

国士舘大学審査学位論文

「細胞処理作業における
培地交換プロセスの効率化に関する研究」

野々山 良介

氏 名 野々山 良介
学位の種類 博士(工学)
報告番号 乙第58号
学位授与年月日 令和5年3月20日
学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当
学位論文題目 細胞処理作業における培地交換プロセスの効率化に関する研究
論文審査委員 (主任審査員) 教授 神野 誠
(審査員) 教授 本田 康裕
(審査員) 准教授 堀井 宏祐
(学外審査員) 特任研究員 松日楽 信人(東京大学)

博士論文

題 目 細胞処理作業における培地交換プロセスの効率化に関する研究

氏 名 野々山 良介

細胞処理作業における
培地交換プロセスの効率化に関する研究

2023年3月

野々山 良介

Study on improving the efficiency of the media change in cell processing

by Ryosuke NONOYAMA

Abstract

Manual cell processing in the field of regenerative medicine is labor-intensive and expensive; as such, its efficiency needs improvement. Recently, automatic cell culture systems equipped with vertically articulated robots have been developed. However, automating all the cell processing tasks complicates these systems. This study aims to develop a simple and rational cell processing system by combining robot and human tasks. Herein, each cell processing task was extracted, and the division of labor between human and robot was determined. Consequently, the discarding and injecting tasks of the media change, which rely on the operator's sensory perception in particular, were selected for efficiency improvement by the robot. First, an approach to enhance the efficiency of discarding tasks was investigated. The discarding task was divided into smaller motions by utilizing the operator's motion as a reference, and the optimal speed setting combination was determined experimentally. Evaluation experiments showed that robots could perform the discarding tasks more efficiently than humans. The operator could only evacuate the flask in the original direction, while the robot could evacuate the flask in the opposite direction, thereby reducing the risk of dripping. Second, an approach to enhance the efficiency of injecting tasks was investigated. The development of a cap equipped with an inspiration port and an injection port facilitated the injection of culture media at a constant flow rate from an injecting bottle. The weight of the culture media injected into the flask was measured in real time using a load cell. The amount to be injected during the injection end motion was predicted to calculate the injection cessation timing. Evaluation experiments showed that robots could perform the injecting tasks more efficiently than humans. Furthermore, the risk of dripping was reduced when the robot was used. Finally, we developed discarding and injecting robots that can be installed in a safety cabinet. Experiments on discarding time and injecting accuracy, employing the injecting and discarding robots, respectively, demonstrated that the results were equivalent to or better than those obtained in the case of manual operation. The discarding and injecting processes could be performed in parallel using the robots, which took less than half the time than that taken in manual operation. The robots developed herein can reduce culture costs by reducing the time required. Further, they can reduce the risk of contamination owing to dripping. The robots can be introduced into current production processes because they do not require any changes in the manual cell processing procedures.

目次

第 1 章	序論	9
1.1	研究背景	9
1.2	自動培養装置の現状分析	9
1.3	システムコンセプトの提案とアプローチ	13
1.4	本論文の構成	15
第 2 章	細胞処理作業の作業抽出とロボットの分担判断	17
2.1	細胞処理作業の作業分解	17
2.2	培地交換プロセスの作業分解	18
2.3	廃液作業および注液作業を自動化するメリット	20
2.4	まとめ	23
第 3 章	ロボットによる廃液作業の効率化	24
3.1	廃液作業の作業分析	24
3.2	ロボットによる廃液作業の効率化手法	26
3.2.1	ロボットによる廃液動作の構成	26
3.2.2	実験計画法による最適速度の決定方法	28
3.2.3	液だれの発生パターンとその回避策の方針	29
3.2.4	実験システム	29
3.3	効率化手法の廃液作業への適用	30
3.3.1	水道水への適用	30
3.3.2	培養液への適用	34
3.4	効率化手法の廃液作業への適用に対する考察	37
3.4.1	水道水の廃液作業への適用に対する考察	37
3.4.2	培養液の廃液作業への適用に対する考察	39
3.4.3	培養液量と廃液速度の関係に対する考察	40
3.5	まとめ	41
第 4 章	ロボットによる注液作業の効率化	42
4.1	注液作業の作業分析と自動化方法の検討	42
4.2	ロボットによる注液作業自動化の構成検討	43
4.2.1	注液動作	43
4.2.2	吸気ポートと注液ポートの構成	45
4.3	ΔT と X を用いた注液アルゴリズムの提案	48
4.3.1	パラメータの抽出と設定	48
4.3.2	ΔT と X を用いた注液アルゴリズムの検証実験	51

4.3.3	ΔT と X を用いた注液アルゴリズムの適用範囲拡大	52
4.4	ΔT と X を用いた注液アルゴリズムに対する考察	55
4.4.1	注液時間を固定とする方法に対する考察	55
4.4.2	注液アルゴリズムの適用範囲に対する考察	57
4.4.3	注液アルゴリズムの ΔT 及び X の誤差に対する考察	57
4.5	注液精度の向上	59
4.5.1	ΔT と X を用いた注液アルゴリズムの改善	61
4.5.2	機械学習を用いた注液アルゴリズム	65
4.5.3	オートチューニング	66
4.5.4	各注液アルゴリズムの検証実験	66
4.6	注液精度の向上に対する考察	73
4.6.1	注液量の y 切片の有効性に対する考察	73
4.6.2	パラメータ算出に用いるデータに対する考察	73
4.6.3	機械学習のモデル構築に用いるデータに対する考察	75
4.7	まとめ	78
第 5 章	培養補助ロボットの効果検証	79
5.1	培養補助ロボットの開発	79
5.1.1	全体システムのコンセプト	79
5.1.2	廃液装置の開発	82
5.1.3	注液装置の開発	85
5.1.4	全体システムの構成	87
5.2	培養補助ロボットの検証実験	88
5.2.1	廃液装置使用時の廃液時間測定	88
5.2.2	注液装置使用時の注液精度検証	90
5.2.3	培養補助ロボット導入による所要時間の短縮効果検証	94
5.3	培養補助ロボットの検証実験に対する考察	96
5.3.1	安全キャビネットのファン稼働時の注液精度に対する考察	96
5.3.2	培養補助ロボット導入による所要時間の短縮効果に対する考察	97
5.4	まとめ	98
第 6 章	結論	99
	用語集	101
	参考文献	102
	研究業績	108
	謝辞	110

目次

Fig. 1-1	Discarding task by humans.....	11
Fig. 1-2	Injecting task by humans.....	11
Fig. 1-3	Approach of this study.....	14
Fig. 1-4	Structure of this paper.....	16
Fig. 2-1	Cell processing procedure.....	17
Fig. 2-2	Media change procedure.....	19
Fig. 2-3	Time distribution of media change by humans (five sets).....	19
Fig. 2-4	Evacuation direction of discarding task.....	21
Fig. 2-5	Injecting task performed by the robot.....	21
Fig. 2-6	Time distribution of the media change.....	22
Fig. 2-7	Flask transfer path in a safety cabinet.....	22
Fig. 3-1	Discarding task flow by human (beginner).....	25
Fig. 3-2	Discarding task flow by robot arm.....	27
Fig. 3-3	TCP (Tool Center Point) and draining motion.....	27
Fig. 3-4	Experimental equipment configuration of discarding task.....	29
Fig. 3-5	Time to last dripping time.....	31
Fig. 3-6	Analysis for speed factor of draining motion. (a) Last dripping time of 1st high-speed rotation. (b) Last dripping time of low-speed rotation. (c) Last dripping time of 2nd high-speed rotation.....	32
Fig. 3-7	6th angle and angular velocity during draining motion.....	33
Fig. 3-8	Time allocation of draining motion and dripping motion.....	35
Fig. 3-9	Time allocation of Time2, Time4 and Time6.....	36
Fig. 3-10	Tracks and posture during discarding task.....	38
Fig. 3-11	Relationship between volume of culture media and angular velocity of low-speed rotation.....	40
Fig. 4-1	Experimental equipment configuration of injecting task.....	44
Fig. 4-2	Control method of injection volume.....	44
Fig. 4-3	TCP (Tool Center Point) and injecting task.....	44
Fig. 4-4	Inspiration port and injection port.....	45
Fig. 4-5	Function of one-way valve.....	46
Fig. 4-6	Type of inspiration port.....	46
Fig. 4-7	Flow rate of injection. In the case of (A), the flow rate during the injecting motion is constant. In the case of (B), the flow rate decreases with the remaining volume. And the flow rate of tap water is about the same as that of the culture media.....	47

Fig. 4-8	Volume of injection. In the case of (A), since the flow rate is constant, the slope is also constant. In the case of (B), since the flow rate decreases, the slope becomes gentle. And the slope when using tap water is about the same as that when using the culture media.....	47
Fig. 4-9	Prediction method. The algorithm predicts the injecting volume($X\%$) during the period(ΔT) from the start of the injection end motion until the injecting volume does not increase.....	49
Fig. 4-10	Extraction of parameters and validation. It shows the procedure of experiment and validation. First, we conduct an experiment to derive ΔT and X . Next, we validate using ΔT and X	49
Fig. 4-11	Volume during injecting task. (a) Overall view. (b) Enlarged view.	50
Fig. 4-12	Experimental results of injecting task. The culture media was divided into 6 times, and 75 g each was injected. The accuracy was within the range of $\pm 1\%$	51
Fig. 4-13	Flow rate (Inspiration port = 2 mm, 3 mm, 4 mm). Even if the inside diameter of the inspiration port was different, the flow rate was the same.....	52
Fig. 4-14	Flow rate (Injection port = 3 mm, 4 mm, 5 mm). As the inside diameter of the injection port increased, the flow rate increased.	53
Fig. 4-15	Experimental results of injecting task (Injection port = 3 mm, 4 mm, 5 mm). When the inside diameter of the injection port was 3 mm, 4 mm, 5 mm, the accuracy was within the range of $\pm 1\%$	54
Fig. 4-16	Changes in volume during injecting task.....	55
Fig. 4-17	Experimental results when injecting time is fixed. The experiment was conducted with the time of the injecting task fixed at 11.415 seconds. The accuracy was predicted to fall within about $\pm 3\%$, but in a case it was more than 10%.	56
Fig. 4-18	Range of parameters. The range of ΔT and X was calculated so that it falls within $\pm 2\%$ which is the same accuracy as the operator. As a result of the experiment, the calculated value and the experimental value almost agreed. An error of ΔT and X can be tolerable about 30% in total.....	58
Fig. 4-19	Injection volume when injection is repeated multiple times. Injection volume varies depending on number of injections.....	60
Fig. 4-20	Selection of injection algorithm.	60
Fig. 4-21	Correlation between y-intercept of injection volume and difference between calculated and measured values. Measured value decreases as y-intercept decreases, whereas calculated value remains constant.	62
Fig. 4-22	Correlation between x-intercept of injection volume and difference between calculated and measured values. Measured value decreases as x-intercept increases, whereas calculated value remains constant.	62

Fig. 4-23	Correlation between remaining volume in injection bottle and injection volume after the start of injection end motion. Injection volume decreases as remaining volume decreases.	63
Fig. 4-24	Flowchart of injection algorithm using ΔT and X with two types of correction. Correction volume C_1 and C_2 are added to V_e	64
Fig. 4-25	Flowchart of injection algorithm using ΔT and X with two types of correction. Correction volume C_1 and C_2 are added to V_t	64
Fig. 4-26	Features of linear regression model. Slope x_1 , y-intercept x_2 , and target volume x_3 can be used to calculate stop volume V_{ea}	66
Fig. 4-27	Injection error for each target volume: Algorithms (a) A' and (b) B.	69
Fig. 4-28	Injection error of auto-tuning. (a) Six sets with 50-g target volume. (b) Values for each of six sets with 50-g target volume.	70
Fig. 4-29	Injection error of auto-tuning. (a) Six sets with 150-g target volume. (b) Values for each of six sets with 150-g target volume.	71
Fig. 4-30	How to use each injecting algorithm.	72
Fig. 4-31	Difference between calculated and measured values for 50-g target volume. Machine learning was performed using training data with and without y-intercept.	73
Fig. 4-32	Difference between calculated and measured values for each stop volume. To calculate parameters of Algorithm A', experimental data for various target volumes were used: (a) 75-g, (b) 50-g, and (c) 150-g target volumes.	74
Fig. 4-33	Difference between calculated and measured values for each stop volume. Machine learning was performed using various training data. (a) Six sets of data with the 75-g target volume. (b) Six sets of data with target volumes from 50 to 150 g at 10-g intervals. (c) One set of data with target volumes from 50 to 150 g at 10-g intervals. (d) Six sets of data with target volumes of 50 and 150 g.	76
Fig. 4-34	Difference between calculated and measured values for each stop volume. Machine learning was performed using each set of training data with target volumes of 50 and 150 g. (a) First set. (b) Second set. (c) Third set. (d) Fourth set. (e) Fifth set. (f) Sixth set.	77
Fig. 5-1	Flowchart of the media change by humans (five sets).	80
Fig. 5-2	Flowchart of the media change using discarding and injecting robots (40 sets).	81
Fig. 5-3	Mechanical design of the discarding robot. The draining motion is performed by the rotation of Motor1 from -30° to 90° . Then, the evacuation motion is performed by the rotation of Motor1 from 90° to 210°	83
Fig. 5-4	Mechanical design of the injecting robot. The injection start motion is performed by the rotation of Motor1 from -30° to 70° . Then, the injection end motion is performed by the rotation of Motor1 from 70° to -30°	85

Fig. 5-5	System overview. Discarding robot (right), injecting robot (left).....	87
Fig. 5-6	Overview of the discarding robot.	88
Fig. 5-7	Flowchart to start the discarding task.....	89
Fig. 5-8	Correlation between y-intercept of injection volume and difference between calculated and measured values (when using the injecting robot).	91
Fig. 5-9	Correlation between x-intercept of injection volume and difference between calculated and measured values (when using the injecting robot).	91
Fig. 5-10	Correlation between remaining volume in injection bottle and injection volume after the start of injection end motion (when using the injecting robot).	92
Fig. 5-11	Injection error for each target volume (when using the injecting robot).....	93
Fig. 5-12	Time taken for each process.....	95
Fig. 5-13	Weight measurement results in the safety cabinet. During the operation of the fan, the weight fluctuates in the range of -0.01 to 0.02 g around 0.15 g.	96
Fig. 5-14	Work-time ratio when using the robot to that of manual work.....	97

表目次

Table 1-1	Fully-automated cell culture systems.....	12
Table 1-2	Partially-automated cell culture systems.....	13
Table 2-1	Time distribution of media change by humans (five sets).....	19
Table 3-1	Discarding task time (avg.).....	25
Table 3-2	Speed setting combination of draining motion.	28
Table 3-3	Results of draining time and dripping time.	31
Table 3-4	Speed setting of draining task.	33
Table 3-5	Time until dropping interval is 1 second.....	34
Table 3-6	Time allocation of draining motion and dripping motion.....	35
Table 3-7	Discarding task time by robot arm.	38
Table 3-8	Comparison of discarding task time.	39
Table 4-1	ΔT and X of injecting task.	50
Table 4-2	Experimental results of injecting task.....	51
Table 4-3	Relationship between inspiration/injection port and flow rate [g/s].	53
Table 4-4	Relationship between inspiration/injection port and injecting velocity [m/s].....	53
Table 4-5	Experimental results of injecting task (Injection port = 3 mm, 4 mm, 5 mm).	54
Table 4-6	V_i , V_x , T_c , and ΔV_c of injecting task.....	56
Table 4-7	V_c , and V_f of injecting task.....	56
Table 4-8	Experimental results when injecting time is fixed.....	57
Table 4-9	Flow rate and time during injecting motion.....	57
Table 4-10	Calculated results in each condition.	58
Table 4-11	Parameters for evaluating experiment of Algorithms A' and B.	68
Table 4-12	Experimental results of Algorithm A'.	68
Table 4-13	Experimental results of Algorithm B.	68
Table 4-14	Parameters for six sets of auto-tuning when target volume is 50 g.	70
Table 4-15	Parameters for six sets of auto-tuning when target volume is 150 g.....	70
Table 4-16	Advantages and disadvantages of each algorithm.	72
Table 5-1	Design specifications of the discarding robot.	84
Table 5-2	Design specifications of the injecting robot.	86
Table 5-3	Time taken by each operator.	89
Table 5-4	Parameters for evaluating experiment of the six-axis articulated robot and injecting robot.....	92
Table 5-5	Experimental results for each target volume (when using the injecting robot).	93
Table 5-6	Time taken for each process by robots with the operator.	95

Table 5-7 Time taken for each process.95

第1章 序論

1.1 研究背景

近年、損傷した組織等の修復のために、種々の細胞を移植する試みが行われている[1],[2]. 例えば、狭心症、心筋梗塞などの虚血性心疾患により損傷した心筋組織の修復のために、骨格筋芽細胞[3], 間葉系幹細胞[4], 心筋幹細胞[5], ES 細胞[6], iPS 細胞[7]等の利用が試みられている. このような試みの一環として、スキャフォールドを利用して形成した細胞構造物や、細胞だけをシート状に形成した細胞シートが開発されてきた[8]-[10].

これらの細胞は、従来、細胞培養施設と呼ばれるクリーンルームにおいて専門の知識を有する作業者による手作業で製造されており (Fig. 1-1, Fig. 1-2), このような細胞の製造費用及び製造にかかる労力は大きく、その効率化が望まれている. そこで、これらの細胞の培養に関する作業をロボットにより行う自動培養装置や、細胞培養の自動化に関する技術が提案されている. しかしながら、全ての作業を自動化した場合、装置の構成が複雑になり、汎用性や拡張性などフレキシビリティに欠けるうえ、装置のコストが高くなるなどの問題がある. 次節では、既存の自動培養装置の開発に関する情報を整理し、現状の課題を分析するとともに、解決策について検討する.

1.2 自動培養装置の現状分析

再生医療は、手術や投薬などの従来の手法では治療が難しい様々な疾患に有効と考えられており、幅広い普及が期待されている. それに伴い、周辺装置や消耗品等の市場拡大が見込まれていることから、多数の企業が自動培養装置の開発に参入している. しかしながら、細胞処理作業は未だに手作業で行われているのが現状であり、自動培養装置が普及しているとは言い難い. そこで、再生医療等製品の製造販売業者であるユーザーの視点から、これまでに開発されてきた自動培養装置の課題を分析していく.

まず、既存の自動培養装置について調査を行った. 細胞処理作業の全工程を自動化する装置を Table 1-1 に、一部の工程を自動化する装置を Table 1-2 に示す. これまでに、TAP Biosystems[11]-[17], Beckman Coulter[18],[19], TECAN[20], Panasonic[21], IHI[22],[23], 川崎重工業[24],[25], 日立製作所[26]-[28], 大阪大学[29]などの企業や研究機関により、全自動の培養装置の研究が進められてきた. また、TECAN や安川電機の製品を利用して、全工程を自動化する手法も提案されている[30]-[33]. 細胞を培養するには温度・湿度・二酸化炭素濃度を一定に保つ必要があるため、インキュベーターが必須となる. そのため、どの事例においても、リキッドハンドラーやロボットアームが操作可能な場所にインキュベーターが組み込まれている. 細胞はフラスコなどの容器の中で培養するため、フラスコを操作するハンド機構なども必要になる. そのほかにも、培養液の分注作業を行うためのポンプやピペット、細胞を沈殿させるための遠心機なども利用されている. 細胞の培養中は、余計な雑菌(バクテリアやカビの類)が入り込んで増殖するコンタミネーションが起きないように注意しなければならない. よって、全ての作業を無菌環境下で行う必要があるため、全機能を閉鎖系

のシステムに搭載することになり、構成が複雑かつ大型の装置になってしまうのである。自動化の対象を全工程とした理由としては、作業者の負担軽減やコンタミネーションリスクの低減が大きいと考えられる。

Table 1-1 に示した自動培養装置は、全自動であるが故にそのまま生産工程に導入できないという問題がある。すでに生産工程が確立されており、全てのユーザーが同じ手順で細胞処理作業を行うのであれば、全自動が理想的ではあるが、現在の再生医療は発展途上の段階にあり、生産工程は確立されていないため、ユーザーごとに細胞処理作業の手順は異なっている。それにもかかわらず、汎用性や拡張性に欠ける全自動の装置を開発してしまったために、そのまま生産工程に導入することができないうえに、手順に合わせて装置をカスタマイズすることも困難な状況にある。その一方で、装置の仕様に合わせて手順を変更することも容易ではない。なぜなら、再生医療等製品の承認を取得するのに必要な各種データ収集は手作業での培養操作で行われており、生産工程を変更するには一部変更申請に新たなデータの取得が必要になるからである。

Table 1-2 の TECAN 製 Fluent および Freedom EVO は、使用するロボットアームや分注ヘッドを選択することで、分注操作や様々なプロセスを自動化できるが、無人での動作を前提とした装置である。また、安川電機製 LabDroid (幅=2,500 mm, 奥行=2,000 mm, 高さ=2,200 mm) [34]は、作業者が細胞処理作業を行う安全キャビネット内(幅=1,300 mm, 奥行=500 mm, 高さ=675 mm) [35]に収まらない。したがって、これらの装置も作業者と協働できるような設計ではないため、生産工程の一部を置き換える用途としては使用できない。

このような問題を解決するためには、全自動の培養装置ではなく、安全キャビネット内に設置可能であり、現在の生産工程を崩さずに作業者の培養操作を補助する装置が有効であると考えられる。余分な機能を削減してシンプルな構成にすることで、コストを抑えられるというメリットもある。



Fig. 1-1 Discarding task by humans.



Fig. 1-2 Injecting task by humans.

Table 1-1 Fully-automated cell culture systems.

Systems	Manufacturers	Components
- Compact SelecT[11]-[16] - Cellmate[17]	- TAP Biosystems	- Robot arm - Decapper - Pump - Incubator
- Biomek[18], [19]	- Beckman Coulter	- Liquid handler - Centrifuge - Incubator - Refrigerator
- Cellerity[20]	- TECAN	- Robot arm - Incubator - Refrigerator
- Automated culture system [21]	- Panasonic	- Robot arm - Centrifuge - Incubator - Refrigerator, Heater
- Automated culture system [22], [23]	- IHI - Yokohama City University	- Pump - Incubator - Refrigerator
- AUTO CULTURE[24], [25]	- Kawasaki Heavy Industries, Ltd. - National Institute of Advanced Industrial Science and Technology - Osaka City University - National Center for Child Health and Development	- Robot arm - Robot hand - Centrifuge - Incubator - Refrigerator
- ACE3[26]-[28]	- Hitachi, Ltd. - Tokyo Women's Medical University Hospital - CellSeed Inc.	- Pump - Incubator - Refrigerator
- Automated culture system [29]	- Osaka University	- Liquid handler - Pump - Incubator - Refrigerator, Heater

Table 1-2 Partially-automated cell culture systems.

Systems	Manufacturers	Components
- Fluent[30] - Freedom EVO[31]	- TECAN	- Liquid handler
- LabDroid Maholo[32], [33]	- YASKAWA Electric Corporation - National Institute of Advanced Industrial Science and Technology	- Dual-arm robot

1.3 システムコンセプトの提案とアプローチ

細胞処理の一連の作業には、ロボットや自動化機器の得意な作業と作業者が行った方が効率的な作業が混在している。したがって、細胞培養技術の特性や特徴に柔軟に対処できるよう、全ての作業をロボットや自動化機器に頼るより、むしろ手作業との組み合わせとを一体的に行えるシステムがより効率的、合理的に細胞培養技術に対応できると考える。また、前節で述べたように、現時点で製造販売承認を受けている再生医療等製品は、用手法による培養で承認を取得していることから、全自動の細胞培養装置より、人と協働する培養補助ロボットの方が導入しやすいと考えられる。そこで、本研究では、ロボットによる作業と手作業とを組み合わせ、単純な構成でかつ合理的に細胞処理作業を行う細胞処理システムを実現することを目的とする。

細胞処理作業を総合的に効率化するシステムを実現するためには、細胞処理における一つ一つの作業を抽出し、作業者とロボット・自動化機器の分担を判断したうえで、ロボット・自動化機器による効率化手法の検討と検証を行うアプローチが必要である。本研究の目指す効率化とは、作業時間の短縮（＝人件費の削減）である。細胞処理作業中の液だれの防止も作業時間短縮に繋がる。作業者がどれだけ慎重に作業しても液だれを完全に防ぐことは不可能で、さらに、慎重になればなるほど作業時間は長くなるため、手作業での効率化には限界がある。

本研究の具体的な流れを Fig. 1-3 に示す。まず、細胞処理作業の全ての作業を抽出し、ロボット・自動化機器により効率化する作業を決定する。次に、効率化する作業について分析を行い、ロボット・自動化機器による効率化方法として、作業者と同様の作業方法やロボット・自動化機器特有の作業方法などについて、検討と検証を実施する。効率化の対象とした作業のそれぞれについて、上記の作業分析と効率化方法の検討と検証を行う。一連の検証結果を踏まえ、作業者とロボット・自動化機器の分担・協調作業全体システムの概念検討とシステム提案と全体システムの具体化を行う。

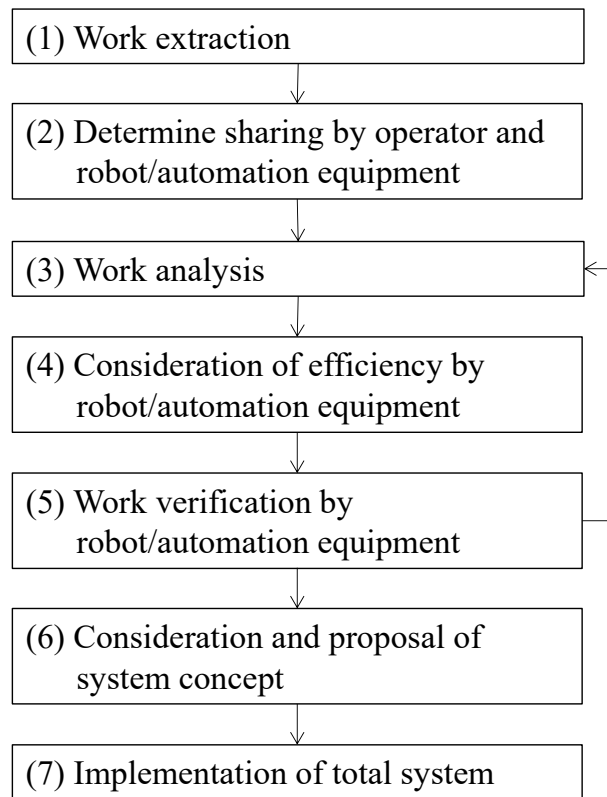


Fig. 1-3 Approach of this study.

1.4 本論文の構成

Fig. 1-3 の流れに沿って進めた研究成果をまとめた本論文の構成を Fig. 1-4 に示す.

