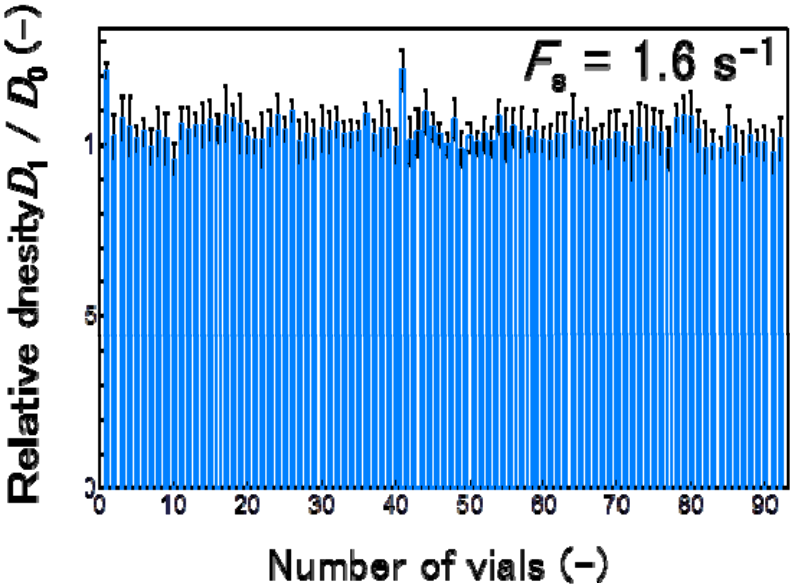
本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 大量処理

大量に処理することへの対応

懸濁粒子の濃度均一性 （D/D_0）







・解析
相対濃度を以下に示すように算出した.

Relative density = D_1 ／D_0

D_1: 分注したバイアル内のビーズ濃度 (beads/ml)

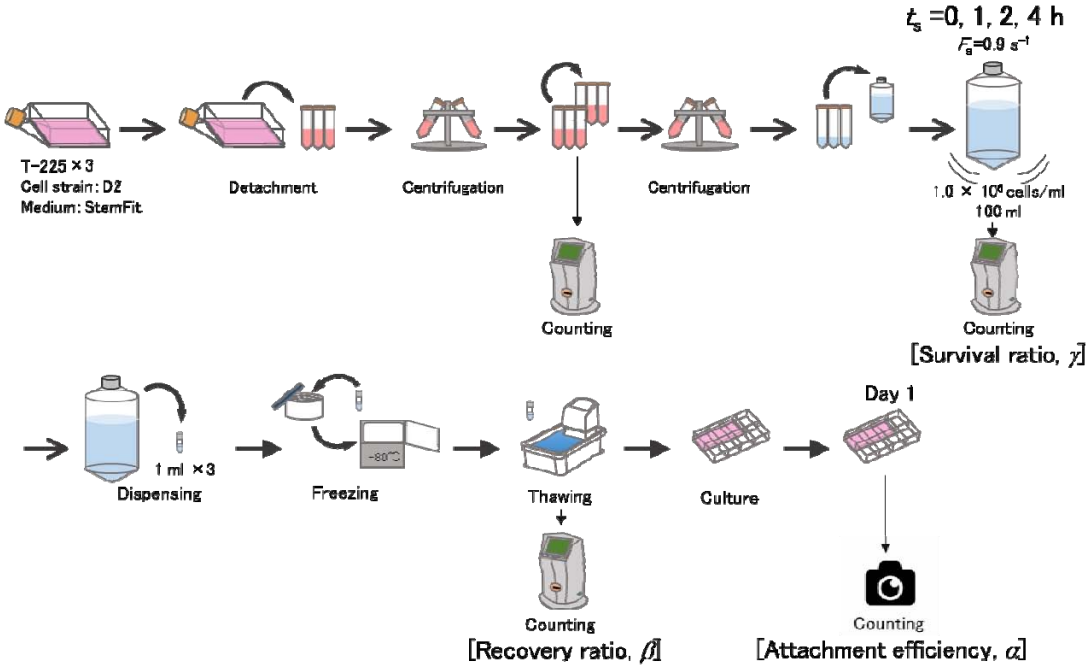
D_0: 初期のボトル内のビーズ濃度 (beads/ml)

