

令和 6 年度 未来研究ラボシステム 研究成果報告書

研究種目：共同研究 研究期間：令和 6 年 10 月 ～ 令和 8 年 10 月（予定）

研究課題名：流体力学が紐解く細胞 3 次元浮遊培養法の物理機構

ラボ長

所属：大学院基礎工学研究科 機能創成専攻

職位 特任助教 氏名：渡邊 大記

研究成果：

(概要)

3 次元浮遊培養法の本質理解およびその社会実装に向け、GPU で実行可能な気液二相流の大規模数値シミュレーションコードの開発及び、「攪拌翼無し攪拌機」による浮遊培養を実施した。数値シミュレーションコードの開発においては、我々の従来使用していたプログラムに比べ、およそ 6 倍の高速化を実現するとともに、密度比が 1000 の気液二相流の計算も安定かつ正確に解くことを可能にした。また、攪拌翼無し攪拌機を用いた細胞培養においては、マイクロキャリアを用いた間葉系幹細胞の 3 次元浮遊培養を実施し、問題なく培養ができることを確認した。

(本文)

我々は、流体力学の視点を用いて、(i) 大規模数値シミュレーションによる 3 次元浮遊培養法の物理機構の解明、および (ii) 「攪拌翼無し攪拌機」を用いた 3 次元浮遊培養による細胞の大量培養の実現に向けた研究を行っている。本稿では、それぞれの研究成果について報告する。

(i) 大規模数値シミュレーションによる 3 次元浮遊培養法の物理機構の解明

3 次元浮遊培養は、培養液・細胞・気液界面が相互作用する複雑な流れの中で行われるため、実験のみでその物理機構を解明するのは困難である。そこで我々は、数値シミュレーションを活用し、その解明を試みる。本系の数値シミュレーションにおいて重要なのは、気液界面の挙動を正確に捉えることである。なぜなら、気液界面の挙動は、培養液の流れや細胞の挙動に影響を及ぼすだけでなく、自由表面や気泡からの酸素供給にも重要な役割を果たすからである。しかし、気液二相流は密度比や粘度比が極めて大きいため、その流れ場を数値的にシミュレートすることは容易ではない。実際に、既存の数値シミュレーションプログラムでは、気液界面の大変形を伴う流れ場に適用できな

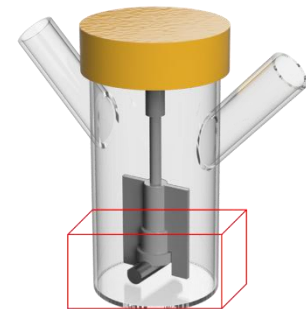


図 1 数値計算で用いた攪拌槽の形状。赤枠内を解析領域とする。

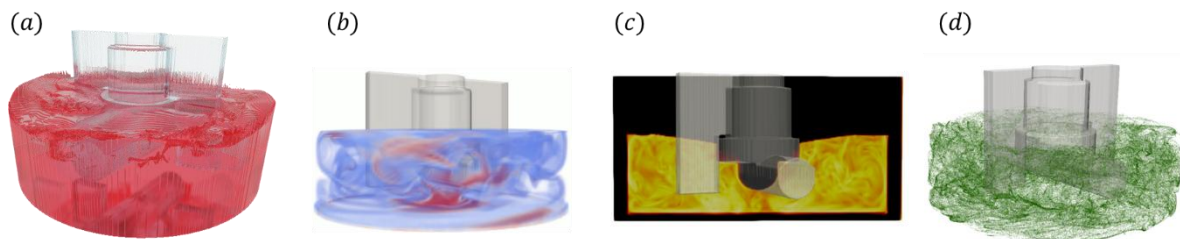


図 2 図 1 に示すバイオリアクターにおける、気液界面を伴う流れの数値計算結果。(a), 気液界面の様子；(b), スカラーの移流拡散；(c), セン断速度；(d), 細胞粒子群の空間分布。

かった。そこで我々は、気液二相流を高速かつ高精度に解析できる独自の数値シミュレーションプログラムを開発した。本プログラムは、最新のシミュレーション手法を取り入れるとともに、液相体積を完全に保存しながら気液界面の挙動を正確に捕捉する手法を開発・実装している（論文執筆中）。さらに、GPUを用いた計算高速化により、従来コードと比較して約6倍の計算速度向上を達成した（富岳CPU 12ノードとNVIDIA GPU A100 4基の比較）。本数値シミュレーションコードの妥当性は、気液界面の大変形を伴うダム崩壊問題の実験結果(K. Kleefsman et al, 2005)と数値シミュレーション結果の比較により検証済みである（化学工学会第90年会発表）。本開発プログラムは、図1に示すような一般的に用いられる攪拌翼を備えたバイオリアクター内の流れもシミュレート可能である。実際に数値計算によって得られた結果を図2に示す。数値シミュレーションによって得られる定量データ（例えば、気液界面の様子（図2a）、酸素などの栄養素の移流拡散（図2b）、せん断速度（図2c）、細胞の分散挙動（図2d））と培養結果を比較することで、細胞培養の物理機構の解明を進める。

(ii) 攪拌翼無し攪拌機を用いた細胞の大量培養

・可視化実験

狙い通りの培養結果を得るためには、リアクター内部で何が起きているのかを正確に把握する必要がある。前述の通り、数値シミュレーションはその把握に有効な手段であるが、本系では気液界面だけでなく、容器と液体の動的な濡れ性も重要な要素となる。しかし、動的な濡れ性を数値シミュレーションで正確に表現することは容易ではなく、実験による数値シミュレーション結果の検証が必要となる。そこで我々は、軸方向および側面から流れ場を観測できるガラス製の容器を用いた実験装置（図3）を作成した。今後、液の物性値（粘度や表面張力）や容器の材質・直径を変更し、それに伴う流れの変化をPIVによって評価する予定である。