第1章では、研究背景として再生医療を取り巻く環境について述べ、本研究のアプローチを示した。再生医療に用いられる細胞は、作業員による手作業で製造されており、その効率化が強く望まれている。既存の自動培養装置に関する現状の課題について分析した結果、再生医療の領域では全自動の細胞培養装置の導入が困難であったため、ロボットによる作業と手作業を組み合わせた細胞処理システムの実現を目指すことを目的とした。

第2章では、細胞処理における一つ一つの作業を抽出し、作業員とロボットの分担を判断する。ロボットによる効率化手法の検討対象として、細胞処理作業において重要な作業工程の一つである培地交換プロセスのなかの廃液作業と注液作業を選択した理由を説明するとともに、それらの作業をロボットにより自動化するメリットを示す。

第3章では、細胞処理作業従事者の廃液作業を観察することにより、廃液作業の作業分析を行い、その分析結果に基づいてロボットによる廃液作業の効率化手法を検討する。ロボットは作業員では不可能な方向にフラスコを退避することが可能であり、そのロボット特有の動作が液だれの防止に繋がることを明らかにする。ロボットにより培養液を排出する際の動作速度の組み合わせは実験計画法により決定する。また、検証実験により、ロボットは作業員より正確かつ効率的に廃液作業を行うことが可能であり、液だれによる廃液ボトル外の汚染のリスクを低減できる可能性があることを示す。

第4章では、細胞処理作業従事者の注液作業の作業分析を行ったうえで、ロボットによる注液作業の効率化手法を検討する。注液ボトルのキャップに吸気ポートと注液ポートを備えることで、注液ボトルから直接注液した場合にも一定流量での注液が可能となる。そして、ロードセルによりフラスコ内に注液された培養液量をリアルタイムに測定する仕組みを利用して、注液中の流量から停止タイミングを予測する注液アルゴリズムを開発する。さらに、注液ボトル内の残量の差に起因する誤差を抑えて注液精度の向上を図るため、注液アルゴリズムに補正を追加する。また、一連の検証実験により、注液作業においてもロボットは作業員より効率的に作業することが可能であり、液だれによるフラスコ外の汚染のリスクを低減できる可能性があることを示す。

第5章では、前章までに提案した廃液作業・注液作業の効率化手法を適用した、安全キャビネット内に設置可能な廃液装置・注液装置を開発する。まず、培地交換プロセスの作業分析を行い、培養補助ロボットとして廃液装置と注液装置を導入した場合に、ロボットの作業と手作業をどのように組み合わせれば効率的に作業できるのかを検討する。次に、廃液装置使用時の廃液時間測定、注液装置使用時の注液精度測定、培養補助ロボット導入時の所要時間測定を行う。作業員が単独で培地交換を行う場合は廃液プロセスと注液プロセスを順次行う必要があったが、培養補助ロボットを導入することで廃液プロセスと注液プロセスの並行作業が可能となるため、手作業の場合と比較して所要時間を半減できることを示す。

第6章では、各章をまとめて総括するとともに、本論文の結論を示す。

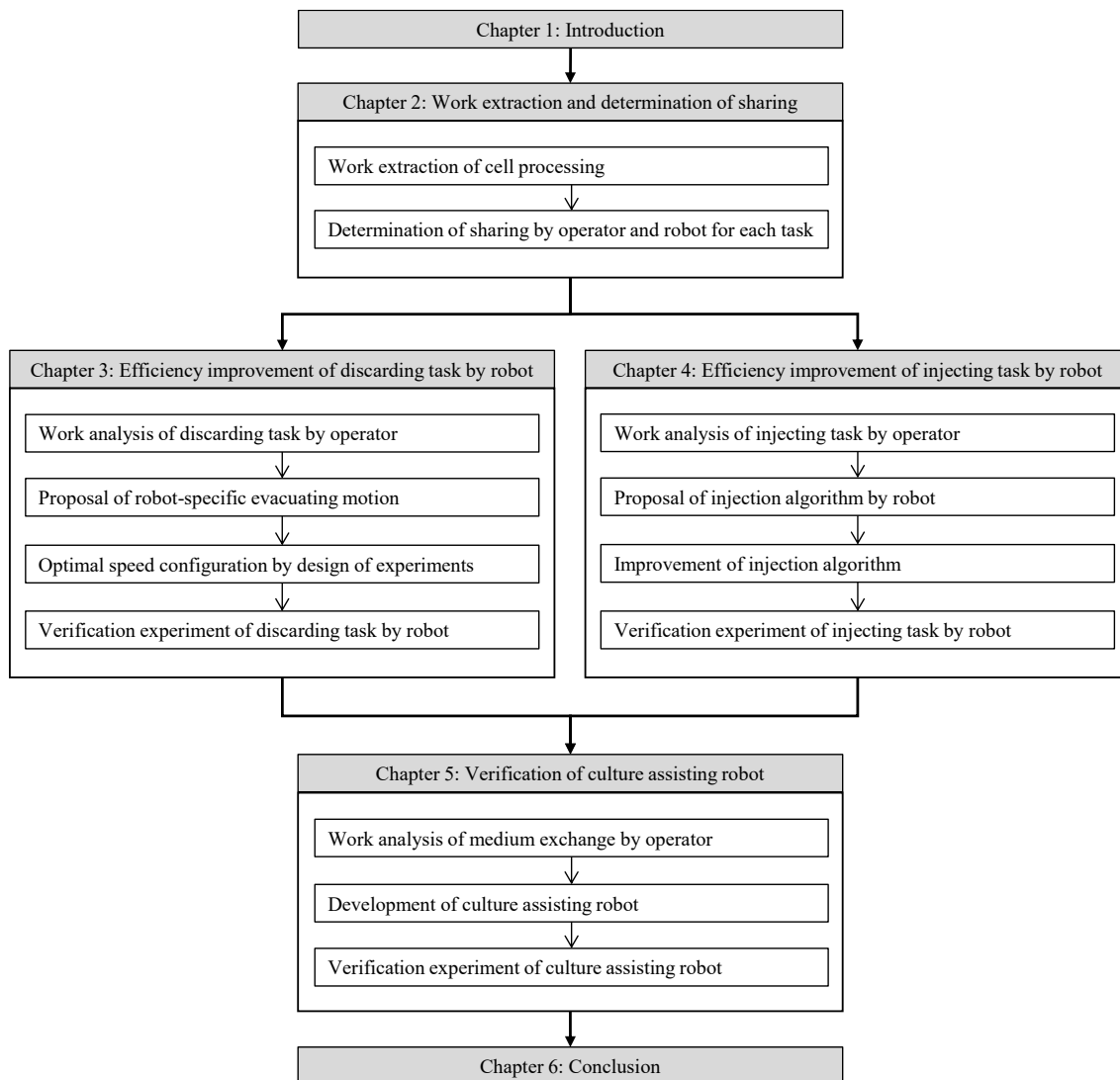


Fig. 1-4 Structure of this paper.

第2章 細胞処理作業の作業抽出とロボットの分担判断

前章では、既存の自動培養装置について調査を行い、現状の課題を分析した。再生医療等製品の生産工程がユーザーごとに異なることを踏まえると、全自動の培養装置よりも、人と協働で作業を行う培養補助ロボットの方が導入しやすいという考えに至った。

本章では、細胞処理作業を分解し、作業者とロボットの分担を決定するとともに、ロボットを使用する場合のメリットを示す。

2.1 細胞処理作業の作業分解

細胞処理作業の手順を Fig. 2-1 に示す。最初に、入手した細胞をフラスコに播種する。次に、複数回の培地交換を行い、継代を行い、さらに複数回の培地交換を行う。その後、継代と培地交換を繰り返し、最後に、培養した細胞を回収する[36]。

一般的な細胞処理作業では、細胞増殖に必要な成分を維持するために、数日ごとに培養液の交換を繰り返す必要がある。無菌環境下での大量培養では、この培地交換に要する時間が生産管理面での重要要素となる。そのため、培地交換を効率的に行うことが、作業全体の効率化に繋がると言える。継代は培地交換の次に実施頻度が高いが、タッピングにより細胞を剥離する作業、遠心により細胞を沈殿させて上清を除去する作業、ピペッティングにより細胞を懸濁する作業などは、作業者が細胞を観察しながら行う必要があるため、ロボットより作業の方が得意と考えられる。

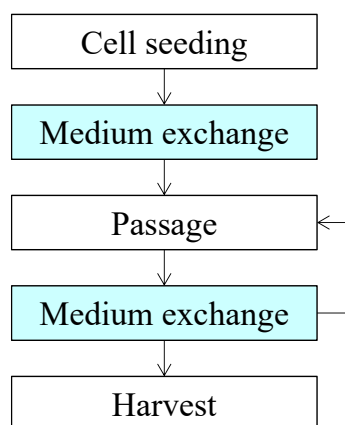


Fig. 2-1 Cell processing procedure.

2.2 培地交換プロセスの作業分解

培地交換プロセスの手順を Fig. 2-2 に示す。安全キャビネットの中で、フラスコ内の培養液を排出し、新たな培養液をフラスコ内に注入する一連の作業であり、フラスコ把持・キャップ取外し・廃液作業・キャップ取付けから成る廃液プロセス、フラスコ把持・キャップ取外し・注液作業・キャップ取付けから成る注液プロセス、フラスコ搬入・搬出・移送から構成されている。

培地交換の作業方法、フラスコ数、フラスコ内の培養液量などは、ユーザーによって異なる。本研究では、作業者と支援者の2名による作業を想定する。作業者は安全キャビネット内の作業を担当し、支援者は安全キャビネット外の作業を担当する。支援者が培養液の入ったフラスコを搬入すると、作業者がフラスコ内の培養液の廃液および新鮮な培養液の注液を行い、支援者が注液後のフラスコを搬出する。1回の培地交換では、8フラスコ単位の廃液と注液を5セット繰り返すことで、40フラスコの培養液を入れ換える。フラスコ内の培養液量を75 mlとし、培養液の吸引・注入作業には50 mlのピペットを使用する。その際、一度に注液可能な培養液量は50 mlのため、先に50 mlずつ注液した2枚のフラスコに対して25 mlずつ注液するといった手順が必要になる。

再生医療等製品の製造に関する実務経験年数が10年の細胞処理作業従事者が、手作業で培地交換を実施したところ、40フラスコの培地交換にかかった時間は43分16秒であった。各作業の時間配分は、Fig. 2-3, Table 2-1 に示すように、廃液プロセスが10分46秒(25%)、注液プロセスが26分44秒(62%)、フラスコ搬入・搬出が5分46秒(13%)であった。フラスコの搬入・搬出を自動化するには、安全キャビネットやインキュベーターのカスタマイズが必要になり、ロボットが大掛かりになってしまう。また、所要時間は培地交換全体の13%と短いため、ロボットによる効率化のメリットは小さい。一方、廃液プロセスと注液プロセスは安全キャビネット内で完結する作業であり、ロボットを小型化できる可能性が高い。また、所要時間は培地交換全体の87%を占めているため、ロボットによる効率化のメリットは大きい。

廃液プロセスと注液プロセスの所要時間には、キャップ脱着やフラスコ操作の時間も含まれている。作業者は無意識にキャップの傾きや高さを調整しながら脱着を行っており、キャップがしっかり締まっていない場合に容易に気付くことができるが、ロボットがそのような微調整や異常検知を行うのはそれほど容易ではない。また、廃液プロセスと注液プロセスの大部分を占め、かつ細胞培養の品質にかかわるのは廃液作業と注液作業であるため、キャップ脱着は手作業でも問題ないと考えられる。そして、作業者がキャップ脱着を行う場合、その流れで作業者がフラスコ操作を行う手順が効率的である。したがって、培地交換プロセスの廃液作業と注液作業をロボットの分担とする。廃液作業と注液作業は、コンタミネーションリスクの低減の観点から液だれの無い作業が求められるうえ、開放状態となる時間を短くする必要性から速やかな作業が求められるが、動作としては単純であるため、ロボットが得意な作業と考えられる。

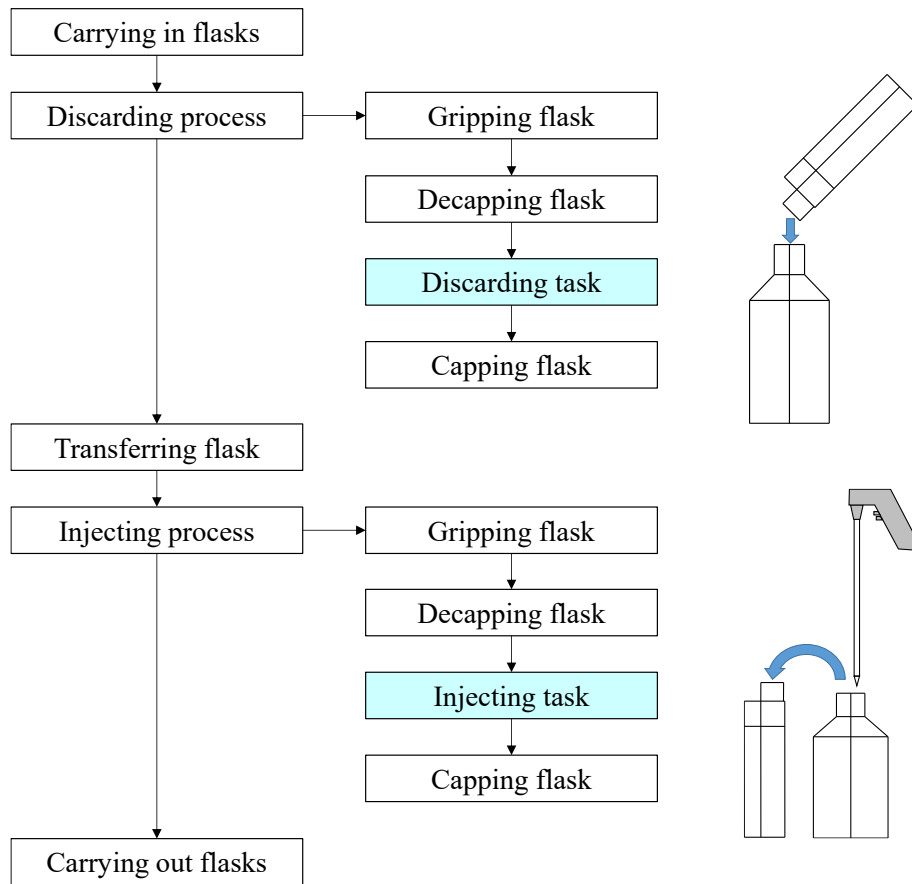


Fig. 2-2 Media change procedure.

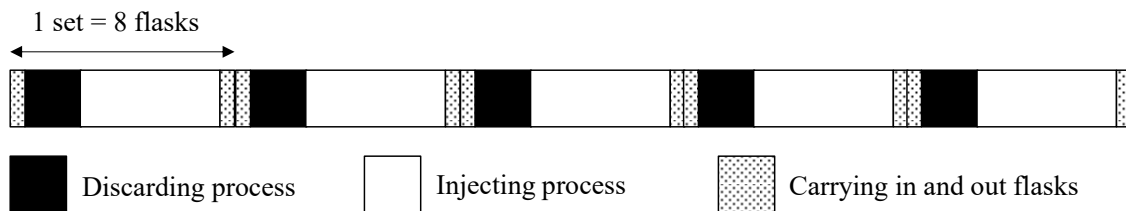


Fig. 2-3 Time distribution of media change by humans (five sets).

Table 2-1 Time distribution of media change by humans (five sets).

Discarding process	Injecting process	Carrying in and out flasks	Total time
10 min 46 s (25%)	26 min 44 s (62%)	5 min 46 s (13%)	43 min 16 s (100%)

2.3 廃液作業および注液作業を自動化するメリット

ロボットを使用する一つ目のメリットは、液だれの防止である。手作業で液だれを防ぐことは難しく、2.2 節では実務経験豊富な細胞処理作業従事者が作業したにもかかわらず、40 フラスコの培地交換中に 1 回の液だれが発生した。廃液作業中や注液作業中に液だれが発生した場合、コンタミネーションが起きないように、こぼれた培養液をしっかりと拭き取らなければならない。また、注液作業中であればピペットの交換も必要になる。廃液作業や注液作業を手作業で行う場合、作業者の手ブレによる液だれリスクがあるが、ロボットで作業を行う場合、対象の部材を正確に誘導することで液だれリスクを低減できる。さらに、ロボット特有の軌道や作業方法を選択することで、液だれを防止できると考える。

廃液作業におけるフラスコの退避方向を Fig. 2-4 に示す。フラスコの退避方向は、廃液作業から注液作業への作業の流れを考慮して、前方・後方と表現した。作業者は滴下姿勢から後方退避しかできないが、ロボットは前方退避も可能である。後方退避では滴がフラスコ排出口の内周部、端面部、外周部へ移動する現象が発生することがあるが、前方退避では外周部への滴の移動を阻止できる。

作業による注液作業では、注液ボトルの培養液を吸引したピペットをフラスコまで移動する際に、ピペット先端からの滴の落下や、ピペット先端の他の機材への接触が起こることがある。そのため、ロボットの先端に注液ボトルを取り付け、注液ボトルから直接注入することとする。ロボットによる注液作業を Fig. 2-5 に示す。作業者が同じ方法で正確な量を注入することは困難だが、ロボットはロードセルを用いた注液量の制御が可能である。作業者は 50 ml のピペットを使用するため、50 ml と 25 ml に分けて注液する必要があるが、注液ボトルから直接注入する方法では一度で 75 g の注液を行うことができる。使用する培養液により密度は異なるが、本研究では 75 g を目標値とする。

ロボットを使用する二つ目のメリットは、作業時間の短縮である。上述した作業方法では、廃液速度と注液速度が大幅に向上することはないため、作業単体ではそれほど時間を短縮できるわけではないが、培地交換プロセス全体で考えると大幅に短縮できる可能性がある。手作業の場合と培養補助ロボットを導入した場合の培地交換の時間配分を Fig. 2-6 に示す。手作業の場合は廃液プロセスと注液プロセスを順次行う必要があるが、ロボットを使用することで各プロセスを並行して行うことができる。

このように、ロボットを使用した廃液作業と注液作業により液だれの防止と作業時間の短縮が可能となり、本研究の目指す効率化を実現できると考えられる。安全キャビネット内のフラスコ移送経路を Fig. 2-7 に示す。廃液作業におけるフラスコの前方退避により、液だれを防止できるだけでなく、次工程となる注液作業へのフラスコ移送が速やかに行えるようになる。安全キャビネット内のスペースを考慮すると、ロボットを使用した並行作業は 1 名で行う必要があるが、手作業であれば 2 名による並行作業も可能である。ロボットを使用した並行作業により作業時間を半減できれば、2 名で 20 フラスコずつの培地交換を手作業で行う場合と同等の時間短縮効果が得られるうえに、1 名分の人件費削減になる。

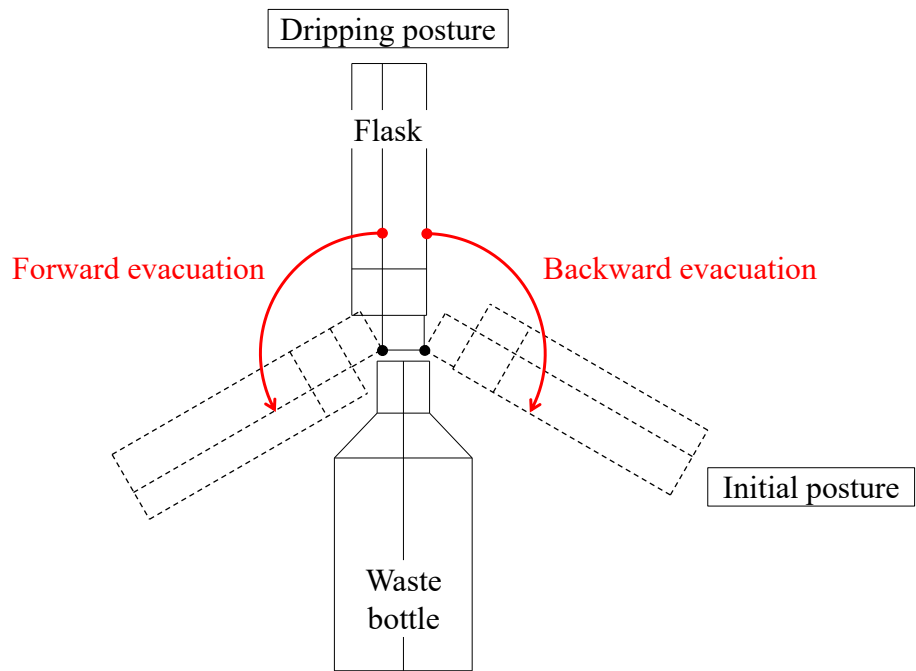


Fig. 2-4 Evacuation direction of discarding task.

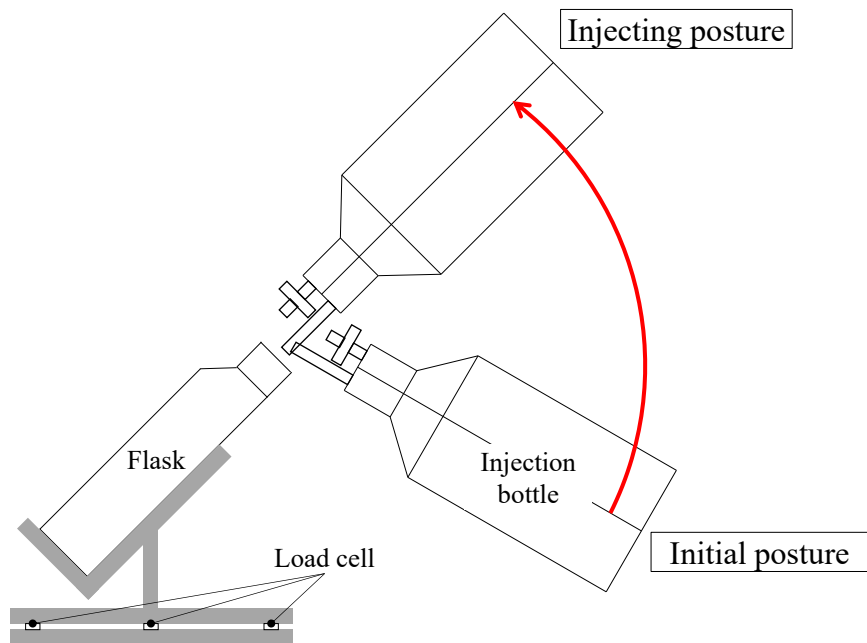


Fig. 2-5 Injecting task performed by the robot.

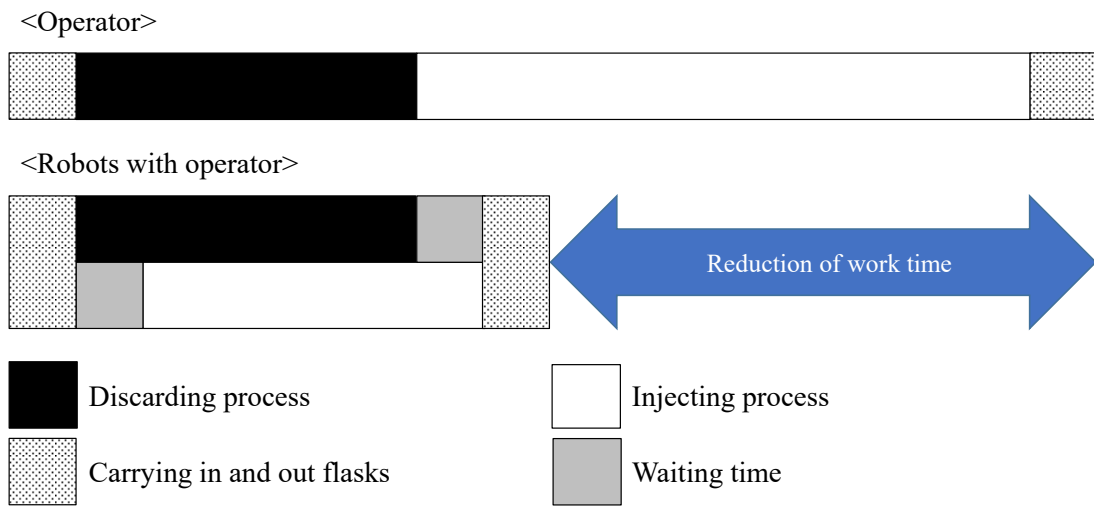


Fig. 2-6 Time distribution of the media change.

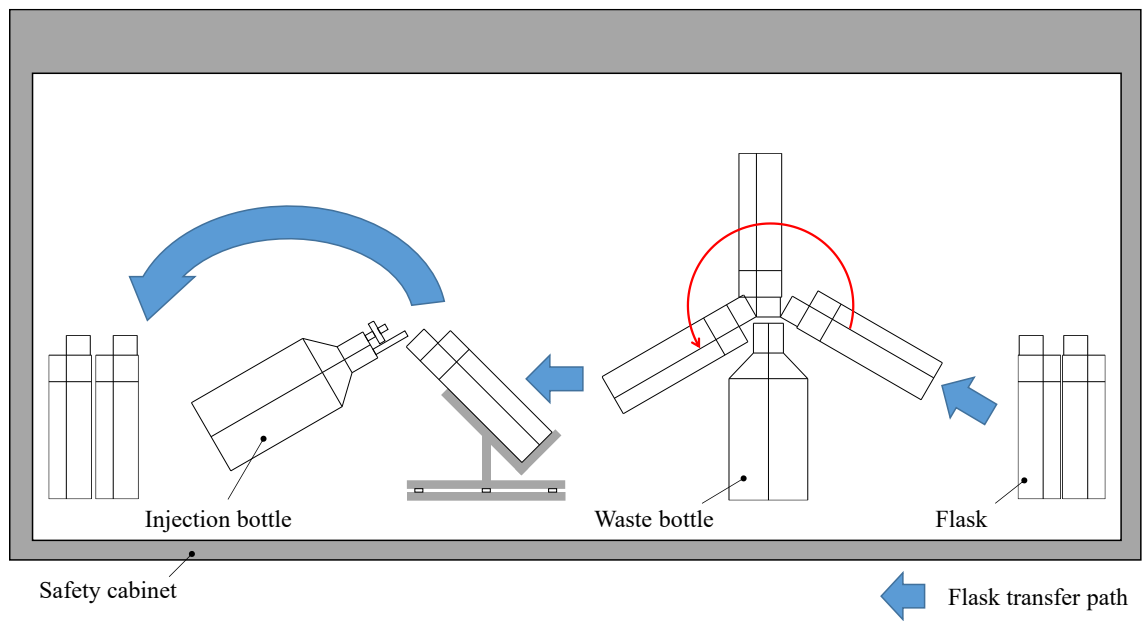


Fig. 2-7 Flask transfer path in a safety cabinet.