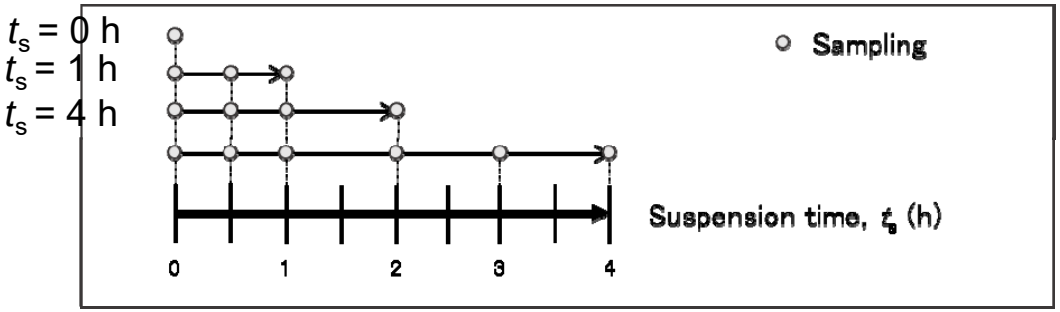
懸濁粒子の濃度均一性
F_S =0.90 s^{-1} とする

本事業システム開発と従来自動培養装置の違い: 大量処理

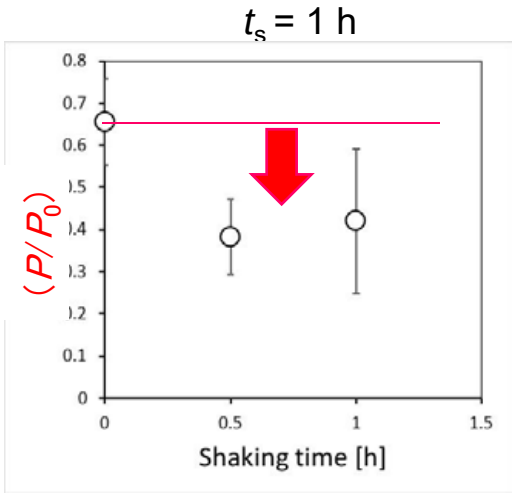
大量に処理することへの対応

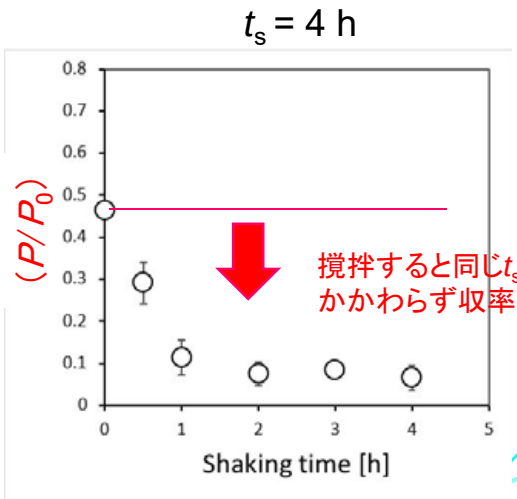
分注試作機を使用した測定
リザーバー撹拌が細胞活性へ与える影響





$(P/P_0) = \alpha \times \beta \times \gamma$





撹拌すると同じt_sにも
かかわらず収率が低下

集中研の活用（細胞製造コトづくり拠点の構築）

他事業との連携 （AMEDらしいことをしたい）

立場（分野，企業）を超えて，患者さんに届ける社会実装コンソーシアム

FIRMとの連携
（ユーザーフォーラム）
（参加企業）

コスト試算
（アイソレータ・自動化）

ニーズ調査

コスト評価

国際市場
戦略

モノづくり

阪大集中研
学問の体系化
（シーズ）

ヒトづくり

コトづくり

人材育成

①-9

ルールづくり

規制・ガイドライン

国際標準化

海外展開戦略(JBA)
TCELS（タイ）プロジェクトでの
海外展開
KMUTTへの
アイソレータ技術移転

一人ではできない

CMaT（ジョージア工科大学，米国）との連携
ラフラバー大学（英国）との連携
ITRI（台湾）とのMOU締結

細胞製造コトづくり講座
細胞製造設計エキスパート
育成講座
臨床培養士制度
（日本再生医療学会）

無菌操作ガイドライン提案
医療機器開発ガイドライン評価検討委員会
日本再生医療学会理事会
厚生科学審議会再生医療等評価部会

ISO　TC198WG9
施設・無菌操作
（ISO 18362文書化 ）
アイソレータ＋無菌接続インター
フェース（ISO13408-6改訂，PL）
ISO　TC276 WG4（FIRM連携）
搬送，資材，Cell manufacturability