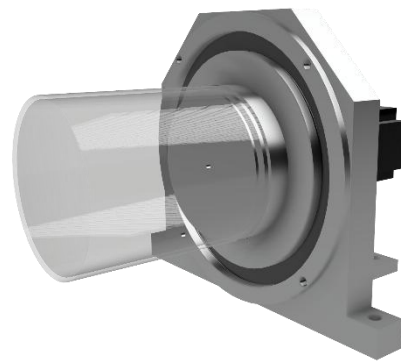


図3 気液界面を伴う回転円筒内流れの実験装置。

・細胞培養実験

これまでの検討により、30 mLスケールでのHEK293細胞培養に成功している。そこで、攪拌翼無し攪拌機の適用範囲を拡大するため、マイクロキャリアを用いた間葉系幹細胞の培養を実施した。特許出願の関係上、実験の詳細は割愛するが、マイクロキャリアへの細胞の接着および増殖（図4）を確認できた。この結果から、攪拌翼無し攪拌機がマイクロキャリアを用いた培養にも適用可能であることが示された。

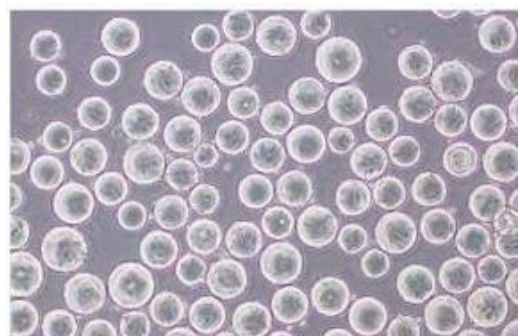


図4 攪拌翼無し攪拌機を用いた、細胞培養結果。マイクロキャリアを使用し、間葉系幹細胞培養を行った。

研究経費（R6 年度）の内訳：

備品費	消耗品費	旅費	謝金	その他	合計
0 円	348 千円	467 千円	0 円	85 千円	900 千円

共同研究者等：

(1) 共同研究者（氏名・所属）

堀口一樹・大阪大学基礎工学研究科

(2) 研究協力者（氏名・所属・学年（学生の場合））

久木元翔太・大阪大学基礎工学研究科（M2）

金田直樹・大阪大学基礎工学研究科（M1）

発表論文等（令和 7 年 3 月 31 日現在）：

〔雑誌論文〕

1. D. Watanabe and S. Goto, “Convection cells of liquid partially filled in a horizontally rotating cylinder: effects of axial flow,” submitted to Physical Review Fluids.
2. 渡邊大記, 攪拌翼無し攪拌機, Mixing technology now, 29 (2024).

〔学会発表〕

1. Daiki Watanabe, Kento Eguchi and Susumu Goto, Onset of convection cells in a horizontally rotating cylinder partially filled with liquid, The 26th International Congress of Theoretical and Applied Mechanics (ICTAM2024), Deagu, Korea
2. 渡邊大記, 後藤晋, 「液体が部分充填された回転円筒内流れ —軸流の影響—」, 化学工学会第 55 回秋季大会, 北海道 (2024)
3. 渡邊大記, 「かき混ぜ棒なし攪拌機で細胞培養に革新をもたらす」, バイオテックグランプリ, (2024), 東京
4. 渡邊大記, 後藤晋, 「気液界面を有する回転円筒内部流れの直接数値計算 —せん断速度の制御—」, 第 38 回数値流体力学シンポジウム, 東京 (2024)
5. 久木元 翔太, 渡邊 大記, 後藤 晋, 「歳差運動をする円筒容器内における気液二相乱流の直接数値シミュレーション」, 第 38 回数値流体力学シンポジウム, 東京 (2024)
6. 渡邊 大記, 久木元 翔太, 後藤 晋, 「埋め込み境界法とレベルセット法を用いた気液二相流の数値シミュレーション」, 化学工学会第 90 回年会, 東京 (2025)
7. 久木元 翔太, 渡邊 大記, 後藤 晋, 「歳差運動をする円筒容器内における気液二相乱流の直接数値シミュレーション」, 化学工学会第 90 回年会, 東京 (2025) (優秀学生賞受賞)
8. 渡邊大記, 金田直樹, 堀口一樹, 後藤晋, 「円筒容器の回転運動を用いた三次元浮遊培養」, 第 24 回再生医療学会総会, 東京 (2025)

9. 鳥巢哲生, 岩本菜々, 岡田梨櫻, 逢坂望, 久木元翔太, 渡邊大記, 本告遊太郎, 後藤晋, 内山進, 「数値流体力学解析を用いた界面を介した医療用タンパク質の凝集体生成に関する研究」, 日本薬学会第 145 年会, 福岡(2025)

〔その他〕

1. 非定常攪拌操作に関する特許出願準備中 (学内承継審査済み)
2. 第 24 回再生医療学会総会テクノオークションでブレードレスバイオリアクタを用いた iPS 細胞の大量培養という演題で講演した。
3. バイオテックグランプリで DNP 賞およびフォーカスシステムズ賞受賞し, 研究資金を獲得した。
4. 堀口一樹が発起人となり, BioCAE 勉強会の立ち上げを行った。

外部資金獲得状況・申請状況：

1. 第二回 KSAC-GAP ファンド (IV) 「ヒト iPS 細胞の大量培養を実現するブレードレスバイオリアクタの開発」, 採択 (2025. 4-2026. 3)

参考となる HP 等：

特になし