2.4 まとめ

細胞処理作業を構成する一つ一つの作業を抽出し、ロボットと作業者の分担を検討した結果を以下にまとめる。

- 細胞処理作業のなかで、特に重要かつ実施頻度が高いのは、継代と培地交換である。継代は作業者の方が得意と考えられるが、培地交換にはロボットが得意な作業も含まれている。
- 培地交換プロセスのなかで、フラスコ操作とキャップ脱着は作業者の分担とし、廃液作業と注液作業はロボットの分担とする。
- ロボットを使用した廃液作業と注液作業により、液だれの防止と作業時間の短縮が可能である。

第3章 ロボットによる廃液作業の効率化

前章では、細胞処理作業を分解し、作業者とロボットの分担を判断した。その結果、培地交換プロセスのなかの廃液作業と注液作業を、ロボットによる効率化の対象とした。

本章では、廃液作業にフォーカスし、手作業による廃液作業の作業分析を行ったうえで、ロボットによるフラスコ内の培養液の廃液作業の効率化手法を提案するとともに、その有効性を検証する。検証では、作業時間と液だれの有無を確認する。Fig. 2-6 に示したように、並行作業による時間短縮効果が大きいいため、ロボットによる廃液作業時間は手作業と同等以下であれば良い。廃液作業単体で考えた場合、作業時間の短縮よりも液だれを防止できることの方が重要である。ロボットによる作業は均一であり、正確な作業を繰り返すことが可能なため、スキルや経験による個人差や疲労による作業ミスが生じない点も大きい。

3.1 廃液作業の作業分析

廃液作業の作業分析として、細胞処理作業従事者が、実際の培地交換プロセスにおいてフラスコ内の培養液 75 g を排出する廃液作業、および、未経験者が 75 g の水道水の入った T500 フラスコを把持し、角型の廃液ボトルへ、水道水を排出した時の廃液作業について、ビデオ映像を観察した。その結果、廃液作業は、①排出動作、②滴下動作、③退避動作の3つの動作に分解することができることが分かった。

①排出動作はフラスコを上向きに水平から 30 deg 程度傾いた初期姿勢からフラスコを回転させ、フラスコ内の培養液または水道水を排出するまでの動作である。

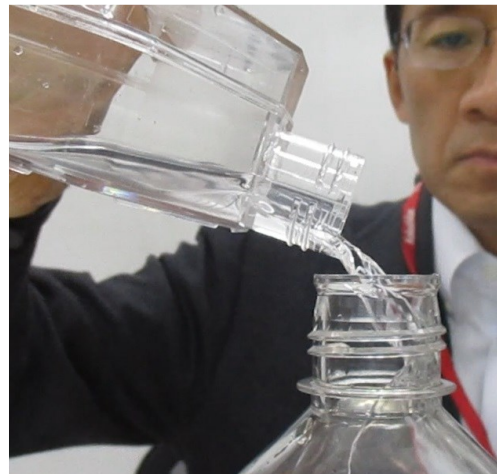
②滴下動作は、培養液または水道水の排出後、フラスコをほぼ倒立姿勢で滴を滴下させている動作である。

③退避動作は、滴下が完了し、フラスコをほぼ倒立姿勢から、フラスコを上向きに水平から 30 deg 程度（排出動作開始時と同じ姿勢）まで姿勢を誘導する動作である。

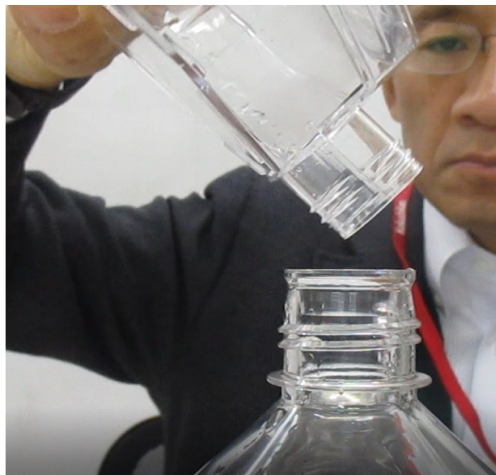
Fig. 3-1 に未経験者の場合のそれぞれの動作姿勢を示す。また、Table 3-1 に、細胞処理作業従事者および未経験者の場合の①排出動作、②滴下動作、③退避動作および廃液作業（①+②+③）のそれぞれの作業時間を示す。各時間は 10 fps のビデオ映像をもとに小数点以下 1 桁の精度で計測した値である。Table 3-1 は、廃液作業を 8 回実施した際の平均値を示している。滴下動作においては、未経験者に比べ細胞処理作業従事者のほうが、培養液の残量をより少なくし、液だれのリスクを低減させるために慎重に滴下動作を行っているが、概ね同等の作業時間となっていることが確認できる。①排出動作の傾向として、排出動作を開始してから培養液または水道水がフラスコから排出し始めるまでの回転動作は比較的速く、排出中は低速の回転動作、さらに、排出が概ね完了する後半から滴下動作開始までは再び回転動作が速くなることが観察された。また、②滴下動作においては、フラスコをほぼ倒立姿勢の停止状態にし、滴を滴下させる上下の動作も加えられている。最後の③退避動作は、高速の回転動作となっている。



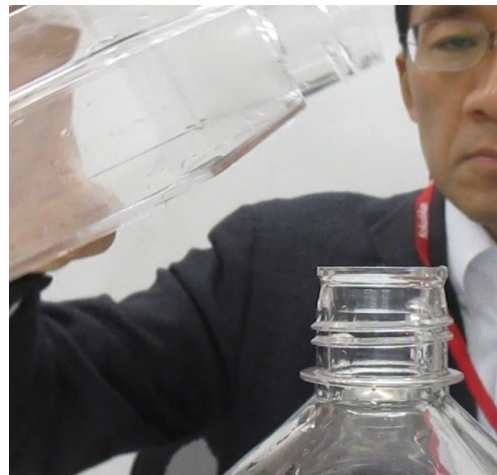
①Initial position



①Draining motion



②Dripping motion



③Evacuating motion

Fig. 3-1 Discarding task flow by human (beginner).

Table 3-1 Discarding task time (avg.).

Operator	①Draining motion [s]	②Dripping motion [s]	③Evacuating motion [s]	Total time [s]
Expert	6.4	4.7	0.7	11.8
Beginner	6.6	3.2	1.0	10.7

3.2 ロボットによる廃液作業の効率化手法

3.2.1 ロボットによる廃液動作の構成

3.1 節の細胞処理作業従事者および未経験者（両者を合わせて作業者と呼ぶ）の廃液作業の分析を参考に、ロボットで廃液作業を実施する際においても、①排出動作、②滴下動作、③退避動作と対応させることで、廃液作業の基本動作を実現することを検討し、さらに、ロボットと作業者の違いに着目し、廃液作業の効率化の検討を行う。

Fig. 3-2 にロボットによる廃液作業の一連の動作の流れを示す。Fig. 3-3 に示すようにフラスコの排出口の排出側端部を TCP(Tool Center Point)とし、TCP を回転中心とした回転軸による姿勢変化のみで排出動作を行う。さらに、TCP を回転中心とした回転軸を 6 軸垂直多関節ロボットの第 6 軸の回転軸と一致または平行かつ近傍に配置させることで、第 6 軸のみまたは第 6 軸が支配的となる動作で排出動作を行うことが可能となる。3.1 節の「①排出動作の傾向」を参考に、排出動作開始から排出開始までを第 1 高速回転動作、排出開始から排出前半までを低速回転動作、排出後半から滴下動作開始までを第 2 高速回転動作に分解した。②滴下動作は、フラスコを倒立させた姿勢で停止状態とする。③退避動作は、作業者と同様に、滴下が完了し、フラスコをほぼ倒立姿勢から、フラスコを上向きに水平から 30 deg 程度（排出動作開始時と同じ姿勢）まで姿勢を誘導する動作で、高速動作とする。

退避方向は、作業者の場合、後方退避動作（初期姿勢方向）しか行うことしかできないが、ロボットの場合、動作範囲（特に第 6 軸）を 360 deg 以上確保することは容易なため、前方退避動作が可能であり、ロボットならではの退避動作である。排出動作ではフラスコ排出口の排出側端部を TCP としたが、前方退避では排出動作と反対側の端部を TCP とし、TCP を回転中心とした姿勢変化のみで退避する。なお、退避方向が前方の場合、前方退避動作においてフラスコと廃液ボトルが干渉する場合には、必要に応じて最小限の並進動作を含めた退避動作を行う。前方退避動作ができることで、次工程への速やかな移行や液だれリスクの低減などの効果を見込むことができる。それ以外の液だれリスクを低減する方法としては、例えば、赤外線センサーを用いて点滴の滴下を検出する方法[37]や、落下する液滴をカメラで撮影して流量を計測する方法[38]のように、フラスコからの培養液の滴下を検出して退避のタイミングを決定する方法も可能であるが、システムが複雑化してしまうため採用しない。

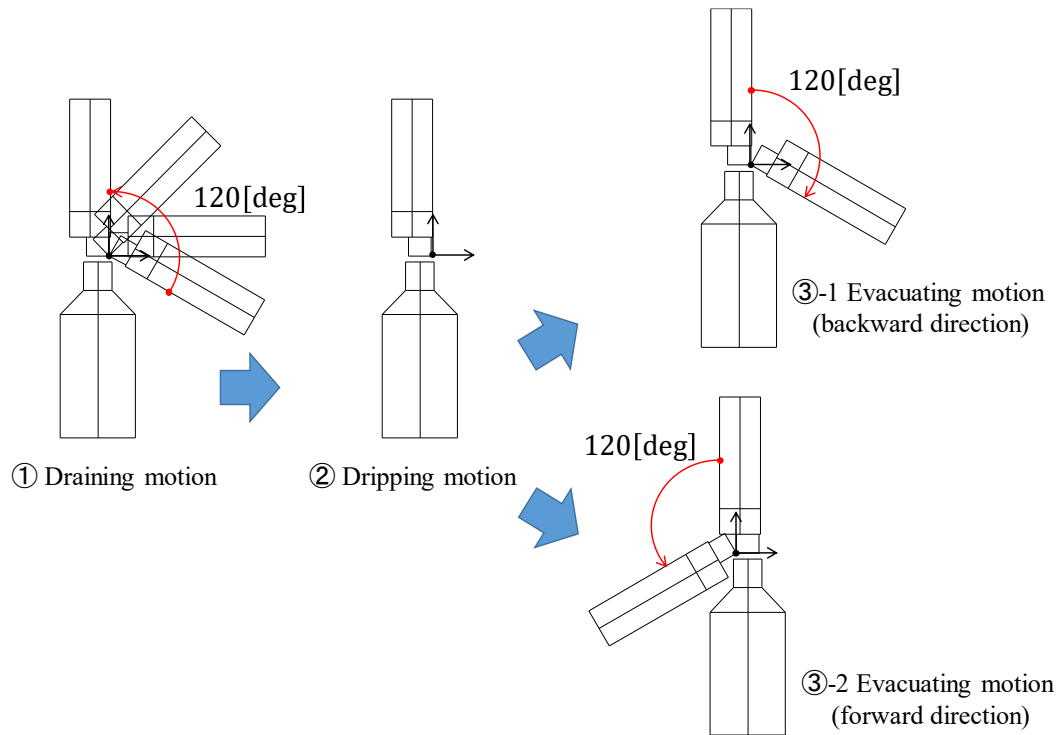


Fig. 3-2 Discarding task flow by robot arm.

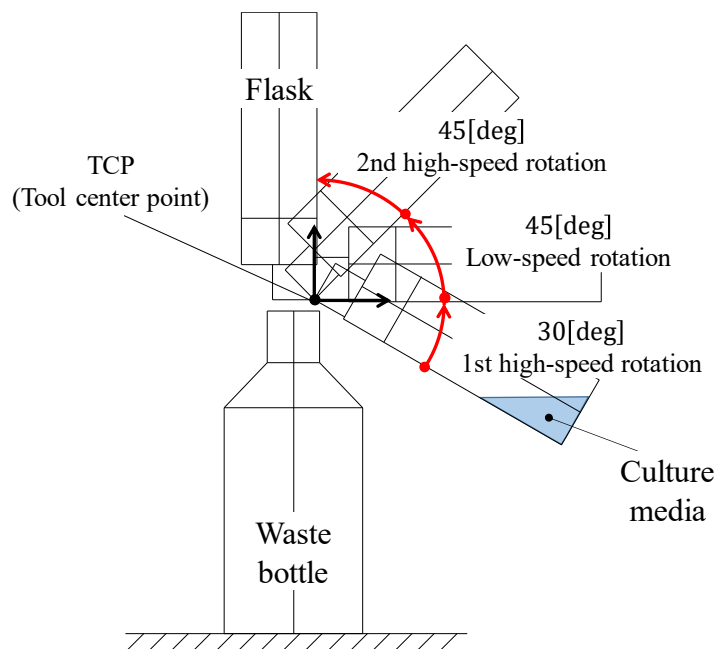


Fig. 3-3 TCP (Tool Center Point) and draining motion.

3.2.2 実験計画法による最適速度の決定方法

ロボットによる排出動作を実現するために、第1高速回転動作、低速回転動作、第2高速回転動作の動作速度を設定する必要がある。Table 3-1 をもとに、ロボットによる排出時間が作業者と同程度以下になることを想定し、第1高速回転動作を 32 deg/s～54 deg/s、低速回転動作を 11 deg/s～22 deg/s、第2高速回転動作を 32 deg/s～54 deg/s の範囲に設定した。最も遅い組み合わせの場合に作業者と同等の排出時間（6.5 秒）となり、最も速い組み合わせの場合に作業者の半分程度の排出時間（3.5 秒）となるように、各速度の範囲を設定した。

ロボットによる排出動作の動作速度は、実験計画法により決定する。実験計画法は最適なパラメータの組み合わせを効率良く調べることができる統計的手法であり、あらゆる分野で利用されている[39]-[42]。実験計画法における 3 水準系直交表 $L_9(3^4)$ を参考[43], [44]に、Table 3-2 に示す 9 通りの組み合わせで排出動作を行う。9 回の実験により、3.5 秒～6.5 秒の範囲の 27 通りの組み合わせから最適な設定を選択できるため、実験回数に見合った情報が得られると言える。Table 3-2 の各時間は回転する角度と角速度を用いて小数点以下 1 桁の精度で算出した値である。排出動作をビデオで撮影し、排出動作開始から排出動作終了、その後、倒立姿勢の停止状態として、滴下状態の観察および排出時間の測定を実施する。排出時間の測定結果から、主効果の速度要因分析を行う。たとえば、第1高速回転動作の場合は、No.1～No.3, No.4～No.6, No.7～No.9 の平均排出時間が、32 deg/s, 43 deg/s, 54 deg/s の主効果を表すことになるので、それらを比較することで第1高速回転動作の3種類の速度の中から最適速度を抽出することができる。同様の方法で低速回転動作、第2高速回転動作の3種類の速度の中から最適速度を抽出することができる。それぞれのそれらの最適速度の組み合わせが最適な排出動作ということになる。なお、Table 3-2 に示す 9 通りの組み合わせについて各 1 回の実験を行うことで、3 回分の実験データの平均値を考慮した最適速度の決定が可能となる。

Table 3-2 Speed setting combination of draining motion.

No.	Angular velocity [deg/s]			Time [s]			Draining time (desired value) [s]
	1st high-speed	Low-speed	2nd high-speed	1st high-speed	Low-speed	2nd high-speed	
1	32	11	32	0.9	4.2	1.4	6.5
2	32	16	43	0.9	2.8	1.0	4.7
3	32	22	54	0.9	2.1	0.8	3.8
4	43	11	43	0.7	4.2	1.0	5.9
5	43	16	54	0.7	2.8	0.8	4.3
6	43	22	32	0.7	2.1	1.4	4.2
7	54	11	54	0.6	4.2	0.8	5.6
8	54	16	32	0.6	2.8	1.4	4.8
9	54	22	43	0.6	2.1	1.0	3.7

3.2.3 液だれの発生パターンとその回避策の方針

液だれの発生現象は，①排出動作時の廃液ボトル外への排出，②退避動作時の廃液ボトル外への排出，③退避動作時の排出口の縁だれの3種類が考えられる。

液だれパターン①：排出動作時の廃液ボトル外への排出は，排出動作の勢いで廃液ボトル外へ培養液が飛び散る現象である。排出動作による培養液のフラスコ内移動速度に起因するため，低速回転動作の上限を設定することで回避可能と考えられる。

液だれパターン②：退避動作時の廃液ボトル外への排出は，前方退避の途中に滴の慣性の影響で廃液ボトルの前方に滴が落ちる現象である。退避動作時の排出口の動作速度による培養液の加速や退避動作開始前の残量に起因するため，退避速度の上限および滴下時間を設定することで回避可能と考えられる。

液だれパターン③：退避動作時の排出口の縁だれは，後方退避の途中に滴が内周部，端面，外周部へ移動する現象である。滴下タイミングに起因するが，前方退避により外周部への滴の移動を阻止することで回避可能と考えられる。

3.2.4 実験システム

Fig. 3-4 に実験システムの外観を示す。実験は国士舘大学世田谷キャンパス 7 号館 3F で実施する。ロボットは 6 軸垂直多関節型産業用ロボット：安川電機製 MOTOMAN®-MH3F（第 1 アーム：260 mm，第 2 アーム：270 mm）を用いた。コントローラーは RTLinux 環境をベースとしたシステムであり，加減速は矩形駆動で行っている。オープンアーキテクチャを採用した研究用のロボットシステムであるため，加減速などの仕様は変更できないが，制御アルゴリズムの検証には適している。なお，T500 フラスコ（サーモフィッシャー社製）の排出口は，外径 $\phi 28.2$ mm，内径 $\phi 25.8$ mm，厚さ $t=1.2$ mm，廃液ボトルの排出口は外径 $\phi 34.2$ mm，内径 $\phi 29.4$ mm，厚さ $t=2.4$ mm である。

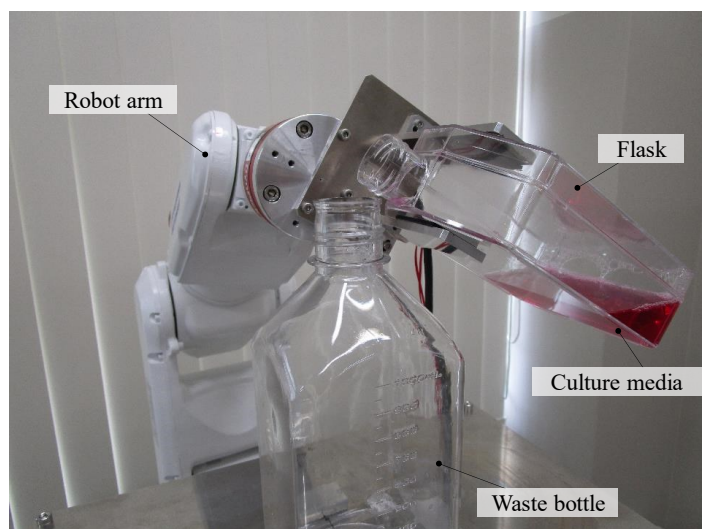


Fig. 3-4 Experimental equipment configuration of discarding task.

3.3 効率化手法の廃液作業への適用

3.3.1 水道水への適用

排出動作の最適速度の組み合わせは、粘度や表面張力などの培養液の性質によって異なる可能性がある。培養する細胞によって使用する培養液は異なるため、液体の性質の違いが最適速度の決定に影響を与えるかどうかを確認する必要がある。そこで、水道水と培養液を用いて実験を行い、それぞれの最適速度を確認する。

3.2 節で示したロボットによる効率化手法を水道水の廃液作業に適用し、Table 3-2 に示す組み合わせについて水道水 75 g の排出動作を行った。Table 3-3 に排出動作時間と滴下時間の結果を示す。各時間は 25 fps のビデオ映像をもとに小数点以下 2 桁の精度で計測した値である。排出動作時間は、排出動作を開始してから第 2 高速回転動作が完了するまでの時間、最終滴下時間は、排出動作を開始してから滴下が完了（滴が落ちなくなる）までの時間、また、 n 回前時間は、最終滴下時間から n 回前までの滴下時間である。Table 3-3 の結果について、最終滴下までの時間配分を Fig. 3-5 に、排出動作の主効果の速度要因分析結果を Fig. 3-6 に示す。その結果、主効果による速度要因分析では、第 1 高速回転動作は 32 deg/s、低速回転動作は 16 deg/s、第 2 高速回転動作は 43 deg/s の組み合わせ時に、最終滴下時間が最も早くなる、すなわち、排出動作に対して最も効率的な速度設定という結果が得られた。最終滴下時間を比較した場合、1 回分の実験データでは No.2 より No.4 の方が短い、速度要因分析により 3 回分の実験データの平均値を考慮すると No.4 より No.2 の方が短いと言える。なお、低速回転動作が 22 deg/s の設定においては、排出時の流出速度が速く、液だれパターン④により廃液ボトルからの流出が生じた。低速回転動作が 11 deg/s、16 deg/s については、廃液ボトルから流出することなく廃液が可能であった。

上記結果から、Table 3-4 に示す速度設定とした。速度指令上は 4.7 秒で排出動作を実施できる。Table 3-4 に示す速度設定で排出動作を行った時の第 6 軸の角度および角速度（それぞれ指令値およびフィードバック値）を Fig. 3-7 に示す。排出動作を開始してから約 5 秒で排出動作が完了していることを確認できる。

Table 3-3 Results of draining time and dripping time.

No.	(1) Draining time [s]	(2) 4th dripping time from last [s]	(3) 3rd dripping time from last [s]	(4) 2nd dripping time from last [s]	(5) Last dripping time [s]	Interval from (2) to (3) [s]	Interval from (3) to (4) [s]	Interval from (4) to (5) [s]
1	6.63	9.20	10.20	11.50	14.22	1.00	1.30	2.72
2	4.82	8.77	9.87	11.27	12.49	1.10	1.40	1.22
3	3.91	8.71	9.84	11.24	12.28	1.13	1.40	1.04
4	6.00	8.52	9.42	10.60	12.20	0.90	1.18	1.60
5	4.38	8.31	9.38	10.76	12.70	1.07	1.38	1.94
6	4.25	10.53	12.60	15.72	17.65	2.07	3.12	1.93
7	5.63	10.68	12.53	15.00	16.63	1.85	2.47	1.63
8	4.78	9.28	10.88	13.11	16.50	1.60	2.23	3.39
9	3.75	8.50	9.90	11.88	14.75	1.40	1.98	2.87

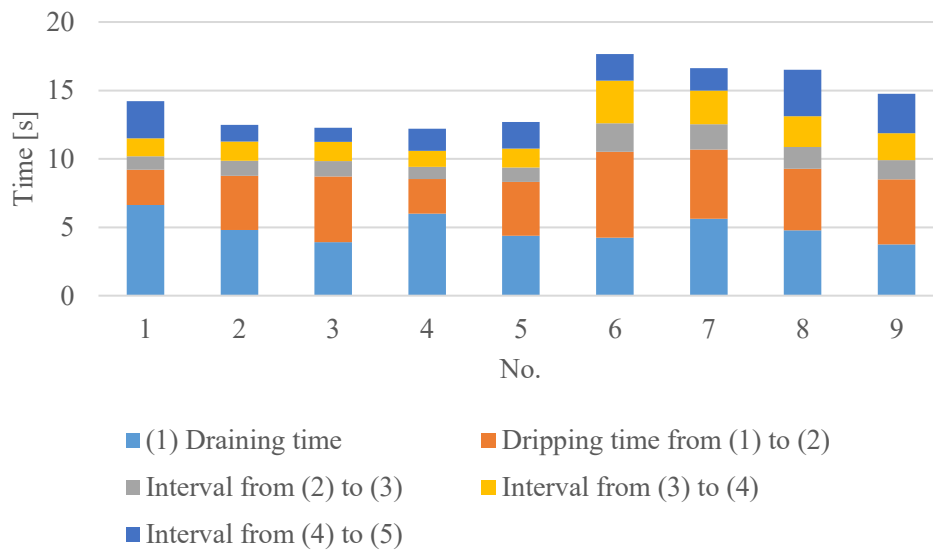
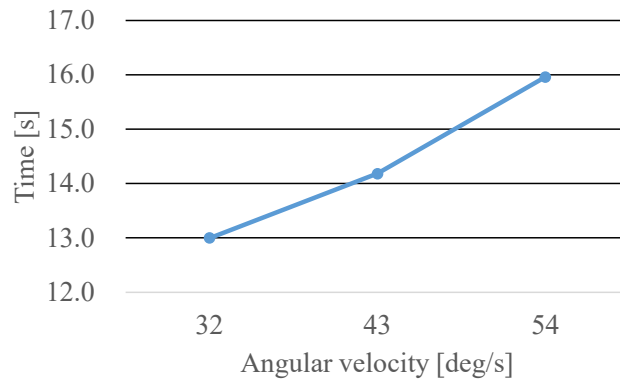
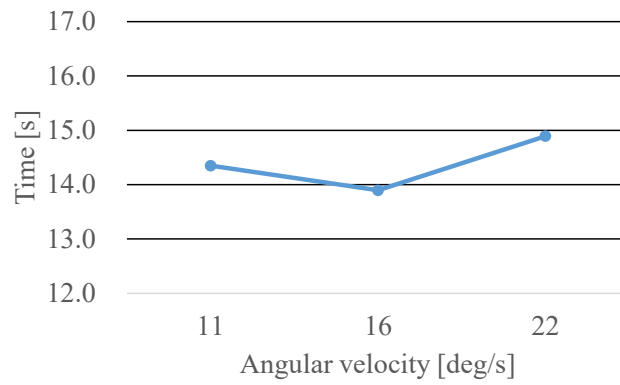


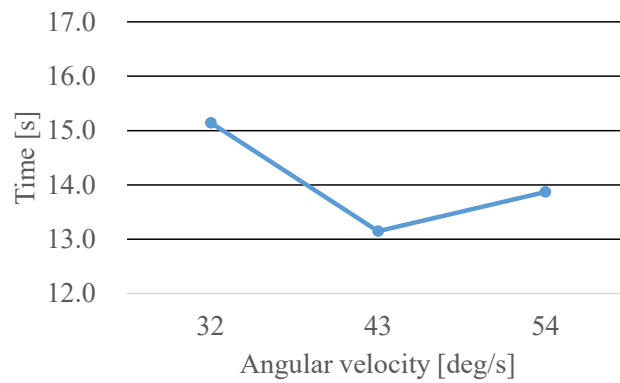
Fig. 3-5 Time to last dripping time.



(a)



(b)



(c)

Fig. 3-6 Analysis for speed factor of draining motion. (a) Last dripping time of 1st high-speed rotation. (b) Last dripping time of low-speed rotation. (c) Last dripping time of 2nd high-speed rotation.