仲間の拡大

新たなプロジェクト，共同研究の開始，共同研究講座，協働研究所
開設

勝手にクラスター化
（皆さんからの支援が不可欠）

本事業における製造システムの考え方に関するアウトリーチ

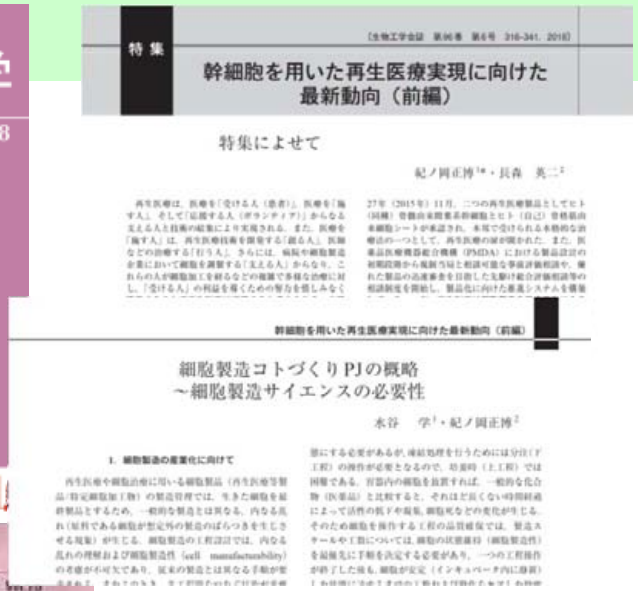
雑誌での特集号編集

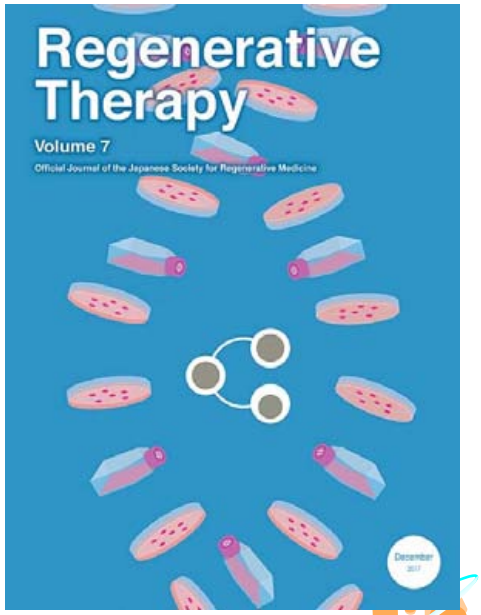
日本生物工学会での特集号
（96巻6,7号,2018年，12記事，
日本生物工学会との連携）

日本工業出版　クリーンテクノロジー
（Vol.28,No.3,2018年，製造システム
開発記事）

バイオサイエンスとバイオインダストリーでの特集号
（Vol.76,No.5,2018年 分注工程技術，
ヘマグルチニン技術,JBAとの連携）

Regenerative medicineでの特集号
(原著論文)（募集中，日本再生医療
学会との連携）





学会との連携シンポジウム

TERMIS-WCでのシンポジウム開催
（2018年9月）

日本再生医療学会総会でのシンポジウム開催（2015-19年3月）

本事業における製造システムの考え方と連携して作成されたガイドライン等

1）経済産業省/AMED医療機器等の開発・実用化促進のためのガイドライン策定事業

（再生医療分野）

【公開済】

・23　ヒト細胞培養工程の操作手順変更における互換性確認に関するガイドライン2015（手引き）

・24　自己由来細胞操作のチェンジオーバーに関するガイドライン2015（手引き）

・8-3　ヒト細胞培養加工装置についての設計ガイドライン【改訂】　開発ガイドライン2015（手引き）

・25　ヒト細胞自動培養加工装置についての設計ガイドライン2015（手引き）

・32　細胞加工に特化した工程資材の要求事項に関するガイドライン2017（手引き）

・33　再生医療等製品の製造所における顕微鏡の設置と維持管理に関するガイドライン2017（手引き）

【公開準備中】

・再生医療等製品の製造所における安全キャビネットの設置と維持管理に関するガイドライン

・再生医療等製品製造の作業所におけるインキュベータの運用に関するガイドライン

【議論中】

・製造中のチェンジオーバーに対する運用ガイドライン

2）AMED 再生医療実用化研究事業（平成26-28年度）

【公開済】（平成29年7月24日）

・再生医療等製品の無菌製造法に関する指針（案）　※ 厚生労働行政推進調査事業にて継続検討中

3）日本再生医療学会 （AMED 再生医療臨床研究促進基盤整備事業）

【公開済】（平成30年3月30日）

・細胞培養加工施設における無菌操作に関する考え方

3）ISO（国際標準）

・ISO 18362:2016, ISO13408-1 （無菌操作を行う区域，他）

・ISO TC198/WG9 （除染パスボックス，他）

・ISO TC276/WG4 （細胞製造性，他）