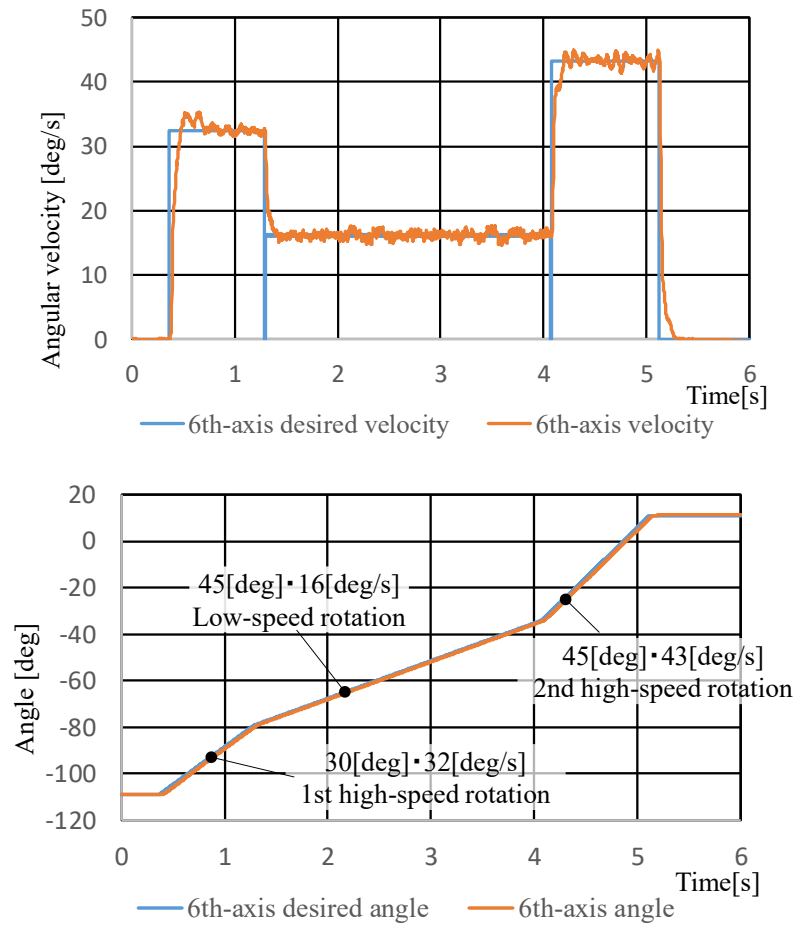


Fig. 3-7 6th angle and angular velocity during draining motion.

Table 3-4 Speed setting of draining task.

Angular velocity [deg/s]			Time [s]			Draining time (desired value) [s]
1st high-speed	Low-speed	2nd high-speed	1st high-speed	Low-speed	2nd high-speed	
32	16	43	0.9	2.8	1.0	4.7

3.3.2 培養液への適用

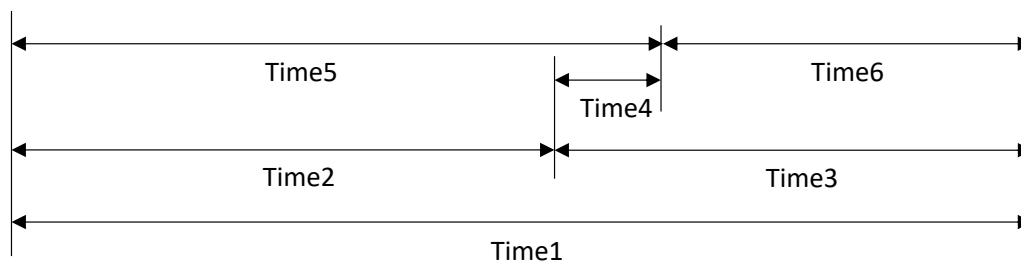
前項と同様に、Table 3-2 に示す組み合わせについて培養液 75 g の排出動作を行った。培養液は水道水と比較して粘度が高く、また、フラスコ面に対して濡れ性が良く薄く広がるため、フラスコ内を移動する速度が遅く、滴下までに時間がかかる。培養液はおおむね排出が完了した後も滴下が 30 秒以上長時間続くため、水道水のように排出時間を明確に測定することができない。そこで、排出動作後の滴下間隔に注目し、排出動作後に滴下間隔が 1 秒になるまでの時間を計測した。その結果を Table 3-5 に示す。

Table 3-5 の結果をもとに排出動作の主効果の速度要因分析を行い、排出動作と滴下動作の時間配分について分析した結果を Fig. 3-8, Table 3-6 に示す。Table 3-5, Table 3-6 の各時間は 25 fps のビデオ映像をもとに小数点以下 2 桁の精度で計測した値である。時間 1 は排出開始から滴下間隔が 1 秒になるまでの時間、時間 2 は排出開始から排出終了までの時間、時間 3 は排出終了から滴下間隔が 1 秒になるまでの時間、時間 4 は排出終了から最小残量になるまでの時間、時間 5 は排出開始から最小残量になるまでの時間、時間 6 は最小残量になってから滴下間隔が 1 秒になるまでの時間、である。最小残量は、排出終了から滴下間隔が 1 秒になるまでの時間が最も少ないケースの排出終了時の残量を意味する。Table 3-6 の時間 2, 時間 4, 時間 6 の時間配分を Fig. 3-9 に示す。

最も効率的なのは時間 1 および時間 5 が最短となる速度構成(第 1 高速回転動作=54 deg/s, 低速回転動作=22 deg/s, 第 2 高速回転動作=54 deg/s) であるが、その速度構成で廃液作業を実施したところ液だれパターン④が発生した。また、排出終了時点での残量が最小となるのは時間 3 が最短となる速度構成(第 1 高速回転動作=54 deg/s, 低速回転動作=11 deg/s, 第 2 高速回転動作=32 deg/s) であるが、その速度構成で廃液作業を実施したところ液だれは発生しなかった。

Table 3-5 Time until dropping interval is 1 second.

No.	Draining time [s]	Start draining ~ Dropping interval is 1 second [s]	Stop draining ~ Dropping interval is 1 second [s]
1	6.60	10.32	3.72
2	4.88	9.36	4.48
3	3.96	8.71	4.75
4	6.00	9.80	3.80
5	4.44	8.67	4.23
6	4.28	8.96	4.68
7	5.72	9.88	4.16
8	4.84	8.83	3.99
9	3.76	8.15	4.39



Time1: Start draining ~ Dropping interval is 1 second
 Time2: Start draining ~ Stop draining
 Time3: Stop draining ~ Dropping interval is 1 second
 Time4: Stop draining ~ Minimum remaining amount
 Time5: Start draining ~ Minimum remaining amount
 Time6: Minimum remaining amount ~ Dropping interval is 1 second

Fig. 3-8 Time allocation of draining motion and dripping motion.

Table 3-6 Time allocation of draining motion and dripping motion.

Motion	Angular velocity [deg/s]	Time1 [s]	Time2 [s]	Time3 [s]	Time4 [s]	Time5 [s]	Time6 [s]
1st high-speed	32	9.46	5.14	4.32	0.14	5.28	4.18
	43	9.14	4.90	4.24	0.06	4.96	4.18
	54	8.95	4.77	4.18	0.00	4.77	4.18
Low-speed	11	10.00	6.11	3.89	0.00	6.11	3.89
	16	8.95	4.72	4.23	0.34	5.06	3.89
	22	8.61	4.00	4.61	0.72	4.72	3.89
2nd high-speed	32	9.37	5.24	4.13	0.00	5.24	4.13
	43	9.10	4.88	4.22	0.09	4.97	4.13
	54	9.09	4.71	4.38	0.25	4.96	4.13

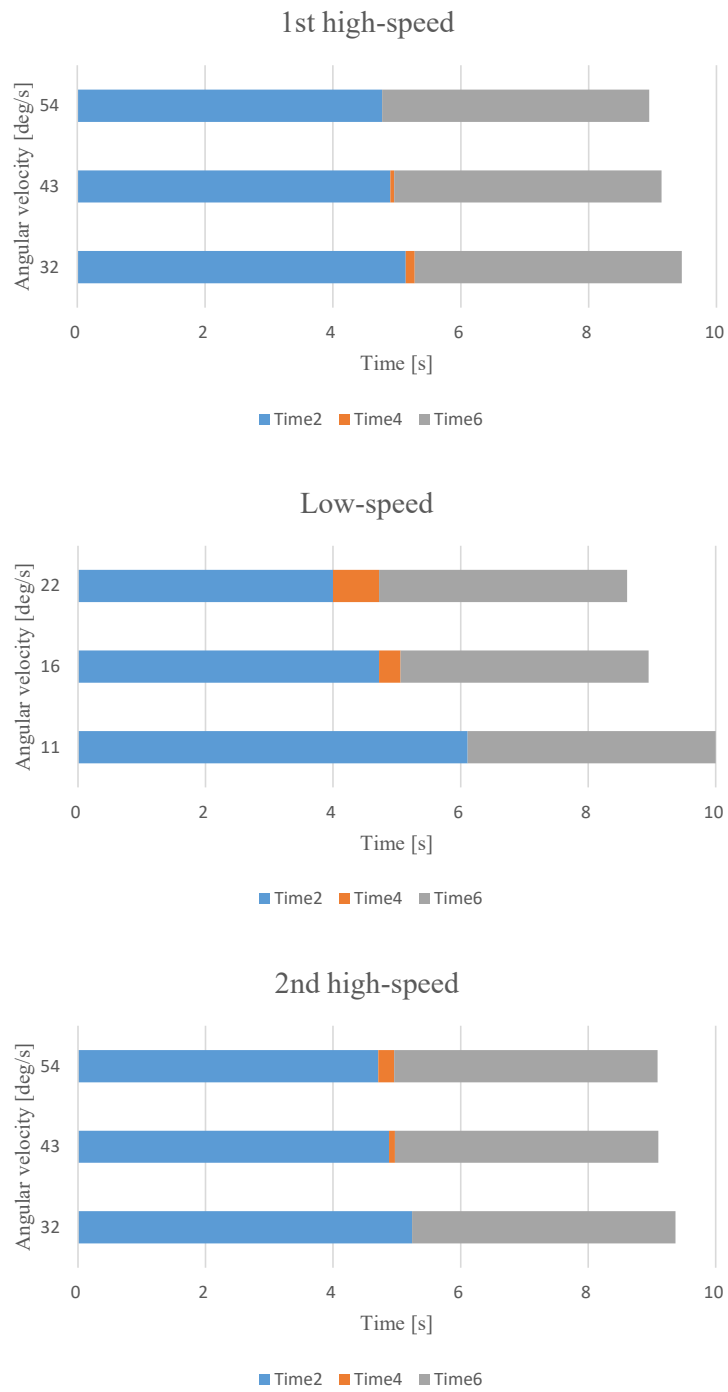


Fig. 3-9 Time allocation of Time2, Time4 and Time6.

3.4 効率化手法の廃液作業への適用に対する考察

3.4.1 水道水の廃液作業への適用に対する考察

効率化手法を水道水の廃液作業に適用した場合について考察する。3.3.1 項の Table 3-4 の速度設定とした場合、排出動作時間 4.8 秒、最終滴下時間 12.5 秒となり、排出動作が完了してから最終滴下完了するまでの時間は 7.7 秒となった。一方、作業者の動作分析によると、滴下時間は 3 秒～6 秒程度と短い。実際の培地交換プロセスにおいてフラスコ内の培養液を排出する際、細胞処理作業従事者は、培養液を完全に排出することより、液だれのリスクを低減させるために滴下動作を行っている。そこで、滴下動作を最終滴下が完了するまで、滴下動作（停止）をするのではなく、退避動作時にフラスコ外への液だれが生じないことを要求事項として、滴下動作（滴下時間）を設定する。

Table 3-4 で設定した速度で排出動作を実施した後、滴下動作、すなわち所定の停止時間を経た後に退避動作を行い、停止時間と液だれの有無についての検討を行った。停止時間 0 秒、1 秒、3 秒、5 秒、前方退避および後方退避の 8 通りの組み合わせについて、各 3 回一連の廃液作業を実施した。退避角度は初期姿勢と同様の水平から 30 deg、動作角度は 120 deg とした。また、退避速度は 108 deg/s とし、作業者と同等の作業時間の約 1 秒を確保した。その結果、いずれのケースにおいても、廃液ボトル外やフラスコの周囲に液だれが生じることなく、廃液作業を実施することができた。

ロボットによる廃液作業時間を Table 3-7 に示す。Table 3-7 の①排出動作、③退避動作の時間は、回転する角度と角速度を用いて小数点以下 1 桁の精度で算出した値である。Table 3-1 と比較した場合、排出動作を 2 秒程度、滴下動作を 4 秒程度短縮することが可能であり、排出動作の作業時間を 1 回当たり最大 6 秒程度短縮できる見込みが得られた。なお、前述のように滴下動作は、培養液の液だれのリスクを回避させるのが主たる目的であるため、滴下動作によって滴単位で培養液を完全に排出する必要はなく、ロボットによる滴下動作を 0 秒～1 秒程度に設定しても特に問題はない。

上記結果から、ロボットで廃液作業を行う場合、作業者が実施する場合に比べて、短い滴下時間でも液だれが生じないことが確認できた。Fig. 3-10 に作業者による廃液作業時のフラスコ排出口の軌跡と姿勢を示す。作業者の場合、退避動作時にフラスコ排出口が上方に大きく動作することで、滴の慣性の影響で液だれリスクが高くなるものと思われる。一方、ロボットで作業を実施する場合、作業者に比べて、フラスコの排出口の排出側端部（TCP）を正確に誘導することができる。排出動作および滴下動作、退避動作の一連の動作において、後方退避動作の場合、TCP の空間位置を変動させず誘導できる。前方退避動作においても、フラスコ外へ滴下しない軌道を生成することは容易である。また、前方退避動作は、基本的に液だれパターン◎が生じにくい軌道である。参考として、ロボットによる廃液作業において退避動作時に、TCP を斜め上方へ移動させながら、退避回転動作を行ったところ、4 秒程度の滴下動作では、フラスコ外へ液だれが生じることが確認された。

Table 3-7 Discarding task time by robot arm.

①Draining motion [s]	②Dripping motion [s]	③Evacuating motion [s]	Total time [s]
4.7	0~3	1.1 (108[deg/s])	5.8~8.8

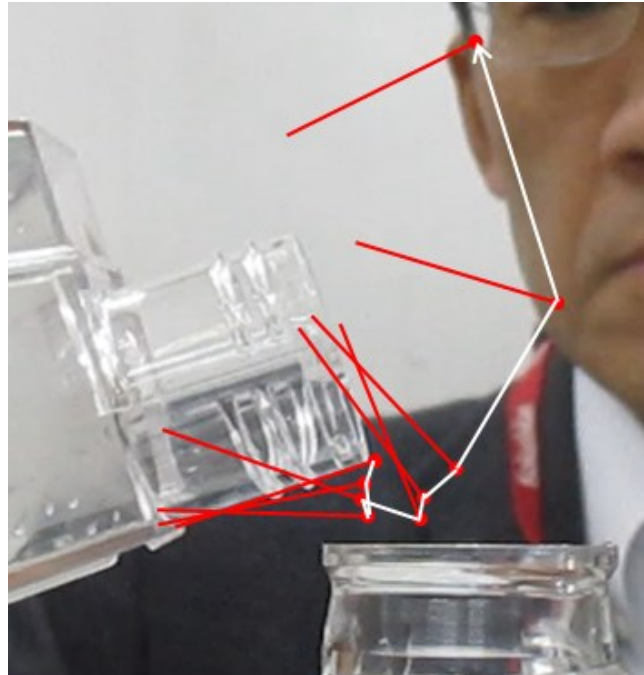


Fig. 3-10 Tracks and posture during discarding task.

3.4.2 培養液の廃液作業への適用に対する考察

効率化手法を培養液の廃液作業に適用した場合について考察する。3.2.3 項の液だれ発生現象の分析結果を参考にして、3.3.2 項で示した最も効率的な速度構成（第 1 高速回転動作=54 deg/s, 低速回転動作=22 deg/s, 第 2 高速回転動作=54 deg/s）で、液だれが発生しない条件を検討する。3.3.1 項の結果から、低速回転動作を 22 deg/s に設定すると液だれパターン④が発生するため、16 deg/s に変更する。また、液だれパターン⑤のリスクを減らすために、退避速度を 108 deg/s から 54 deg/s に変更する。それ以外にも、第 2 高速回転動作が 54 deg/s と 43 deg/s では廃液作業の合計時間にほとんど差がないことから、液だれパターン⑤のリスクを少しでも減らすために 43 deg/s に変更する。さらに、3.3.2 項で示したように残量が最小となる速度構成で液だれが発生していないことから、最小残量になるまでの待ち時間を設定する。それぞれの速度構成の違いは低速回転動作と第 2 高速回転動作であるが、時間 4 の差分の合計が 0.43 秒となるため、切り上げて 0.5 秒を滴下時間とする。したがって、第 1 高速回転動作を 54 deg/s, 低速回転動作を 16 deg/s, 第 2 高速回転動作を 43 deg/s, 滴下時間を 0.5 秒, 退避速度を 54 deg/s とした組み合わせが、培養液の廃液作業の最適条件となる。その条件で、廃液作業を 10 回実施したが、液だれは一度も発生しなかった。

水道水と培養液では最適速度の組み合わせが異なることがわかった。液体の粘度や表面張力などの性質によって最適速度が異なるのであれば、培養液の種類を変更する際には最適速度の再設定が必要になる。したがって、3.2.2 項で示したように、少ない実験回数で最適速度を決定する手法の重要性が高まる。

廃液作業時間の比較を Table 3-8 に示す。ロボットの廃液作業時間は、廃液対象が水道水から培養液に変わることによって 1.3 秒長くなったが、作業者と比較すると 4.7 秒短かった。1 回当たりの短縮時間は秒単位であるが、廃液作業は培地交換プロセスのなかでも極めて頻度の多い作業のため効果は大きく、ロボットによる廃液作業は作業者と比べて、より効率的に行うことができると言える。

Table 3-8 Comparison of discarding task time.

Operator	Object	Draining motion [s]	Dripping motion [s]	Evacuating motion [s]	Total time [s]
Expert	Culture media	6.4	4.7	0.7	11.8
Beginner	Water	6.6	3.2	1.0	10.7
Robot	Water	4.7	0	1.1	5.8
	Culture media	4.4	0.5	2.2	7.1

3.4.3 培養液量と廃液速度の関係に対する考察

ロボットによる廃液作業のなかで、培養液が排出されるのは主に排出動作の低速回転動作のときである。よって、低速回転動作の速度は培養液量によって調整可能と考えられる。3.4.2 項では、培養液 75 g の場合、低速回転動作は 16 deg/s が最適であることが示された。そこで、単位時間当たりの排出量が一定となるように、培養液量 75 g からの増減率をもとに、式(3-1)に示す培養液量と低速回転動作の関係式を導いた。

$$L \cdot \dot{\theta} = L_R \cdot \dot{\theta}_R \quad (3-1)$$

上式において、 L は培養液量 (g)、 $\dot{\theta}$ は低速回転動作の角速度 (deg/s)、 L_R は基準培養液量 75 g、 $\dot{\theta}_R$ は基準低速回転動作の角速度 16 deg/s である。前項で得られた結果を適用し、第 1 高速回転動作を 54 deg/s、低速回転動作を $\dot{\theta}$ deg/s、第 2 高速回転動作を 43 deg/s、滴下時間を 0.5 秒、退避速度を 54 deg/s とし、25 g～141 g の範囲で培養液量を変化させ排出動作を行った。その結果、培養液量 25 g の場合のみに液だれパターン④が発生したが、培養液量 25 g と 49 g の中間の 37 deg/s にしたところ、液だれの発生はなくなった。さらに、上記速度設定で培養液量ごとに 3 回ずつ実験を実施し、液だれが発生しないことを確認した。培養液量と低速回転動作の速度の関係を Fig. 3-11 に示す。培養液量が約 40 g～約 140 g の範囲では、単位時間当たりの排出量が一定となると仮定した式(3-1)で示す低速回転動作の速度を適用することで液だれの発生しない排出動作が可能であることが確認できた。なお、基準培養液量からの差が大きい培養液量の場合、フラスコと廃液ボトルの位置関係や排出角度の影響により、液だれパターン④が発生するリスクが高まる。また、培養液量が少なく低速回転動作の速度が速い場合、排出終了時点のフラスコ内の残量が多く、液だれパターン⑤が発生するリスクが高まるが、培養液量が少ない場合は滴下時間を長くすることで液だれリスクを低減できると考えられる。

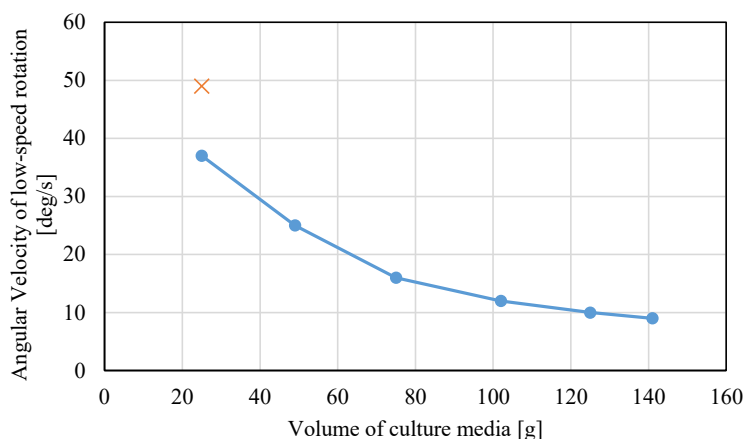


Fig. 3-11 Relationship between volume of culture media and angular velocity of low-speed rotation.

3.5 まとめ

細胞処理作業のなかで重要な作業工程の一つである培地交換プロセスにおいて、特に作業者の感覚動作に頼っている廃液作業に着目し、廃液作業の分析を行い、その分析に基づきロボットによる廃液作業を実施し、ロボットによる作業メリットについて検討し、以下の結果が得られた。

- 廃液作業は、排出動作、滴下動作、退避動作から構成されており、さらに、排出動作は、第1高速回転動作、低速回転動作、第2高速回転動作から構成されている。
- 排出動作時の各動作速度は、実験計画法の手法を適用することで、効率的な速度設定が可能である。
- ロボットによる排出動作は、フラスコの排出口の排出側端部をTCPとし、TCPを回転中心とした姿勢変化のみの軌道により実現できる。
- ロボットによる滴下動作は、ブレの無い軌道での誘導が可能のため、作業者より短時間での滴下動作が可能であるとともに、液だれリスクを低減できる。
- ロボットによる退避動作は、作業者には不可能な前方退避が可能である。これにより、次工程に対して効率的な動作や液だれのリスクが低減できる。
- ロボットによる培養液の廃液作業の条件は、第1高速回転動作を 54 deg/s、低速回転動作を 16 deg/s、第2高速回転動作を 43 deg/s、滴下時間を 0.5 秒、退避動作を 54 deg/s に決定した。検証実験では、ロボットは作業者より 4.7 秒短い時間で、液だれなく廃液作業を実施できた。
- 廃液作業において、培養液が排出されるのは主に排出動作の低速回転動作のときであり、単位時間当たりの排出量が一定となるように低速回転動作の角速度を設定することが可能である。

上記結果により、ロボットによる廃液作業は作業者と比較し、より効率的に行うことが可能であり、液だれによる廃液ボトル外の汚染のリスクを低減することが可能であることが示唆された。

第4章 ロボットによる注液作業の効率化

前章では、培地交換プロセスのなかの廃液作業の作業分析を行い、ロボットによる効率化手法の検討および検証を行った。その結果、ロボットは作業員より効率的に廃液作業を行うことが可能であり、液だれのリスクを低減できることを確認した。

本章では、培地交換プロセスを構成するもう一つの重要な要素である注液作業にフォーカスし、手作業による注液作業の作業分析を行ったうえで、ロボットによる注液作業の効率化手法を提案するとともに、その有効性を検証する。検証では、作業時間、液だれの有無、注液精度を確認する。廃液作業の場合と同様に、ロボットによる注液時間は手作業と同等以下であれば良い。それよりも、液だれなく作業員と同等以上の精度で注液を繰り返すことが求められる。

4.1 注液作業の作業分析と自動化方法の検討

実際の注液作業において細胞処理作業従事者は、電動ピペットを用いて注液ボトル内の培養液を吸引後、フラスコ内に注液する作業を行っている。通常、1セット8個のフラスコに対してそれぞれ75gの培養液を $\pm 2\%$ の精度で注液している。5セット分の作業分析をしたところ、1セット当たり約320秒の作業時間を要しており、1フラスコ当たりの注液作業時間は約40秒という結果が得られた。注液プロセスには、ピペットによる培養液の吸引・注液作業のほかに、フラスコのキャップの取外し・取付け作業、液だれした培養液を拭き取る作業、ピペットの交換作業なども含まれている。

注液作業に対する要求事項は、短時間に液だれなく培養液を正確にフラスコ内に注液することである。再生医療以外の分野でも注液作業の自動化は進められているが、作業時間や注液精度の要求が異なるため、細胞処理作業の注液作業への適用は難しい。例えば、消毒剤自動分注装置の研究では、所要時間を半減できたものの、送液チューブ取付け時の個人差や送液チューブの劣化により注液量が不足する傾向にあった[45]。医療用の輸液ポンプは、最大流量が1,200 ml/h程度と小さいため、75gの培養液を注液するには225秒程度を要する。さらに、誤差が $\pm 3\% \sim 10\%$ 程度と大きいうえに、チューブの伸展や長期間の使用による誤差、投与開始初期の誤差も報告されている[46]-[48]。自動注湯装置の研究では、ティーチング・プレイバック制御等を採用しており、注液量を正確に制御することは困難である[49]-[52]。

注液方法としては、ピペットによる注液、ポンプによる注液、注液ボトルからの直接注液などが考えられる。現状と同じように、ピペットによる注液作業をロボットで再現しようとした場合、ピペット操作が複雑であることや、ピペット先端からの液だれリスクが高いという問題がある。また、ポンプによる注液作業を自動化しようとした場合、1セットごとプライミングが必要となり効率的ではない。それに対して、注液ボトルから直接フラスコへ注液する方法の場合、作業員が液だれなく正確に注液することは非常に困難であるが、ロボットの正確な軌道制御と注液量の制御により、液だれリスクを低減し、かつ、作業時間を短縮できる可能性がある。

そこで、ロボットの先端に注液ボトルを取り付け、注液ボトルから直接注入する方法を検討する。注液量の制御方法としては、注液量を一定にするあらかじめ決められた所定の動作により注液する方法（たとえば、注液時間を固定にする方法）、手首部に力覚センサーを取り付けて注液した量を計測して制御する方法、フラスコ内に注液された量を計測して制御する方法などが考えられる。注液時間を一定にする方法では、流量が異なる条件が存在した場合に注液量の誤差が大きくなるという問題がある。また、手首部の力覚センサーで注液量を計測する方法では、注液ボトル内の培養液量は測定できるが、必ずしもフラスコ内に注液された培養液量を測定しているとは限らないという問題がある。さらに、力覚センサーの計測値には、培養液（500 g 程度以上）やハンド部および注液ボトルなどの重量および慣性力が含まれるため、分解能や精度が低下し正確な注液量を把握することは困難である。よって、フラスコ内に注液された量を計測して制御する方法、たとえば、ロードセルを用いてリアルタイムで注液された量を測定しながら注液する方法が最適と考える。

4.2 ロボットによる注液作業自動化の構成検討

4.2.1 注液動作

実験システムの外観を Fig. 4-1 に、注液量の制御方法を Fig. 4-2 に示す。注液終了を判定する注液アルゴリズムは4.3 節に示す。実験は国士舘大学世田谷キャンパス 7 号館 3F で実施する。注液ボトルをロボット先端に固定し、注液ボトルの排出口を TCP (Tool Center Point) とし、TCP を中心とした姿勢変化のみで T500 フラスコへの注液作業を行う。さらに、ロボット第 6 軸の回転軸と TCP を一致させることで、アーム全体の複雑な軌道制御を必要とせず、第 6 軸の回転動作のみで注液作業を行うことが可能となる。ロボットは 6 軸垂直多関節型産業用ロボット: 安川電機製 MOTOMAN®-MH3F (第 1 アーム: 260 mm, 第 2 アーム: 270 mm) を用いた。繰り返し位置決め精度 (JIS B 8432 に準拠) は ± 0.03 mm であり、液だれを防ぐには十分な精度を有していると考えられる。コントローラーは、RTLlinux 環境をベースとしたシステムである。フラスコ側面に培養液を当てることで、注液した培養液の泡立ちを抑えるため、45 deg 傾けた台の上にフラスコを乗せる。台の下にはロードセル (共和電業製 LMA-A-5N) を 3 個設置し、それらの合計値により注液量を求める。

Fig. 4-3 にロボットによる注液作業の軌道を示す。ロボットによる注液作業は、①注液開始動作、②注液動作、③注液終了動作の 3 段階に分けて行う。①注液開始動作は、注液ボトルを上向きに水平から 30 deg (注液ボトルをセットする際に培養液がこぼれない角度) 傾いた初期姿勢から、下向きに水平から 45 deg 傾いた姿勢に回転し、注液を開始する動作である。②注液動作は、注液ボトルを下向きに水平から 45 deg 傾いた姿勢で停止した状態で、注液する動作である。③注液終了動作は、注液ボトルを下向きに水平から 45 deg 傾いた姿勢から初期姿勢に戻し、注液を終了する動作である。液だれなく、かつ、スムーズな動作を実現するために、注液開始動作速度を 32 deg/s とした。また、注液終了動作速度は、動作時間を短縮し、かつ、アームの振動や培養液の泡立ちを低減するために 108 deg/s とした。

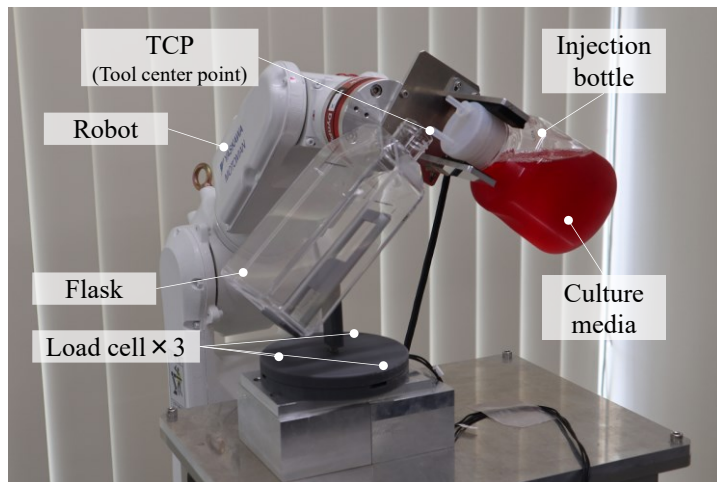


Fig. 4-1 Experimental equipment configuration of injecting task.

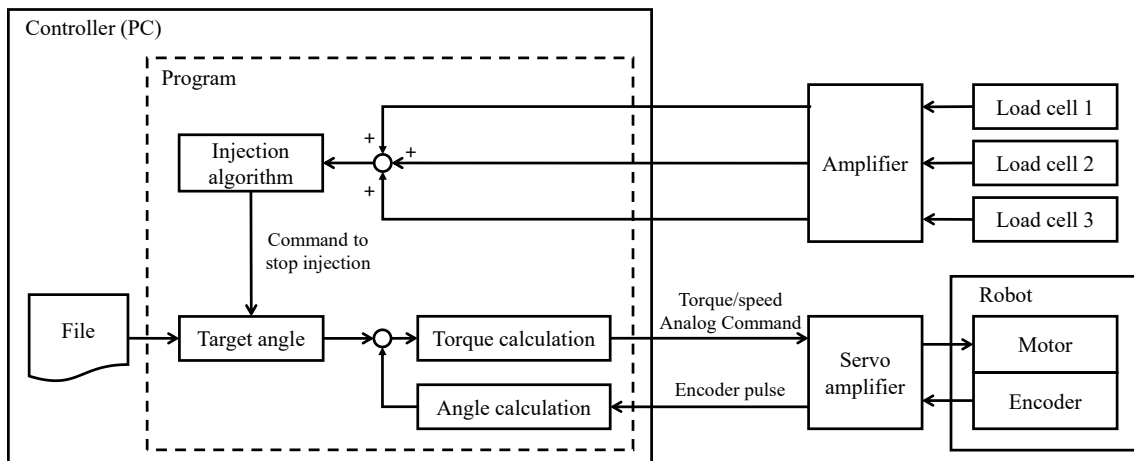


Fig. 4-2 Control method of injection volume.

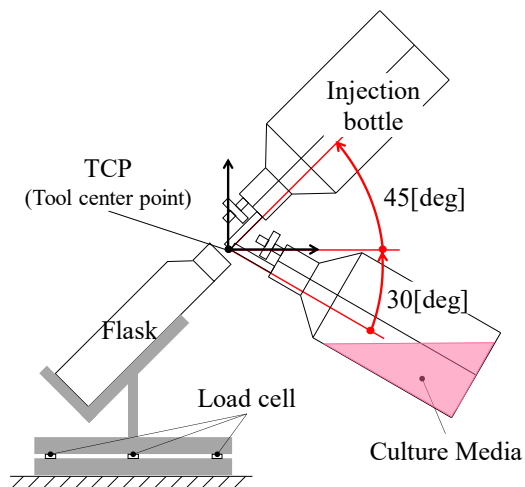


Fig. 4-3 TCP (Tool Center Point) and injecting task.

4.2.2 吸気ポートと注液ポートの構成

注液ボトルからの直接注液において、注液精度を向上させるためには、流量を一定に保つ必要がある。そこで、注液ボトルのキャップとして、Fig. 4-4のように、吸気ポートと注液ポートを備えたものを3Dプリンターにより製作した。吸気ポートは、外側からの空気は通すが、内側からの培養液は通さない、Fig. 4-5のワンウェイバルブと同じ役割を果たす。

Fig. 4-6の(A)と(B)の条件で、注液動作中の流量を測定する。(A)はFig. 4-4の構成であり、(B)は吸気ポートを内側に100 mm長くしたものである。480 gの培養液を全て注液したときの流量および注液量をFig. 4-7, Fig. 4-8に示す。注液量はロードセルからの入力信号にローパスフィルターを適用して算出し、流量は10 ms間隔の注液量から算出した。(B)に関しては、培養液と水道水の両方で実験を実施した。Fig. 4-7, Fig. 4-8より、培養液と水道水の流量および注液量はほぼ同等であることがわかる。

(A)では、注液中に注液ボトル内の圧力が下がり負圧になるが、この負圧力は残量とともに小さくなり、注液ボトル内の圧力は大気圧に近づいていく。そのため、注液中に注液ポート先端にかかる圧力および流量はほぼ一定となる。しかし、(B)のように吸気ポートが培養液面から出ている場合、注液ボトル内は大気圧となるため、注液ボトル内の培養液の残量によって流量は変わる。

上記結果から、(A)の構成は注液開始および終了を除いた区間で流量がほぼ一定となっているため、注液量の制御に適した方法であると言える。

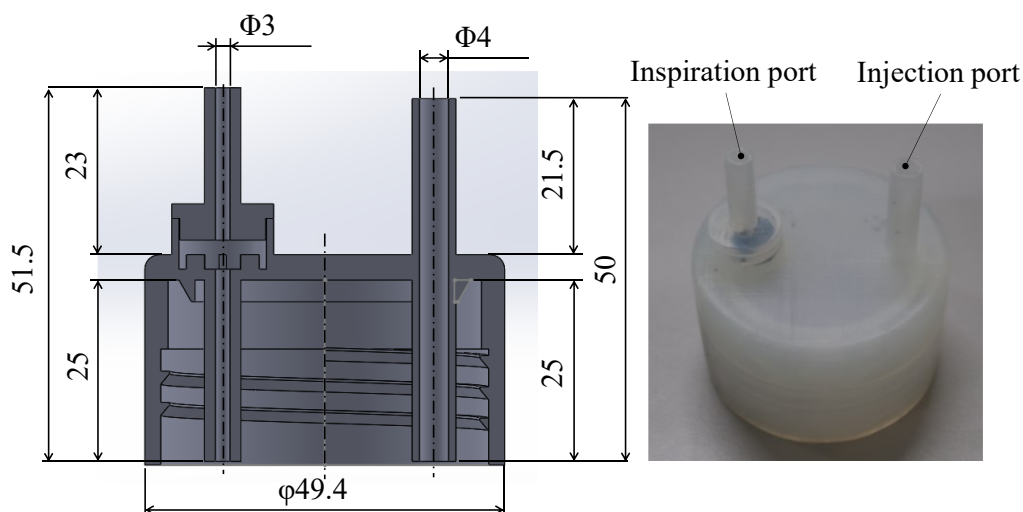


Fig. 4-4 Inspiration port and injection port.

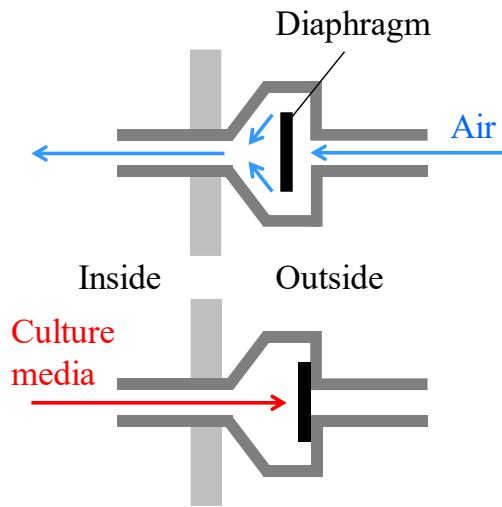


Fig. 4-5 Function of one-way valve.

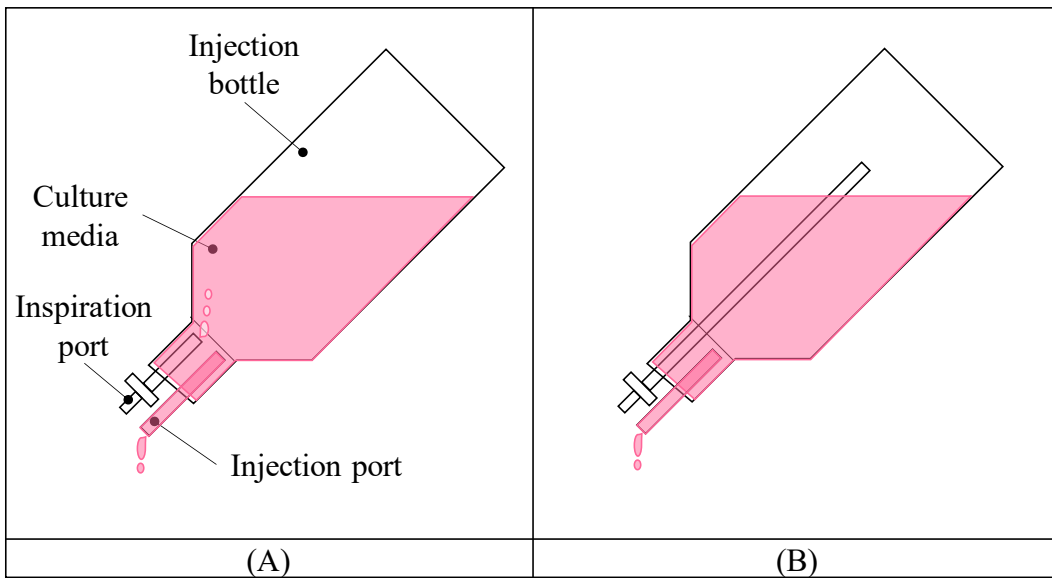


Fig. 4-6 Type of inspiration port.

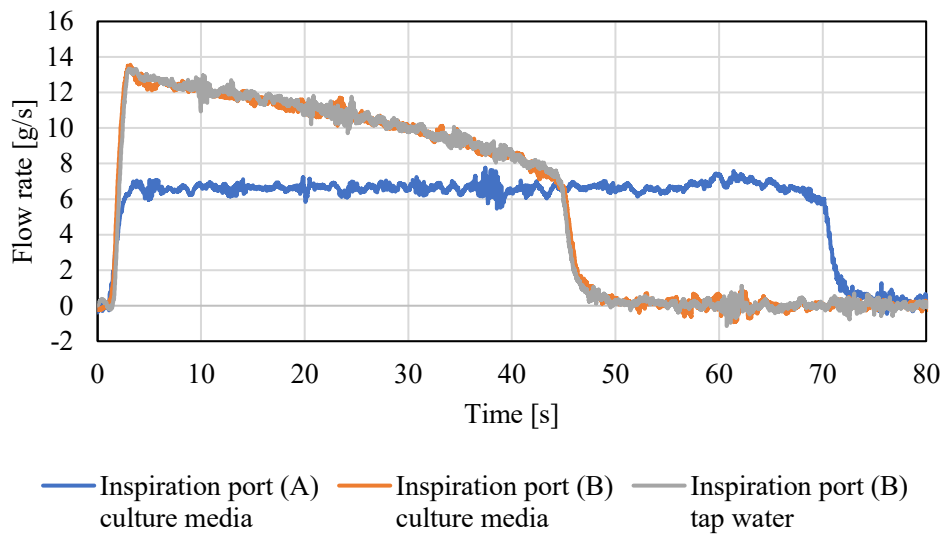


Fig. 4-7 Flow rate of injection. In the case of (A), the flow rate during the injecting motion is constant. In the case of (B), the flow rate decreases with the remaining volume. And the flow rate of tap water is about the same as that of the culture media.

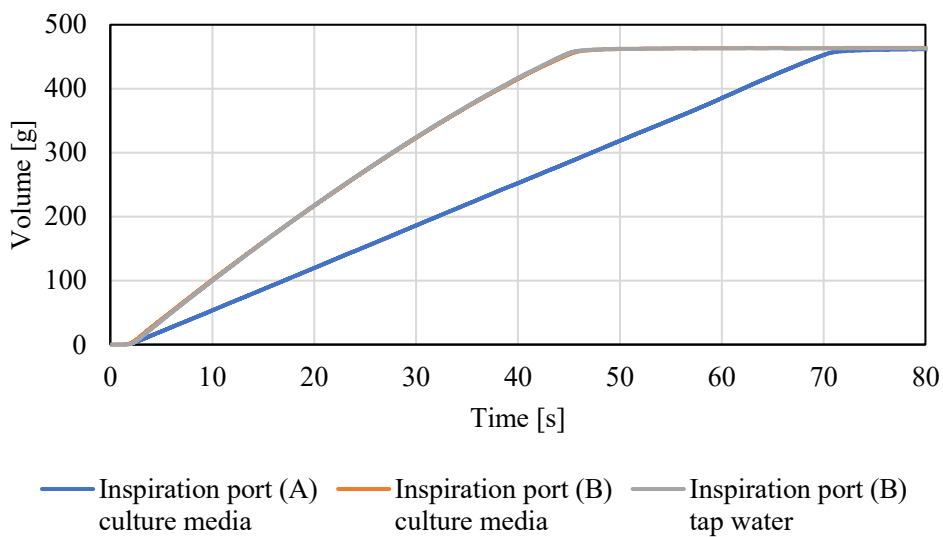


Fig. 4-8 Volume of injection. In the case of (A), since the flow rate is constant, the slope is also constant. In the case of (B), since the flow rate decreases, the slope becomes gentle. And the slope when using tap water is about the same as that when using the culture media.

4.3 ΔT と X を用いた注液アルゴリズムの提案

4.3.1 パラメータの抽出と設定

ロボットを用いて注液ボトル内の培養液を正確に注液するアルゴリズムを検討する。1回の注液量を 75 g にするために、注液終了動作開始後の注液量を予測して、注液動作から注液終了動作に移行する方法を考える。注液終了動作開始後の注液量の予測方法を Fig. 4-9 に示す。本アルゴリズムでは、注液終了動作開始の指令を出してから最終注液量に到達するまでの時間 (ΔT) に注液される量 ($X\%$) を予測する。注液終了動作の速度を固定とすることで、 ΔT も固定とすることができる。注液動作中は 2 ms 間隔でフラスコ内の注液量を計測し、注液終了動作を開始するかどうかの判定を行う。仮にそのまま注液終了せずに注液を続けた場合に、 ΔT の期間に注液される量を 100% とし、それに対する $X\%$ の値が 75 g を超えた時点で注液終了動作を開始する。注液終了動作開始注液量 V_e は、目標注液量 V_t 、流量 Q 、 ΔT 、 X を用いて下記式で表せる。

$$V_e = V_t - (Q \cdot \Delta T \cdot X \cdot 0.01) \quad (4-1)$$

Fig. 4-10 の手順で、パラメータ導出とパラメータを使用した動作確認を行う。最初に、注液作業を繰り返したときのデータを分析することにより、パラメータを決定する。注液終了動作開始注液量を仮に 70 g とし、480 g の培養液を 5 回に分けて注液する実験を実施した際の注液量を Fig. 4-11 に、分析結果を Table 4-1 に示す。Fig. 4-11 では注液量は一度最大値に達した後で最終的な値に落ち着くが、最初に安定後の値に到達するまでの時間を ΔT とした。4.2.2 項の実験から、注液開始を除いた区間では流量が安定することがわかったが、注液終了動作に近い値を使用した方がより正確に予測できると考えられるため、40 g から 60 g の傾きを用いた。Table 4-1 の平均値をパラメータとして採用することとし、 ΔT を 0.988 秒、 X を 77.7% に決定した。パラメータを使用した計算は小数点以下 3 桁の精度とした。

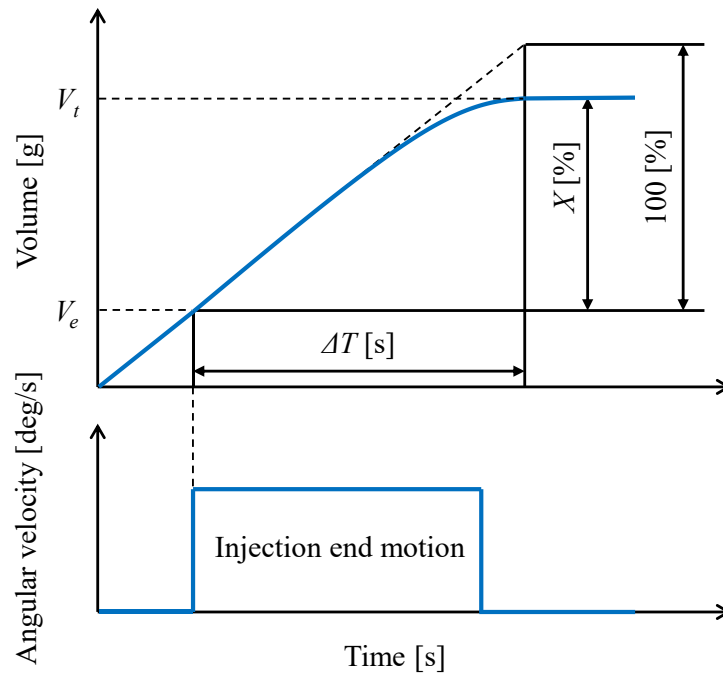


Fig. 4-9 Prediction method. The algorithm predicts the injecting volume($X\%$) during the period(ΔT) from the start of the injection end motion until the injecting volume does not increase.

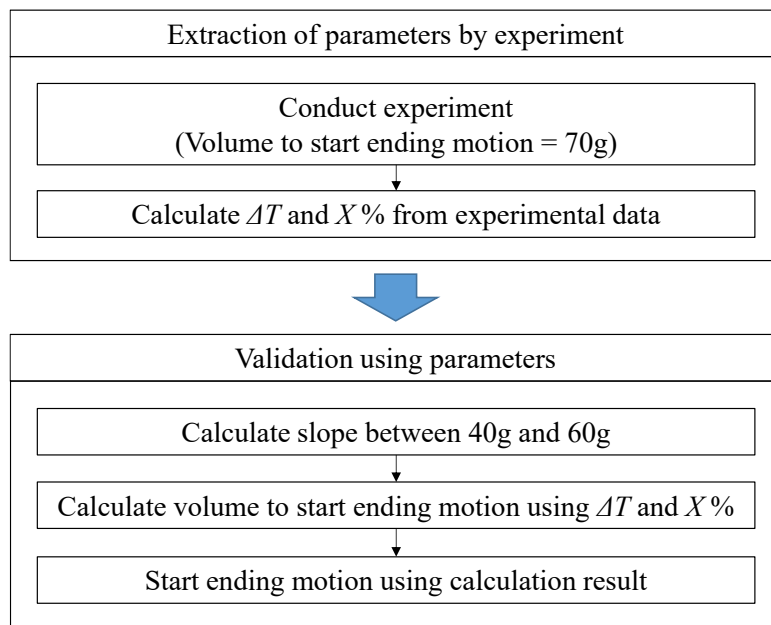
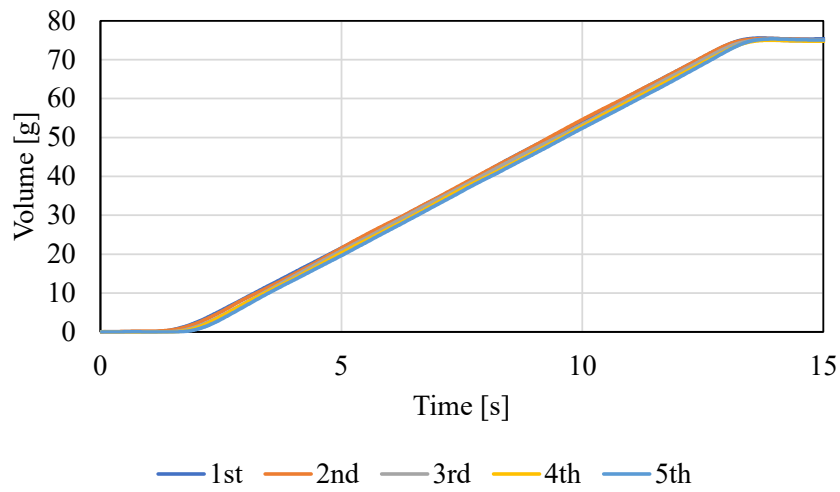
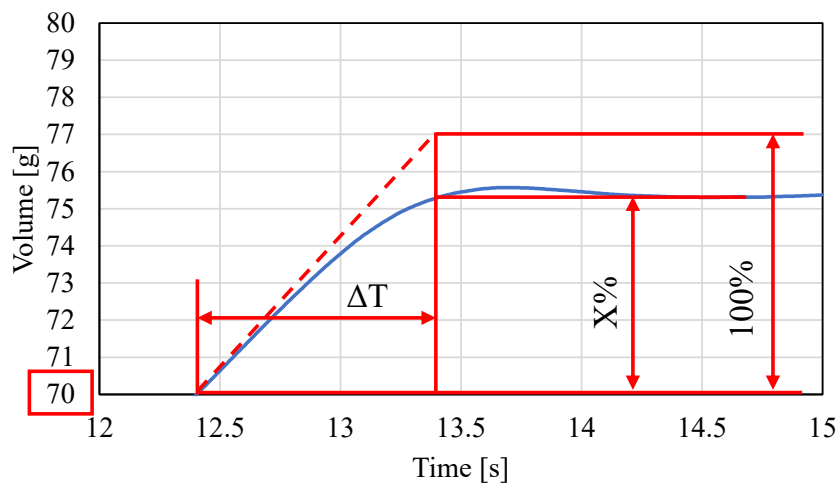


Fig. 4-10 Extraction of parameters and validation. It shows the procedure of experiment and validation. First, we conduct an experiment to derive ΔT and X . Next, we validate using ΔT and X .



(a)



(b)

Fig. 4-11 Volume during injecting task. (a) Overall view. (b) Enlarged view.

Table 4-1 ΔT and X of injecting task.

-	ΔT [s]	X [%]
Min.	0.910	72.3
Max.	1.060	84.8
Avg.	0.988	77.7

4.3.2 ΔT と X を用いた注液アルゴリズムの検証実験

次に、決定したパラメータを用いて動作確認を実施した。480 g の培養液を 6 回に分けて 75 g ずつ注液する実験を実施した結果を Fig. 4-12, Table 4-2 に示す。フラスコ外やチューブ先端に液だれが生じることなく、注液作業を実施できた。注液精度は、75.10 g \pm 1.18 g (3 σ) であることから、作業者の 75 g \pm 1.5 g (\pm 2%) と同等の結果が得られた。培養液の種類によって粘度や密度が異なるため注液ポート付近の流れは変化するが、Fig. 4-7 のように一定の流量で注液できれば注液量の制御は可能と考えられる。

4.1 節の分析結果によると、手作業の場合の 1 回当たりの注液作業時間は約 40 秒であった。それに対して、ロボットを用いた場合の 1 回の注液作業時間は約 15 秒であった。今回実施した手法では注液ボトルから直接注入するため、吸引作業は不要である。ロボットによる作業と手作業を組み合わせた場合、キャップ取外し・取付けを手作業で行ったとしても、作業時間を半分以下に短縮できる可能性がある。

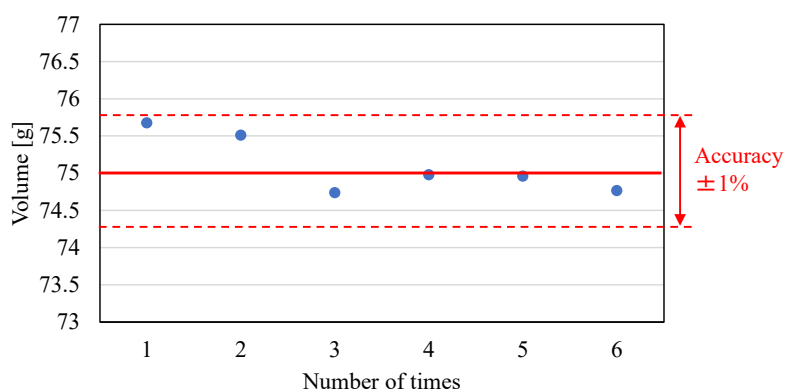


Fig. 4-12 Experimental results of injecting task. The culture media was divided into 6 times, and 75 g each was injected. The accuracy was within the range of \pm 1%.

Table 4-2 Experimental results of injecting task.

-	Volume [g]	Accuracy [%]
Min.	74.74	-0.35
Max.	75.68	+0.90
Avg.	75.10	+0.14
Variance	0.16	+0.28
Standard deviation (1 σ)	0.39	+0.53
Standard deviation (2 σ)	0.79	+1.05
Standard deviation (3 σ)	1.18	+1.58

4.3.3 ΔT と X を用いた注液アルゴリズムの適用範囲拡大

注液アルゴリズムの適用範囲を拡大するために、吸気・注液ポートの構成条件を変え、検証実験を実施した。吸気・注液ポートの内径が流量に与える影響を分析するため、各ポートの内径を変えて 480 g の培養液を全て注液したときの流量を測定した。注液ポート内径を 4 mm に固定して吸気ポート内径を 2 mm, 3 mm, 4 mm にした場合の流量を Fig. 4-13 に、吸気ポート内径を 3 mm に固定して注液ポート内径を 3 mm, 4 mm, 5 mm にした場合の流量を Fig. 4-14 に示す。その結果、吸気ポート内径は流量に影響を与えないが、注液ポート内径を大きくすると流量が多くなるということがわかった。吸気・注液ポートの内径と流量・流速の関係を Table 4-3, Table 4-4 に示す。流量は、Fig. 4-13, Fig. 4-14 において、培養液が安定して注入されている期間の平均値を採用した。流速は流量と断面積から算出した。流量は注液ポート内径とともに多くなったが、流速は注液ポート内径が 3 mm の場合を除いて一定だった。

注液ポートの内径が流量に影響を与えることがわかったため、注液ポート内径が 3 mm, 5 mm の場合についても、4.3.2 項と同様の実験を実施した。それらの結果を比較したものを Fig. 4-15, Table 4-5 に示す。注液ポート内径が 3 mm, 5 mm の場合にも、フラスコ外や注液ポート先端に液だれが生じることなく、注液作業を実施できた。注液精度は、注液ポート内径が 3 mm の場合は $74.77 \text{ g} \pm 0.91 \text{ g}$ (3σ)、注液ポート内径が 5 mm の場合は $74.79 \text{ g} \pm 1.34 \text{ g}$ (3σ) であることから、作業者の $75 \text{ g} \pm 1.5 \text{ g}$ ($\pm 2\%$) と同等の結果が得られた。

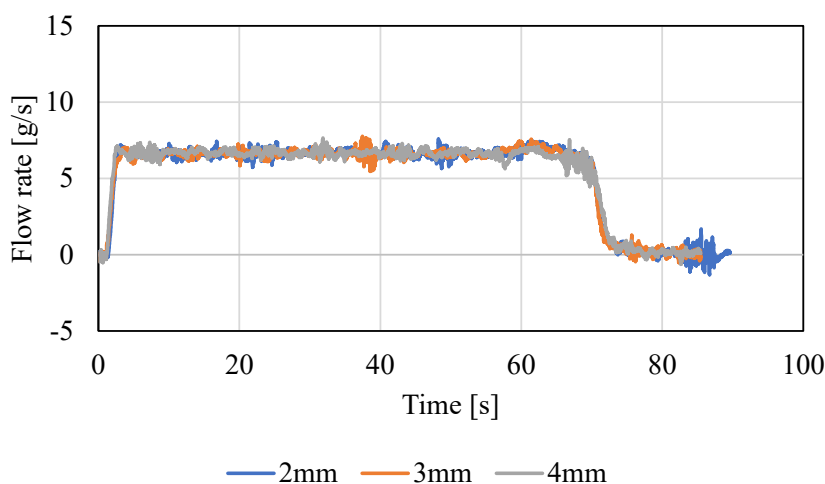


Fig. 4-13 Flow rate (Inspiration port = 2 mm, 3 mm, 4 mm). Even if the inside diameter of the inspiration port was different, the flow rate was the same.

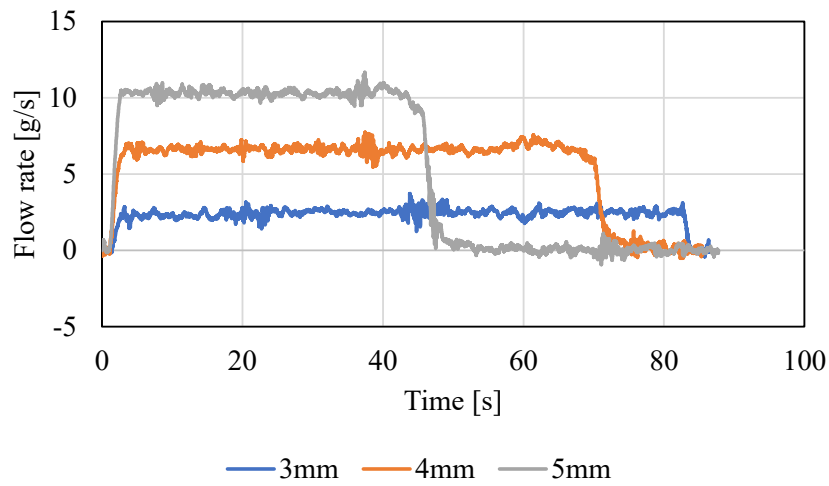


Fig. 4-14 Flow rate (Injection port = 3 mm, 4 mm, 5 mm). As the inside diameter of the injection port increased, the flow rate increased.

Table 4-3 Relationship between inspiration/injection port and flow rate [g/s].

Injection port \ Inspiration port		Injection port		
		3 mm	4 mm	5 mm
2 mm		-	6.66	-
3 mm		2.46	6.62	10.32
4 mm		-	6.68	-

Table 4-4 Relationship between inspiration/injection port and injecting velocity [m/s].

Injection port \ Inspiration port		Injection port		
		3 mm	4 mm	5 mm
2 mm		-	0.53	-
3 mm		0.35	0.53	0.53
4 mm		-	0.53	-

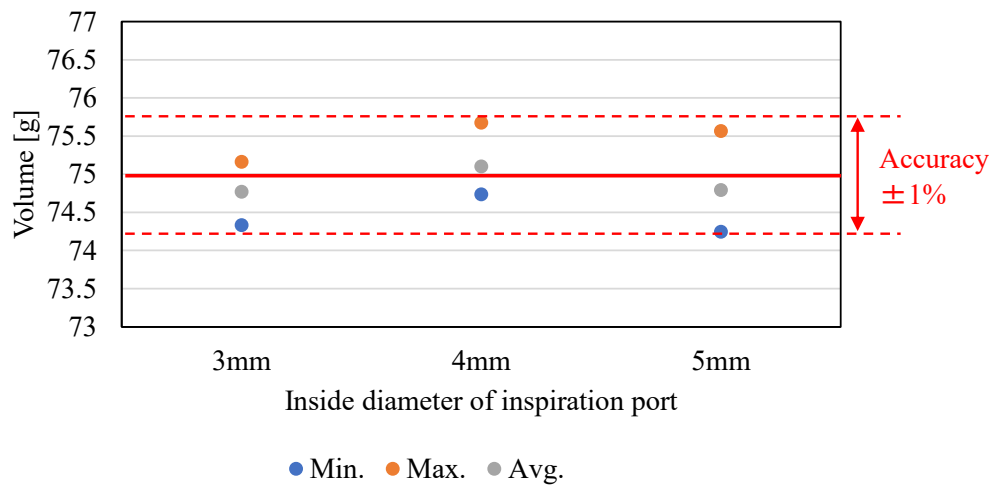


Fig. 4-15 Experimental results of injecting task (Injection port = 3 mm, 4 mm, 5 mm). When the inside diameter of the injection port was 3 mm, 4 mm, 5 mm, the accuracy was within the range of $\pm 1\%$.

Table 4-5 Experimental results of injecting task (Injection port = 3 mm, 4 mm, 5 mm).

-	Injection port = 3 mm		Injection port = 4 mm		Injection port = 5 mm	
	Volume [g]	Accuracy [%]	Volume [g]	Accuracy [%]	Volume [g]	Accuracy [%]
Min.	74.33	-0.89	74.74	-0.35	74.25	-1.00
Max.	75.16	+0.22	75.68	+0.90	75.57	+0.75
Avg.	74.77	-0.30	75.10	+0.14	74.79	-0.28
Variance	0.09	+0.16	0.16	+0.28	0.20	+0.35
Standard deviation (1σ)	0.30	+0.40	0.39	+0.53	0.45	+0.59
Standard deviation (2σ)	0.60	+0.81	0.79	+1.05	0.89	+1.19
Standard deviation (3σ)	0.91	+1.21	1.18	+1.58	1.34	+1.78

4.4 ΔT と X を用いた注液アルゴリズムに対する考察

4.4.1 注液時間を固定とする方法に対する考察

注液ボトルのキャップを4.2.2 項のような構造とした場合，ロボットによる注液作業の流量はほぼ一定となる．そこで，流量が一定であることを利用し，注液時間を固定とする注液方法について検討する．

注液作業中の注液量の変化を Fig. 4-16 に示す．4.3.2 項の実験結果を分析し，注液時間を固定とした場合の注液量を算出する．注液開始動作中の注液量 V_i ，注液終了動作以降の注液量 V_x ，注液動作中の時間 T_c および流量 ΔV_c を Table 4-6 に示す．実験では 6 回連続で注液しているが，回数が増えるにつれて注液ボトル内の培養液は減少していくため， V_i および V_x は減少傾向にある． T_c の平均値の 11.415 秒を注液時間とした場合の，注液動作中の注液量 V_c ，注液作業全体の注液量 V_f を Table 4-7 に示す．

実際に注液時間を 11.415 秒に固定して注液実験を行い，予測値と比較した結果を Fig. 4-17, Table 4-8 に示す．注液精度 $\pm 3\%$ 程度に収まるという予測であったが，実際には 10% 以上多いこともあった．6 回目は吸気ポートが培養液面から出てしまうために流量が増え，注液量が多くなったことも原因の一つと考えられる．

注液時間を固定とした場合，注液開始動作中の注液量のばらつきや流量の変化に対応できないため，4.3 節で提案した注液アルゴリズムが有用であると言える．

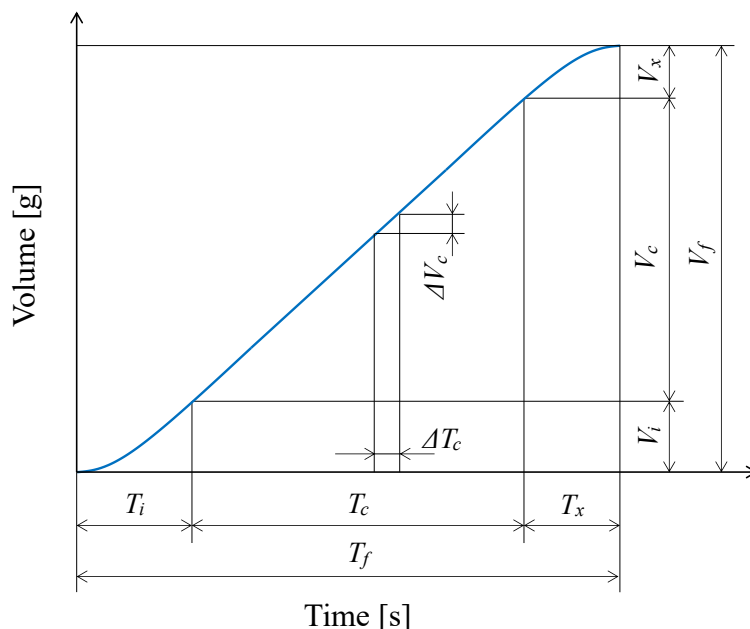


Fig. 4-16 Changes in volume during injecting task.

Table 4-6 V_i , V_x , T_c , and ΔV_c of injecting task.

Number of times	V_i [g]	V_x [g]	T_c [s]	ΔV_c [g/s]
1	5.58	4.82	11.71	5.58
2	4.39	4.92	11.62	5.70
3	3.92	4.47	11.06	6.00
4	3.17	4.57	11.14	6.04
5	2.26	4.30	11.81	5.79
6	1.34	4.45	11.15	6.19

Table 4-7 V_c , and V_f of injecting task.

Number of times	V_c [g]	V_f [g]
1	63.67	74.06
2	65.06	74.37
3	68.51	76.90
4	68.93	76.67
5	66.14	72.70
6	70.64	76.44

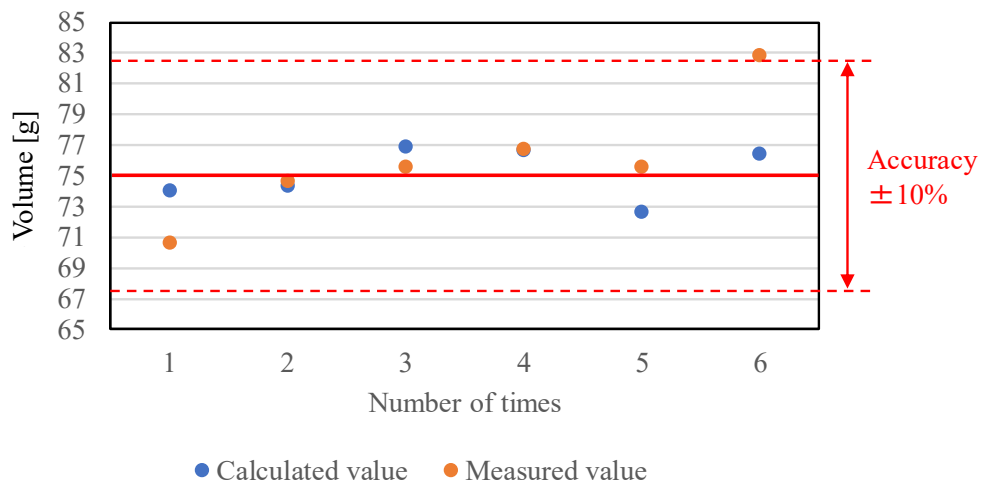


Fig. 4-17 Experimental results when injecting time is fixed. The experiment was conducted with the time of the injecting task fixed at 11.415 seconds. The accuracy was predicted to fall within about $\pm 3\%$, but in a case it was more than 10%.

Table 4-8 Experimental results when injecting time is fixed.

-	Calculated value		Measured value	
	Volume [g]	Accuracy [%]	Volume [g]	Accuracy [%]
Min.	72.70	-3.06	70.66	-5.79
Max.	76.90	+2.53	82.86	+10.48
Avg.	75.19	+0.25	76.04	+1.39

4.4.2 注液アルゴリズムの適用範囲に対する考察

4.3.3 項では、吸気・注液ポートの構成条件（内径）が異なり、流量が異なる場合（2.5 g/s ~10.3 g/s）においても提案する注液アルゴリズムを適用することができ、75 g の注液量に対して注液精度±1%の範囲で注液できることを確認した。

注液開始動作と注液終了動作を含まない注液動作のみの流量と注液時間を Table 4-9 に示す。注液ポート内径が大きくなるにつれ流量が多くなり注液時間は短くなるが、短縮可能なのは注液動作の時間のみであるため、注液開始動作と注液終了動作を合わせた約 4.5 秒は固定でかかる。注液ポート内径を 3 mm から 4 mm にすると約 16 秒も短縮できるのに対し、4 mm から 5 mm にしても約 5 秒しか短縮できないことから、5 mm より大きくしても大幅な時間の短縮は望めない。また、流量が多くなると液だれのリスクが高くなり、注液精度が悪くなる。注液時間と注液精度を考慮すると、注液ポート内径は 4 mm が適切と考えられる。

4.4.3 注液アルゴリズムの ΔT 及び X の誤差に対する考察

4.3 節で提案した注液アルゴリズムに関して、 ΔT と X の誤差の影響を考察する。4.3.2 項の実験結果をもとに、注液量が 40 g から 60 g の間の傾きを 6.530 g/s、 ΔT を 0.988 秒、 X を 77.7%、注液量を 75 g としたとき、注液精度が作業者と同等の±2% (±1.5 g) となる ΔT と X を算出した結果を Table 4-10 に示す。 X が 77.7% の場合は ΔT が 0.692 秒~1.284 秒 (0.988 秒に対する誤差±30%) の範囲、 ΔT が 0.988 秒の場合は X が 54.4%~100% (77.7%に対する誤差±30%) の範囲で、注液精度±2%程度に収まると考えられる。Table 4-10 の条件により注液実験を実施した結果を Fig. 4-18 に示す。概ね計算値と実験値は一致していることから、注液精度を±2% (±1.5 g) とした場合、 ΔT および X の誤差は、合わせて 30%程度許容できると言える。

Table 4-9 Flow rate and time during injecting motion.

Inside diameter of injection port [mm]	Flow rate [g/s] (Avg.)	Time [s] (Avg.)
3	2.61	27.55
4	5.88	11.42
5	10.23	6.06

Table 4-10 Calculated results in each condition.

Conditions	Slope between 40 g and 60 g [g/s]	ΔT [s]	X [%]	Volume [g]
(1) Standard values	6.530	0.988	77.7	75.00
(2) ΔT = minimum	6.530	0.692	77.7	76.50
(3) ΔT = maximum	6.530	1.284	77.7	73.50
(4) X = minimum	6.530	0.988	54.4	76.50
(5) X = maximum	6.530	0.988	100.0	73.56

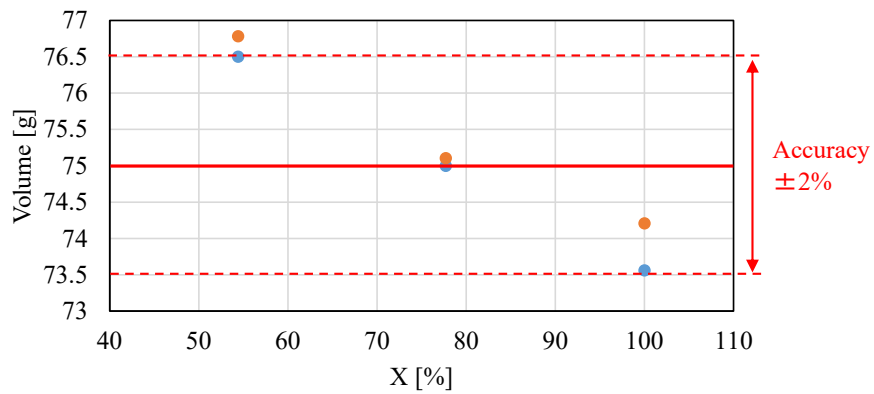
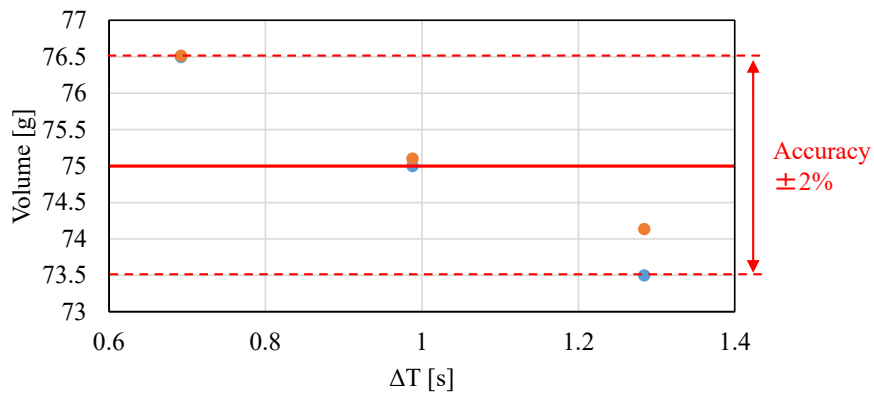


Fig. 4-18 Range of parameters. The range of ΔT and X was calculated so that it falls within $\pm 2\%$ which is the same accuracy as the operator. As a result of the experiment, the calculated value and the experimental value almost agreed. An error of ΔT and X can be tolerable about 30% in total.

4.5 注液精度の向上

ΔT と X を用いた注液アルゴリズムにより作業者と同等の精度で注液できたが、Fig. 4-12 には注液回数を重ねるごとに注液量が減少する傾向があるため、その原因を明らかにするとともに注液精度を向上させる方法を検討する。注液を繰り返した際の注液量を Fig. 4-19 に示す。500 g の培養液を 75 g ずつ連続で注液した場合、注液回数が増えるにつれて注液ボトル内の残量が減少し、(b)のように注液終了動作中の注液量が減少することで誤差が発生する。注液精度を上げるためには、そのときの残量によって注液終了動作を開始するタイミングを前後させて、(b)の影響で発生する注液誤差を抑える必要がある。注液ボトル内の残量を直接計測することはできないが、注液開始動作中の注液量から残量を予測することはできる。そこで、(a)の y 切片の減少量（または x 切片の増加量）により、注液終了動作の開始タイミングを補正する方法を検討する。

注液精度以外にもいくつかの改善を行う。注液量が 50 g~150 g の範囲に対応可能とするため、注液量が 40 g から 60 g の区間の傾きではなく、注液開始と終了の 20 g を除く区間の傾きを利用するよう変更する。また、注液ボトル内の残量になるべく少なくなるように注液動作中の注液ボトルの角度を 45 deg から 70 deg に変更する。

本節では、注液精度を向上させた 3 種類の注液アルゴリズムを提案する。 ΔT と X を用いた注液アルゴリズムに補正を追加したもの（4.5.1 項）は、流量と目標注液量から注液終了動作開始注液量を予測したうえで、注液ボトル内の残量に起因する誤差を補正する。機械学習を用いた注液アルゴリズム（4.5.2 項）は、線形回帰により注液終了動作開始注液量を予測する。オートチューニング（4.5.3 項）は、機械学習を用いた注液アルゴリズムと同様の予測方法だが、注液するたびに線形回帰モデルのパラメータを再計算する点が異なる。注液アルゴリズムの選択方法を Fig. 4-20 に示す。残量に起因する誤差を補正するための計算式を導出する場合、 ΔT と X を用いた注液アルゴリズム（補正あり）を選択できる。補正式を導出しなくても、既存の機械学習ライブラリを使用することにより、機械学習を用いた注液アルゴリズムを選択できる。注液量固定という条件であれば、オートチューニングを選択できる。

本節では4.2.1 項の実験システムを用いる。連続注液した場合に吸気ポートの弁が詰まることを防ぐために、注液ボトルのキャップは改良タイプ[53]を用いる。実験は国土舘大学世田谷キャンパスのメイプルセンチュリーホール B3F の理工学部実習工場で実施する。

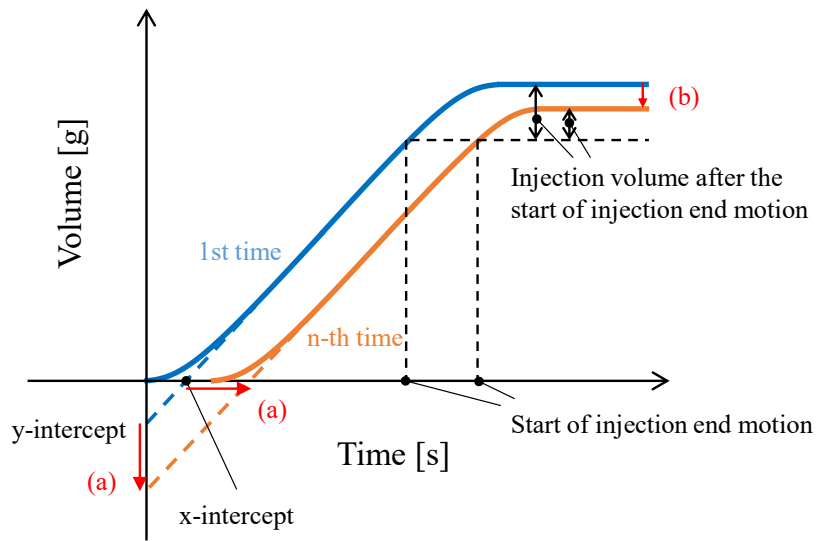


Fig. 4-19 Injection volume when injection is repeated multiple times. Injection volume varies depending on number of injections.

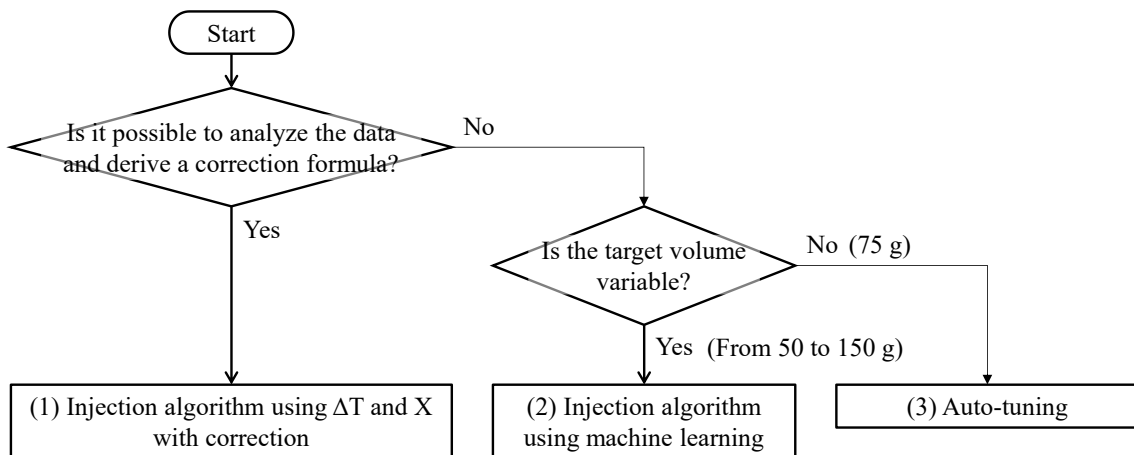


Fig. 4-20 Selection of injection algorithm.

4.5.1 ΔT と X を用いた注液アルゴリズムの改善

注液精度の向上を図るため、 ΔT と X を用いた注液アルゴリズムに補正式を追加する。最初に、注液実験を繰り返したときのデータから ΔT と X を算出する。注液量が 68 g を超えた時点で注液終了動作を開始すると 75 g 程度が注液される。注液ボトル内の培養液量を 500 g とし、注液ボトルを 70 deg 傾けて注液する場合、最後の 50 g 程度は注液できずに残るため、6 回まで注液可能である。この 6 回を 1 セットとして、6 セットの先行実験を実施した。その平均値を採用し、 ΔT は 1.280 秒、 X は 75.0% に決定した。

次に、得られた ΔT と X を用いた注液アルゴリズムを元のデータに適用した。注液量が 68 g を超えてから注液終了動作を開始したデータであるため、目標注液量をどの程度に設定すれば良いかという計算値を算出することができる。今回は採用しなかったが、得られた ΔT と X を用いて、目標注液量を 75 g とする追加実験を実施することで、計算値と実測値の差を求めるという方法も可能である。Fig. 4-21 は、注液量の y 切片と、計算値と実測値の差の相関を示したものである。計算値は一定に保たれているが、 y 切片が小さくなるほど実測値が小さくなることを示している。 R^2 は小さいが、 y 切片と注液誤差には相関関係があると考えられることから、直線近似式が得られるため、 y 切片を用いて注液終了動作開始注液量を補正することで、実測値に近づけることができる。補正量 C_1 は y 切片 b_y を用いて下記式で表せる。

$$C_1 = -0.0847(b_y + 15.5478) \quad (4-2)$$

また、同様に x 切片を用いた補正も可能である。Fig. 4-22 は、注液量の x 切片と、計算値と実測値の差の相関を示したものである。それぞれの補正量を元のデータに適用し、計算値と実測値の差の二乗平均平方根 (RMS) を算出した結果、 y 切片を用いた場合は 0.261、 x 切片を用いた場合は 0.262 となった。どちらも相関性は見られるが、本研究では y 切片を使用することとする。 y 切片による補正を適用することで、注液を繰り返したときの注液量の減少に対応することができる。

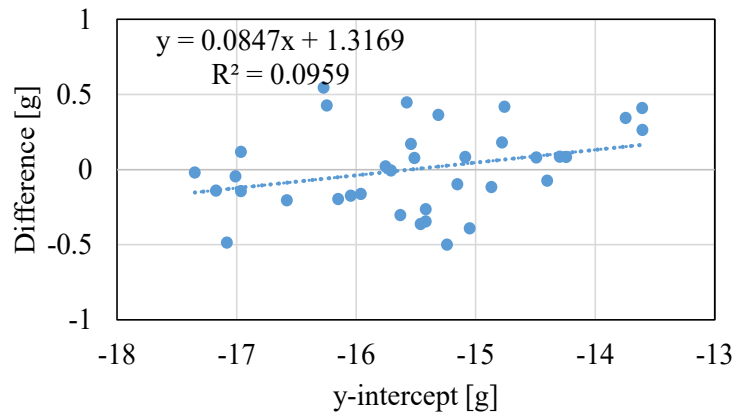


Fig. 4-21 Correlation between y-intercept of injection volume and difference between calculated and measured values. Measured value decreases as y-intercept decreases, whereas calculated value remains constant.

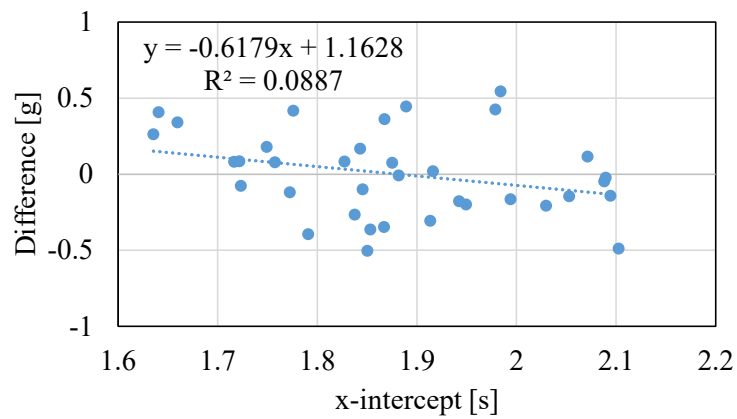


Fig. 4-22 Correlation between x-intercept of injection volume and difference between calculated and measured values. Measured value decreases as x-intercept increases, whereas calculated value remains constant.

y 切片が同じ場合でも、目標注液量が異なると終了動作開始時の残量が異なるため、Fig. 4-19 の(b)の減少量が異なる。上述の y 切片による補正は、目標注液量が 75 g の場合の補正量である。目標注液量が 75 g 以外の場合は、目標注液量が 75 g の場合と比較して、注液終了動作開始時の残量が増減する。つまり、(b)の減少量が変化するため、(a)による補正のみでは不十分である。そこで、目標注液量が 75 g 以外の場合の補正方法を検討する。

Fig. 4-23 は、注液終了動作開始時の残量と、注液終了動作開始後の注液量の相関を示したものである。これらの値には相関関係があり、直線近似式が求まるため、単位残量当たりの注液量の変化を算出することが可能である。75 g と目標注液量の差が、注液終了動作開始時の残量の差となるため、補正量 C_2 は目標注液量 V_t を用いて下記式で表せる。

$$C_2 = -0.0017(V_t - 75.0) \quad (4-3)$$

目標注液量による補正を加えることで、75 g 以外の目標注液量に対しても、 ΔT と X を用いた注液アルゴリズムが適用可能となる。

ΔT と X を用いた注液アルゴリズムに 2 種類の補正を追加したフローチャートを Fig. 4-24 に示す。補正なしの場合は、注液量が停止タイミング V_e を超えた時点で注液終了動作を開始していたが、注液回数や目標注液量の違いにより注液誤差が発生することが判明したため、補正量 C_1 と C_2 を加えた。今回は採用しなかったが、目標注液量 V_t に補正量 C_1 と C_2 を加える Fig. 4-25 に示す方法も可能である。

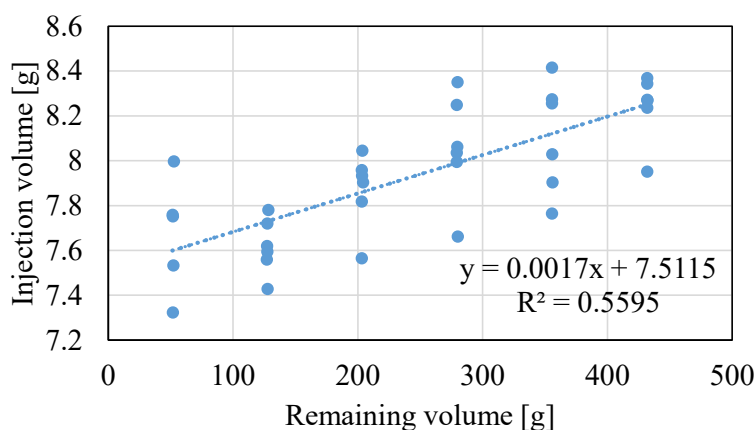


Fig. 4-23 Correlation between remaining volume in injection bottle and injection volume after the start of injection end motion. Injection volume decreases as remaining volume decreases.

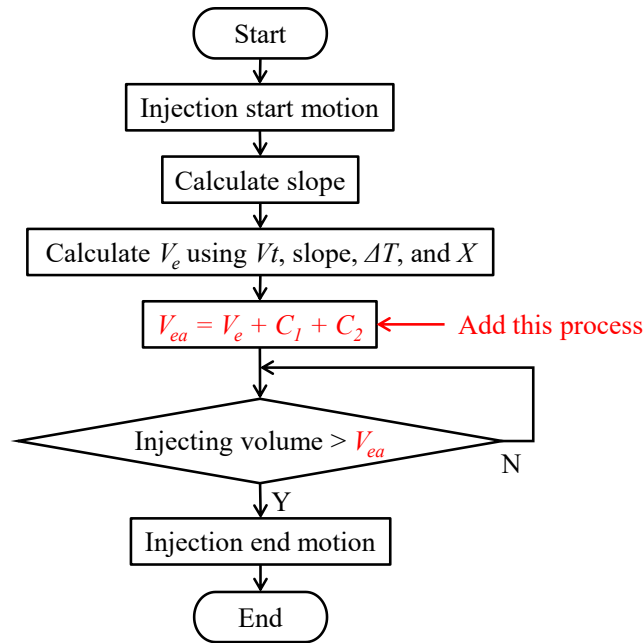


Fig. 4-24 Flowchart of injection algorithm using ΔT and X with two types of correction. Correction volume C_1 and C_2 are added to V_e .

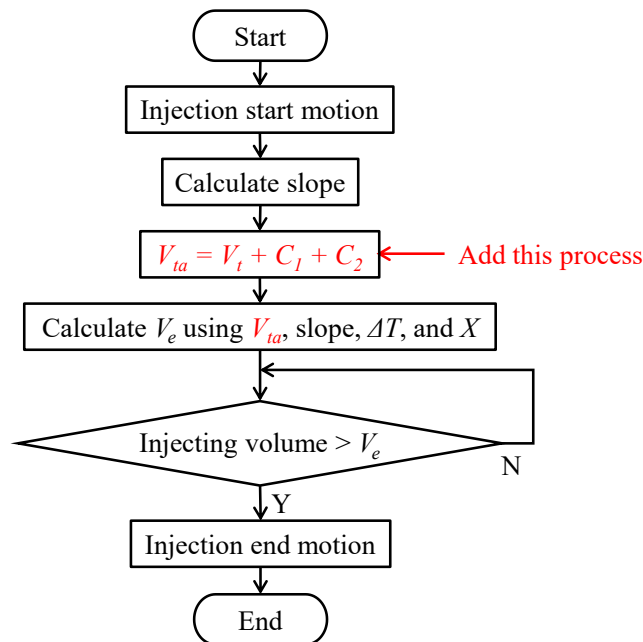


Fig. 4-25 Flowchart of injection algorithm using ΔT and X with two types of correction. Correction volume C_1 and C_2 are added to V_t .

4.5.2 機械学習を用いた注液アルゴリズム

4.3 節で提案した注液アルゴリズム（以下、注液アルゴリズム A とする）は、流量と目標注液量から注液終了動作開始注液量を予測するものであったが、注液終了動作開始時の注液ボトル内の残量の差に起因する誤差が発生していた。そのため、4.5.1 項では、その誤差を補正する注液アルゴリズム（以下、注液アルゴリズム A' とする）を提案した。

本項では、注液アルゴリズム A' とは別の手法として、機械学習を用いた注液アルゴリズム（以下、注液アルゴリズム B とする）を提案する。注液アルゴリズム B は、線形回帰により注液終了動作開始注液量を予測する。線形回帰は既知の変数の値をもとに未知の変数の値を予測する方法であり、様々な分野に応用されている。例えば、光通信[54]や感染症疫学[55]の分野でも予測や要因分析に用いられており、その有効性が確認されている。

注液アルゴリズム B の線形回帰の特徴量は、注液量の傾き（＝流量）、注液量の y 切片、目標注液量の三つとする。y 切片を二つ目の特徴量としたのは、Fig. 4-19 の(a)の y 切片の減少量を利用して(b)の減少量を補正するためである。また、目標注液量が異なる場合、y 切片が一定であっても注液終了動作開始時の残量が異なるため、(b)の大きさが異なる。三つ目の特徴量の目標注液量は、その差分を補正する役割も担っている。これら三つの特徴量のうちの二つを固定した場合、残り一つの特徴量と注液終了動作開始注液量は相関関係にあるため、線形回帰は有効に機能すると考えられる。

線形回帰モデルの予測式を式(4-4)に、各特徴量を Fig. 4-26 に示す。流量 x_1 、y 切片 x_2 、目標注液量 x_3 が特徴量、重み w_1 、 w_2 、 w_3 とオフセット b は学習されたモデルのパラメータ、注液終了動作開始注液量 V_{ea} はモデルからの予測である。モデル構築には Python の機械学習ライブラリである `scikit-learn`[56]を用いる。注液アルゴリズム A' の変数も流量、y 切片、目標注液量であるため、同様に式(4-4)で表すことができる。また、Fig. 4-24 の V_{ea} は注液アルゴリズム B によっても算出可能である。

$$V_{ea} = w_1x_1 + w_2x_2 + w_3x_3 + b \quad (4-4)$$

最初に、訓練データを収集するための先行実験を繰り返す。注液動作中の注液ボトルの角度は 70 deg とする。目標注液量は 50 g～150 g の間で 10 g 間隔で設定し、500 g の培養液を残量が 50 g を下回る直前まで繰り返し注液する。例えば、目標注液量が 60 g の場合、8 回目の注液で残量が 50 g を下回るため、注液回数は 7 回とする。先行実験は各目標注液量に対して 6 セットずつ実施する。最終的な注液量を目標注液量に近づけるために、目標注液量より 7 g 少ない注液量を超えた時点で注液終了動作を開始する。次に、収集した訓練データをもとに線形回帰モデルの各パラメータを算出する。構築した線形回帰モデルを使用することにより、注液終了動作開始注液量を算出することができる。

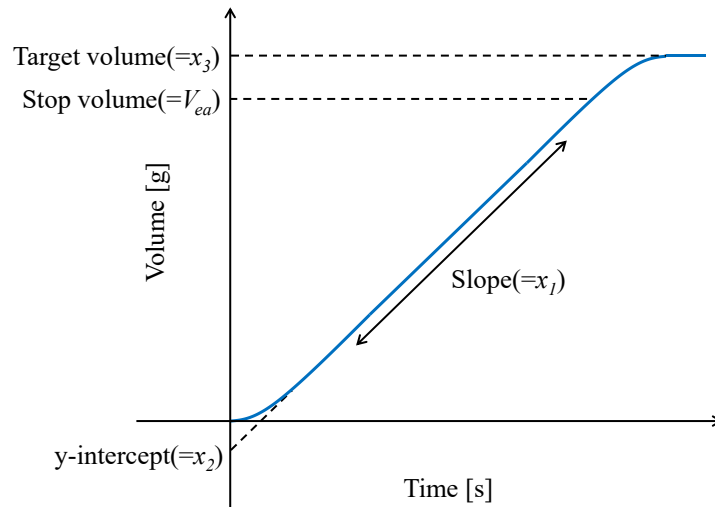


Fig. 4-26 Features of linear regression model. Slope x_1 , y-intercept x_2 , and target volume x_3 can be used to calculate stop volume V_{ea} .

4.5.3 オートチューニング

機械学習により注液精度を向上させるには、想定される範囲内で注液条件を変化させて訓練データを収集する必要がある。4.5.2 項の注液アルゴリズム B の目標注液量は 50 g~150 g の範囲としたが、培地交換の注液作業における注液量は固定である。したがって、注液アルゴリズム B の目標注液量を固定とすることで、訓練データの量を削減できると考えられる。それに加えて、データ分析の手間を減らすために、注液するたびに自動的に線形回帰モデルのパラメータを再計算するオートチューニングという手法を検討する。

最初に、2 セットの先行実験を実施する。1 セット目の先行実験では、目標注液量より 7 g 少ない注液量を超えた時点で注液終了動作を開始する。2 セット目の先行実験では、1 セット目と 2 セット目の注液量の平均が目標注液量に近づくように、注液終了動作開始注液量を設定する。次に、1 セット目と 2 セット目の訓練データを用いて線形回帰モデルのパラメータを算出し、そのパラメータを用いて注液を行う。その後、それまでに収集した先行実験を含む全ての注液データを用いて線形回帰モデルのパラメータを再計算し、そのパラメータを用いて注液を行うというプロセスを繰り返すことで、注液精度が安定していくと考えられる。

4.5.4 各注液アルゴリズムの検証実験

最初に、注液アルゴリズム A' と B の先行実験を実施した。先行実験の結果に基づいて算出した各パラメータの値を Table 4-11 に示す。注液アルゴリズム A' は 6 セットの先行実験の結果を使用し、注液アルゴリズム B は 66 セットの先行実験の結果を使用した。注液アルゴリズム A' の 6 セットのデータ収集には約 0.5 時間、注液アルゴリズム B の 66 セットのデータ収集には約 5.5 時間を要した (1 セット当たり約 5 分)。一方、注液アルゴリズム B は

注液アルゴリズム A'に比べてデータ分析が容易で、手間がかからないというメリットがある。注液アルゴリズム A'では、まず、先行実験で収集したデータから ΔT と X を算出し、得られた ΔT と X を用いた注液アルゴリズム A を元のデータに適用し、計算値と実測値の差を算出する。次に、注液量の y 切片と、計算値と実測値の差との相関から一つ目の補正量を、注液終了動作開始時の残量と注液終了動作開始後の注液量との相関から二つ目の補正量を算出する。そして、 ΔT , X , 2種類の補正量から式(4-4)のパラメータを算出するという手順が必要である。それに対して、注液アルゴリズム B では、先行実験で収集した訓練データの流量, y 切片, 目標注液量から, Python の機械学習ライブラリを用いて式(4-4)のパラメータを算出することができる。

次に、Table 4-11 のパラメータを使用して、各注液アルゴリズムの有効性を確認するための検証実験を実施した。目標注液量は 50 g~150 g の間で 10 g 間隔で設定し、500 g の培養液を残量が 50 g を下回る直前まで繰り返し注液した。検証実験の結果を Table 4-12, Table 4-13, Fig. 4-27 に示す。目標注液量が異なる場合でも、注液誤差の量は同程度である。そのため、注液誤差は、目標注液量に対する割合ではなく、g 単位の重量で表現することとした。4.3.2 項の結果によると、作業者が注液作業を実施した場合の 3σ は 1.5 g、ロボットが注液アルゴリズム A を用いて注液作業を実施した場合の 3σ は 1.18 g であった。したがって、注液アルゴリズム A', B は、全ての目標注液量で注液アルゴリズム A より優れた結果を示している。

オートチューニングの有効性を確認するため、目標注液量が 50 g と 150 g の場合の 2 条件において、2セットの先行実験と 6セットの検証実験を実施した。検証実験 6セット分の各パラメータの値を Table 4-14, Table 4-15 に、実験結果を Fig. 4-28, Fig. 4-29 に示す。2セット目までは、Fig. 4-28(a)はマイナス方向に、Fig. 4-29(a)はプラス方向に偏っている。セット数が増えたからといって必ずしも精度が向上するわけではないが、調整には少なくとも 2セットの実験が必要となる。

各注液アルゴリズムの使用方法を Fig. 4-30 に、メリットとデメリットを Table 4-16 に示す。注液アルゴリズム A'は特定の目標注液量のデータを収集するだけで良いのに対し、注液アルゴリズム B は適用する範囲の目標注液量のデータを収集する必要がある。注液アルゴリズム A'はデータを分析して二つの補正を加える必要があるのに対し、注液アルゴリズム B は Python の機械学習ライブラリにデータを入力するだけで良い。注液アルゴリズムの選択は、収集したデータ量や種類、データ分析に必要な労力などを考慮して決定する。既存の機械学習ライブラリが利用できることを考えると、注液アルゴリズム B の方がデータ分析は容易でヒューマンエラーが起りにくいが、データ分析に必要な労力が問題にならないのであれば、注液アルゴリズム A'を採用しても良い。また、特定の目標注液量のみに限定的な場合は、オートチューニングも採用可能である。

Table 4-11 Parameters for evaluating experiment of Algorithms A' and B.

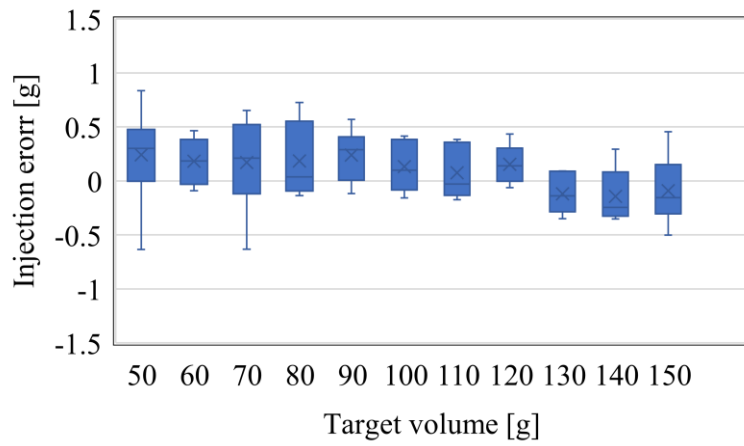
Parameters	Algorithm A	Algorithm B
w_1	-0.9634	-0.8120
w_2	-0.0847	-0.1421
w_3	0.9983	1.0007
b	-1.1894	-3.5116

Table 4-12 Experimental results of Algorithm A'.

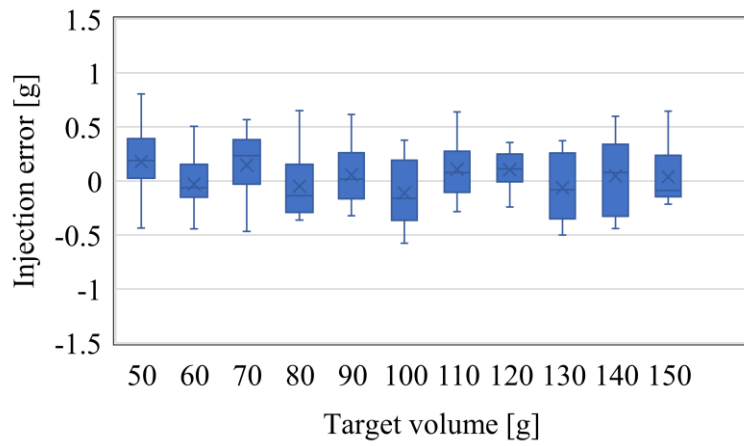
Target volume [g]	RMS of injection error [g]	Average [g]	Standard deviation (1σ) [g]	Standard deviation (3σ) [g]
50	0.44	50.24	0.38	1.13
60	0.27	60.18	0.21	0.62
70	0.40	70.17	0.38	1.13
80	0.37	80.18	0.34	1.01
90	0.32	90.24	0.23	0.69
100	0.25	100.13	0.23	0.70
110	0.24	110.08	0.24	0.72
120	0.23	120.15	0.18	0.54
130	0.20	129.88	0.18	0.55
140	0.27	139.86	0.25	0.75
150	0.31	149.91	0.32	0.97

Table 4-13 Experimental results of Algorithm B.

Target volume [g]	RMS of injection error [g]	Average [g]	Standard deviation (1σ) [g]	Standard deviation (3σ) [g]
50	0.37	50.18	0.34	1.01
60	0.24	59.97	0.25	0.74
70	0.34	70.15	0.32	0.97
80	0.30	79.95	0.32	0.95
90	0.28	90.06	0.29	0.87
100	0.32	99.89	0.32	0.96
110	0.29	110.11	0.28	0.85
120	0.21	120.10	0.20	0.60
130	0.30	129.94	0.33	0.98
140	0.35	140.05	0.37	1.12
150	0.29	150.04	0.32	0.95



(a)



(b)

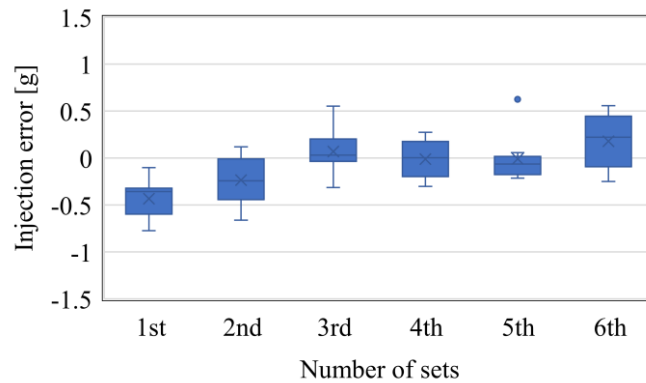
Fig. 4-27 Injection error for each target volume: Algorithms (a) A' and (b) B.

Table 4-14 Parameters for six sets of auto-tuning when target volume is 50 g.

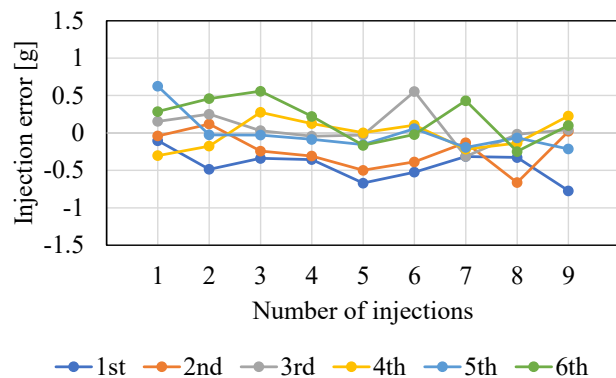
Parameters	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th
w_1	-0.8866	-1.1242	-1.1800	-1.1589	-1.1418	-1.1488
w_2	-0.1105	-0.1165	-0.1248	-0.1343	-0.1343	-0.1403
w_3	0.9346	0.9770	0.9838	0.9733	0.9689	0.9657
b	0.3571	0.4316	0.5103	0.6750	0.7482	0.8696

Table 4-15 Parameters for six sets of auto-tuning when target volume is 150 g.

Parameters	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th
w_1	-1.9387	-1.6567	-2.4843	-2.7759	-2.9924	-3.2165
w_2	-0.0771	-0.0718	-0.0030	-0.0105	-0.0051	0.0156
w_3	0.9894	0.9709	0.9420	0.9169	0.9165	0.9173
b	8.9816	9.3345	21.8131	27.9721	29.9693	32.0786

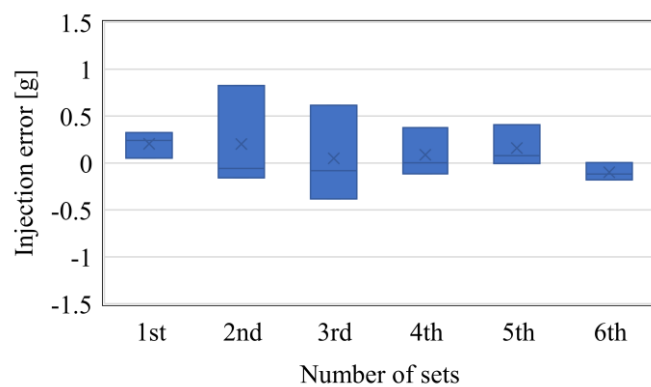


(a)

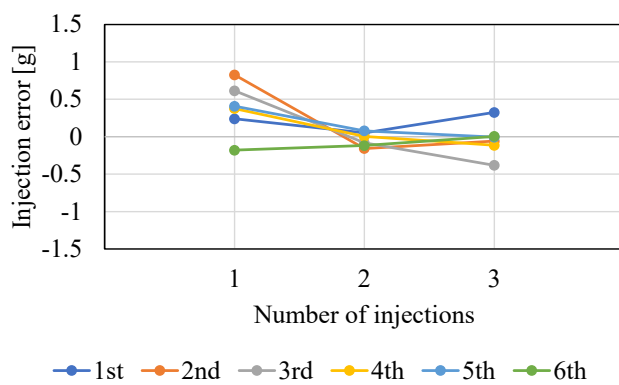


(b)

Fig. 4-28 Injection error of auto-tuning. (a) Six sets with 50-g target volume. (b) Values for each of six sets with 50-g target volume.



(a)



(b)

Fig. 4-29 Injection error of auto-tuning. (a) Six sets with 150-g target volume. (b) Values for each of six sets with 150-g target volume.

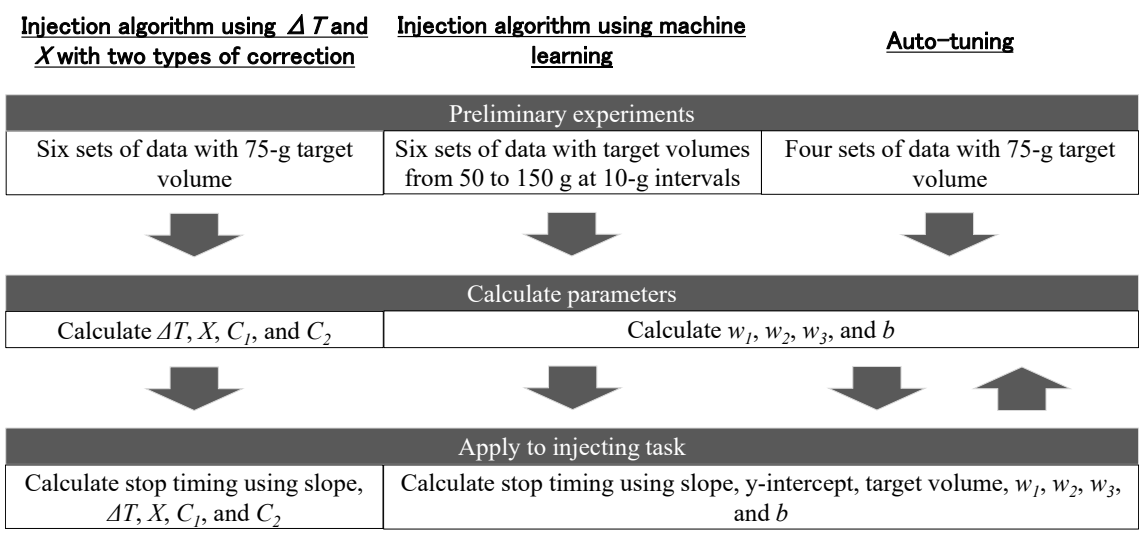


Fig. 4-30 How to use each injecting algorithm.

Table 4-16 Advantages and disadvantages of each algorithm.

-	Algorithm A'	Algorithm B	Auto-tuning
Advantages	<ul style="list-style-type: none"> - Small amount of data to collect - Can handle various target volumes 	<ul style="list-style-type: none"> - Light workload to analyze - Can handle various target volumes 	<ul style="list-style-type: none"> - Small amount of data to collect and light workload to analyze
Disadvantages	<ul style="list-style-type: none"> - Heavy workload to analyze - Prone to human error 	<ul style="list-style-type: none"> - Large amount of data to collect 	<ul style="list-style-type: none"> - Cannot handle various target volumes

4.6 注液精度の向上に対する考察

4.6.1 注液量の y 切片の有効性に対する考察

注液アルゴリズム A' 及び B による注液終了動作開始注液量の予測には、y 切片を用いた補正が含まれている。本項では、y 切片を使用する場合と使用しない場合の計算結果を比較することで、y 切片の有効性を確認する。

注液アルゴリズム B の先行実験の訓練データを使用して、式(4-4)から y 切片の項を除いたパラメータ (w_1 , w_3 , b) を算出した。これらのパラメータを用いることで、目標注液量をどの程度に設定すれば良いかの計算値を算出できる。Fig. 4-31 は注液終了動作開始注液量が 43 g の場合の計算値と実測値の差を示した図である。特徴量に y 切片が含まれると、注液回数に起因する誤差が抑制されていることがわかる。

4.6.2 パラメータ算出に用いるデータに対する考察

注液アルゴリズム A' の検証実験では、目標注液量が 75 g の実験データを用いて式(4-4)のパラメータを算出した。本項では、パラメータ算出に別の目標注液量の実験データを用いた場合の注液精度を確認する。

注液アルゴリズム B の先行実験の訓練データのうち、目標注液量が 50 g と 150 g の実験データを使用して、注液アルゴリズム A' の式(4-4)のパラメータを算出した。これらのパラメータを用いることで、目標注液量をどの程度に設定すれば良いかの計算値を算出できる。Fig. 4-32 は計算値と実測値の差を示した図である。パラメータ算出に用いたデータによって若干の差はあるものの、全ての目標注液量で ± 1.5 g 以内の差に収まった。

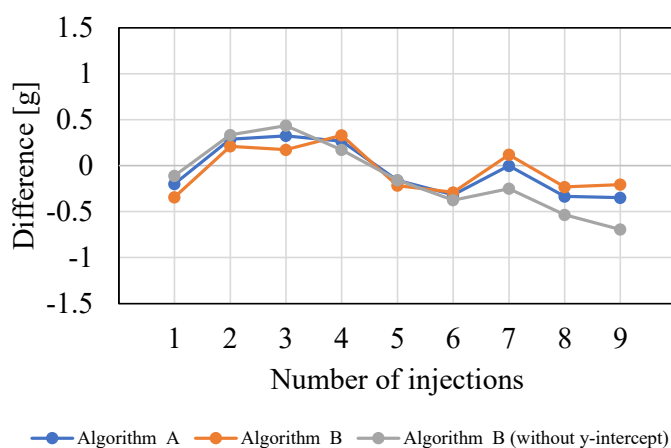
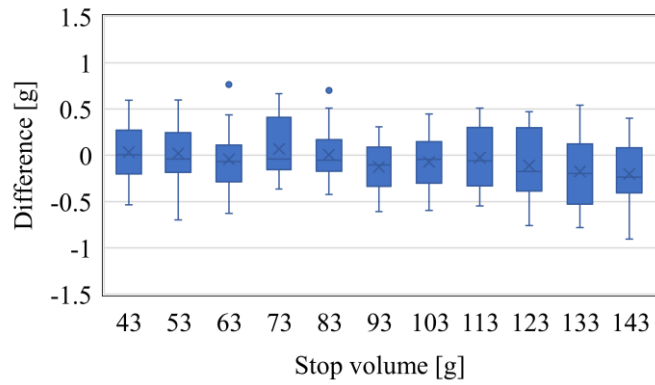
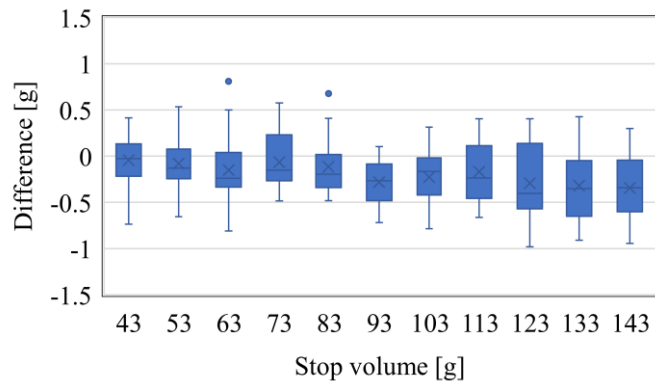


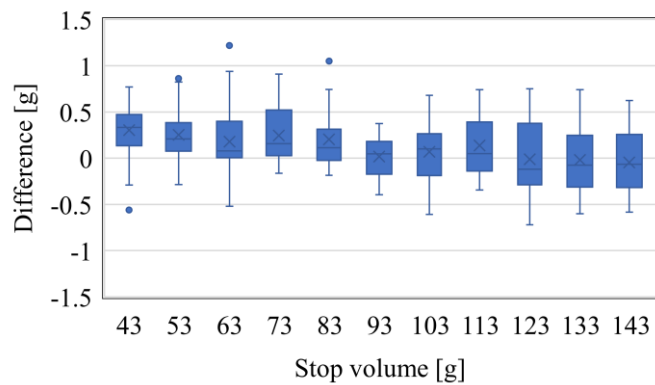
Fig. 4-31 Difference between calculated and measured values for 50-g target volume. Machine learning was performed using training data with and without y-intercept.



(a)



(b)



(c)

Fig. 4-32 Difference between calculated and measured values for each stop volume. To calculate parameters of Algorithm A', experimental data for various target volumes were used: (a) 75-g, (b) 50-g, and (c) 150-g target volumes.

4.6.3 機械学習のモデル構築に用いるデータに対する考察

注液アルゴリズム B の検証実験では、目標注液量が 50 g~150 g の全データを用いて線形回帰モデルのパラメータを算出した。本項では、パラメータ算出に使用するデータを一部に限定した場合の注液精度を確認する。

注液アルゴリズム B の先行実験の訓練データのうち、実験データの範囲や量が異なる 4 パターンの実験データを使用して、線形回帰モデルのパラメータを算出した。これらのパラメータを用いることで、目標注液量をどの程度に設定すれば良いかの計算値を算出できる。Fig. 4-33 は計算値と実測値の差を示した図である。Fig. 4-33(a)に示したように、目標注液量が 75 g のみの実験データを使用した場合は注液アルゴリズム B が機能しなかった。しかし、それ以外のパターンでは、全ての目標注液量で ± 1 g 以内の差に収まった。

培地交換では、注液作業の手順、使用する培養液の種類や量などの条件は厳密に設定されている。そのため、機械学習を注液作業に適用する場合、想定外の条件に対応するよりも、想定される条件の範囲内で、より少ない労力で高精度の注液を行うことが重要である。本章では、目標注液量は 50 g~150 g の範囲内と想定した。Fig. 4-33 (d)の結果から、目標注液量の全範囲を網羅するのではなく、最大値と最小値を訓練データとして使用すれば良いことがわかる。Fig. 4-34 は、目標注液量が 50 g と 150 g の 1 組のデータを訓練データとして使用した場合の計算値と実測値の差である。Fig. 4-33 (d)よりも若干精度が落ちたが、全ての目標注液量で ± 1.5 g 以内の差に収まった。注液作業は繰り返し行われる単調な作業である。ロボットは同じ動作を正確に繰り返すことができるため、流量、y 切片、目標注液量に大きな変化はない。そのため、少ないデータ量で高精度の注液を行うことが可能である。

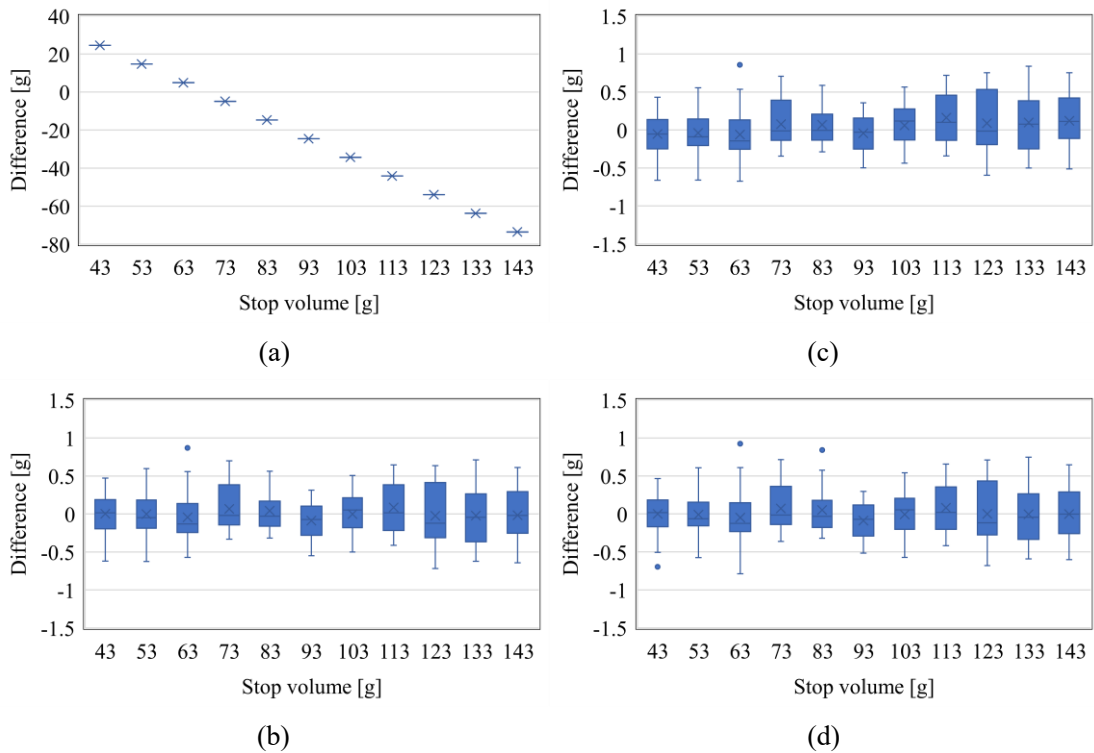


Fig. 4-33 Difference between calculated and measured values for each stop volume. Machine learning was performed using various training data. (a) Six sets of data with the 75-g target volume. (b) Six sets of data with target volumes from 50 to 150 g at 10-g intervals. (c) One set of data with target volumes from 50 to 150 g at 10-g intervals. (d) Six sets of data with target volumes of 50 and 150 g.

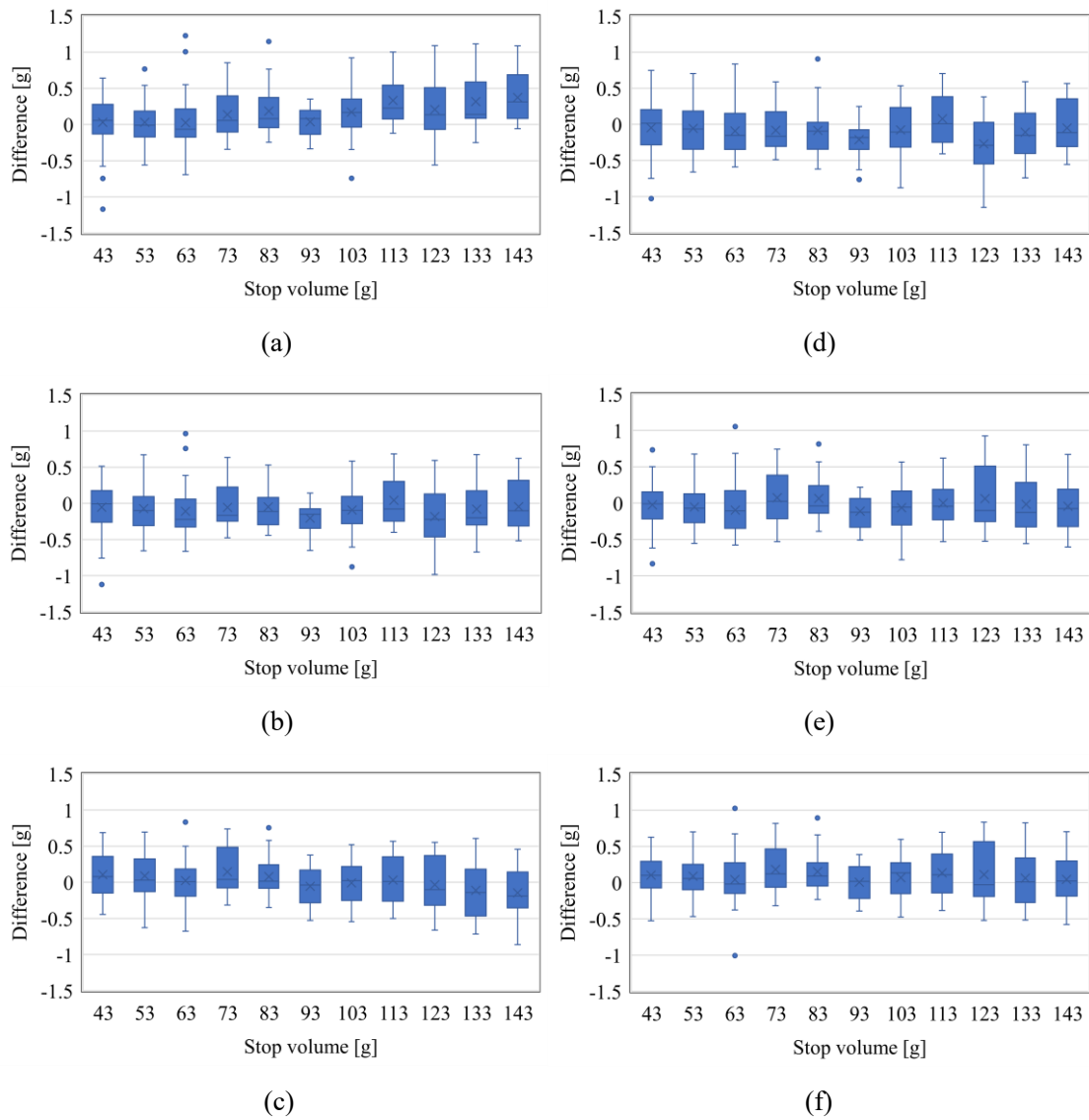


Fig. 4-34 Difference between calculated and measured values for each stop volume. Machine learning was performed using each set of training data with target volumes of 50 and 150 g. (a) First set. (b) Second set. (c) Third set. (d) Fourth set. (e) Fifth set. (f) Sixth set.

4.7 まとめ

細胞処理作業のなかで重要な作業工程の一つである培地交換プロセスの注液作業に着目し、注液作業の分析を行い、その分析に基づきロボットによる注液作業を実施し、ロボットによる作業メリットについて検討した。手作業と同等の作業時間および注液精度で液だれなく注液するという目的を、できるだけ単純な動作やアルゴリズムを用いて実現することを目指し、以下の結果が得られた。

- 注液作業は、注液開始動作、注液動作、注液終了動作から構成されている。
- 注液ボトルのキャップに吸気ポートと注液ポートを付けることで、一定流量での注液が可能となる。フラスコ内に注液された培養液量をロードセルで計測して制御する方法で、注液ボトルから直接注液することができる。
- ロボットによる注液作業は、注液ポートの先端を TCP とし、TCP を回転中心とした姿勢変化のみの軌道により実現できる。ブレの無い軌道での誘導が可能のため、作業者より短時間での注液が可能であるとともに、液だれリスクを低減できる。
- 手作業の場合の注液プロセスの所要時間は1フラスコ当たり約40秒であったが、ロボットを用いた場合の注液作業の所要時間は1フラスコ当たり約15秒であった。ロボットによる作業と手作業を組み合わせた場合、キャップ脱着を手作業で行ったとしても、注液プロセスの所要時間を半分以下に短縮できる可能性がある。
- AT と X を用いた注液アルゴリズムにより、注液流量から注液終了動作開始注液量を予測することができる。流量の大きさに関係なく、目標注液量 75 g に対する注液精度は $\pm 2\%$ 程度である。ただし、注液を繰り返すと注液ボトル内の残量が減少するため、注液回数とともに注液量が減少する。注液量の y 切片と目標注液量を用いた補正を追加することで注液精度を向上できる（目標注液量 50 g～150 g に対する注液誤差は ± 1 g 以内）。
- Python の機械学習ライブラリ（線形回帰）を用いた注液アルゴリズムにより、流量、注液量の y 切片、目標注液量から注液終了動作開始注液量を予測できる（目標注液量 50 g～150 g に対する注液誤差は ± 1 g 以内）。注液するたびに機械学習のパラメータを自動で再計算するオートチューニングも使用可能である（目標注液量 75 g に対する注液誤差は ± 1 g 以内）。
- ロボットによる注液作業では、収集したデータの量や種類、データ分析に要する労力などを考慮して、 AT と X を用いた注液アルゴリズム、機械学習を用いた注液アルゴリズム、オートチューニングの3種類から選択可能である。

上記結果により、ロボットによる注液作業は作業者と比較し、より効率的かつ高精度で行うことが可能であり、液だれによるフラスコ外の汚染のリスクを低減することが可能であることが示唆された。

第5章 培養補助ロボットの効果検証

これまでに多くの企業が全自動の培養装置を開発してきた。細胞シート積層技術と産業用ロボットを組み合わせた装置[57]、アイソレーターを中心とした細胞培養加工施設[58]、双腕ロボットを用いたプラットフォーム構築[59]などの研究に見られるように、今後も装置の多機能化が進むことが予想されるが、本研究では作業者と協働する培養補助ロボットが有効と考えた。

第3章および第4章では、廃液作業と注液作業のそれぞれについて、ロボットによる効率化手法の検討と検証を実施した。どちらの作業においても、ロボットは作業者より効率的に作業を行うことが可能であり、かつ液だれのリスクを低減できることが示された。

本章では、廃液作業の効率化手法を適用した廃液装置と、注液作業の効率化手法を適用した注液装置の開発を行う。廃液装置と注液装置を合わせたものを培養補助ロボットとし、その有効性を検証する。

5.1 培養補助ロボットの開発

5.1.1 全体システムのコンセプト

作業者が培養補助ロボットを利用して効率的に培地交換プロセスを行うための作業フローを検討する。手作業による培地交換プロセスの作業フローを Fig. 5-1 に、培養補助ロボットを導入した場合の培地交換プロセスの作業フローを Fig. 5-2 に示す。手作業の場合、8フラスコの廃液プロセスと注液プロセスを1セットとし、培地交換プロセス全体で5セット繰り返す。培養補助ロボットを導入した場合、1フラスコの廃液プロセスと注液プロセスを1セットとし、培地交換プロセス全体で40セット繰り返す。手作業の場合は廃液プロセスと注液プロセスを順次行う必要があったが、培養補助ロボットを利用することで廃液プロセスと注液プロセスの並行作業が可能となる。したがって、培養補助ロボットの導入により、Fig. 2-6のような時間配分で培地交換を行うことができる。

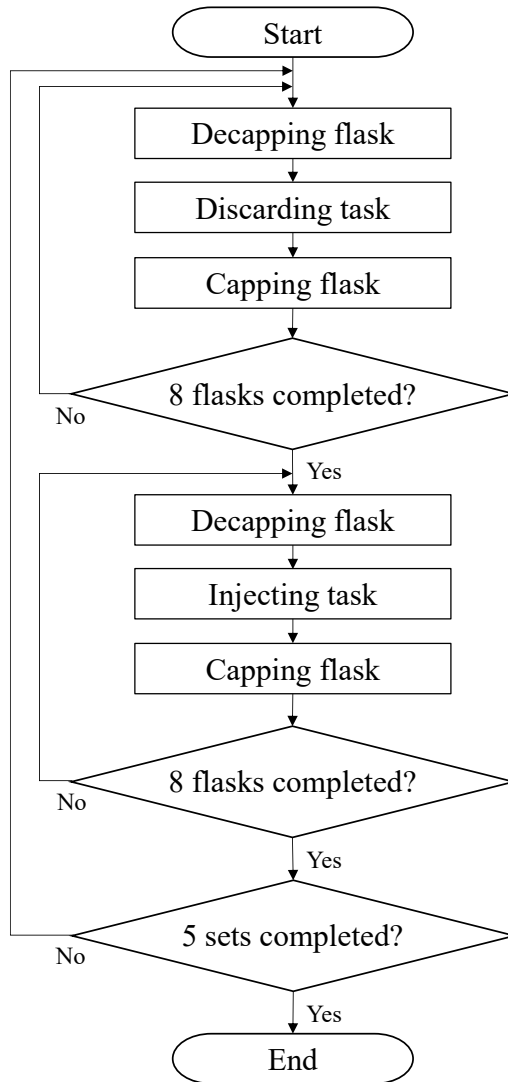


Fig. 5-1 Flowchart of the media change by humans (five sets).

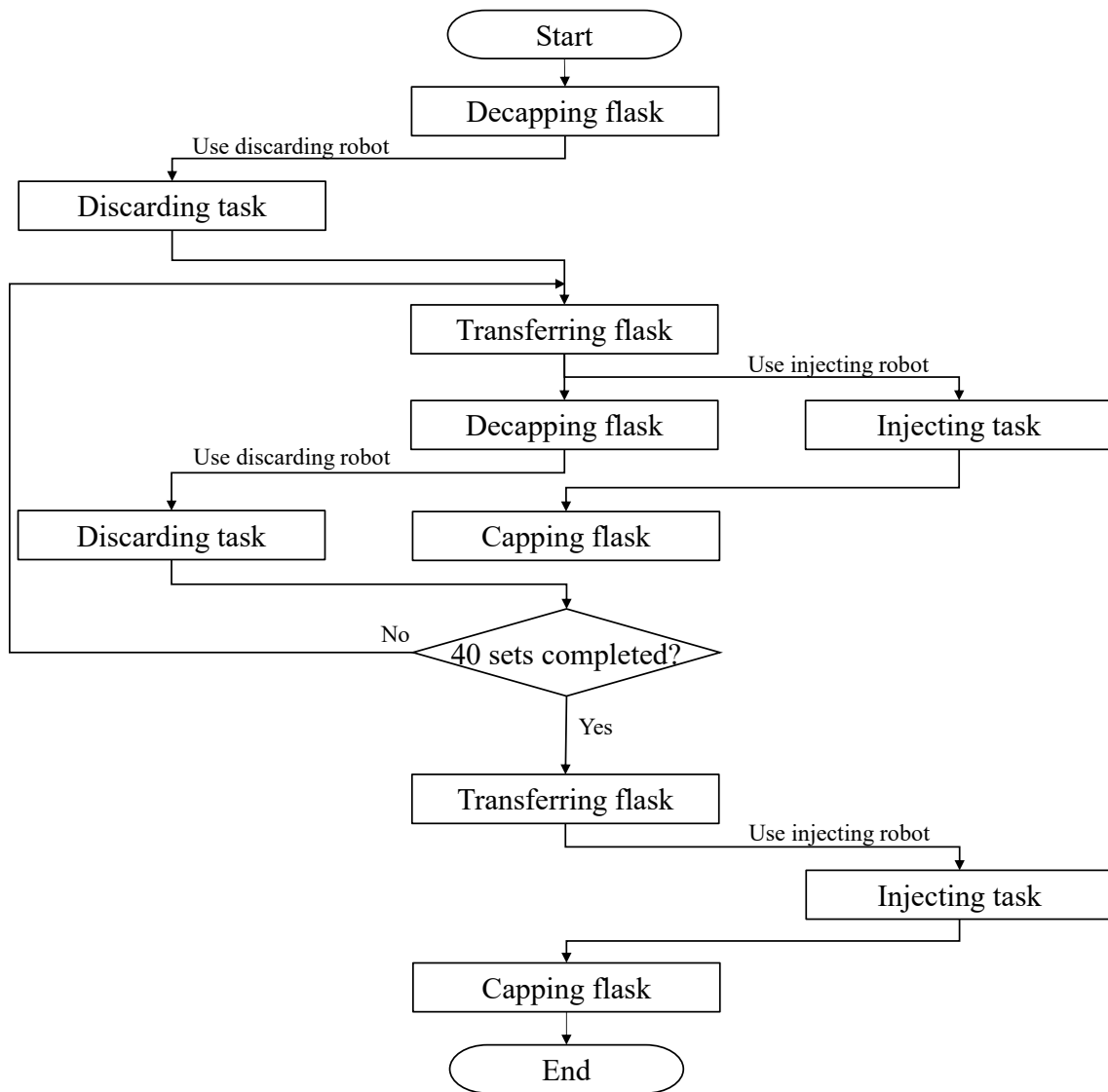


Fig. 5-2 Flowchart of the media change using discarding and injecting robots (40 sets).

5.1.2 廃液装置の開発

第3章の効率化手法を適用した廃液装置の設計を行う。廃液装置の機械設計を Fig. 5-3 に、設計仕様を Table 5-1 に示す。廃液作業は排出動作、滴下動作、退避動作で構成し、排出動作は第1高速回転動作、低速回転動作、第2高速回転動作で構成する。廃液作業の条件は、第1高速回転動作を 54 deg/s、低速回転動作を 16 deg/s、第2高速回転動作を 43 deg/s、滴下時間を 0.5 秒、退避動作を 54 deg/s とする。排出動作ではフラスコ排出口の排出側端部を TCP とし、退避動作では排出動作と反対側の端部を TCP とする。

防塵・防水対策として、モーターや配線部分はカバーで覆われているため、拭き取りも容易である。安全キャビネット内（幅=1,300 mm、奥行=500 mm、高さ=675 mm）に注液装置とともに設置し、作業者がそれらを使用して培地交換を実施できるサイズとした。また、異なるサイズの廃液ボトルに対応するため、廃液ボトルの高さを調整可能とした。

廃液装置には排出用と退避用の二つのアームがある。二つのアームは、同じ角度で反対方向に回転する。排出アームは排出動作の TCP を中心に回転し、退避アームは退避動作の TCP を中心に回転する。モーターの回転は、かさ歯車により排出動作の回転に変換される。排出動作の回転は、平歯車により退避動作の回転に変換される。

廃液装置の可搬性を高めるため、両方のアームを垂直に下げた状態で運搬できるようにした。作業者が装置を安全キャビネットに搬入して原点復帰を開始すると、排出アームと退避アームが両側から持ち上がり始め、光センサーが排出アームを検知したところで原点復帰が完了する。

廃液装置は開始ボタンと緊急停止ボタンを備えている。作業者が廃液ボトルとフラスコをセットして開始ボタンを押下すると、両方のアームが原点位置から持ち上がる際に、排出アームがフラスコ内の培養液を排出する。滴下動作の位置でフラスコが排出アームから退避アームに受け渡された後、両方のアームが原点位置に戻る際に、退避アームがフラスコを退避する。廃液作業中に廃液装置に異常が発生した場合、作業者が非常停止ボタンを押下することで廃液装置を停止できる。作業者と廃液装置が協調して作業するため、作業者は廃液装置の故障に気付くことが可能である。

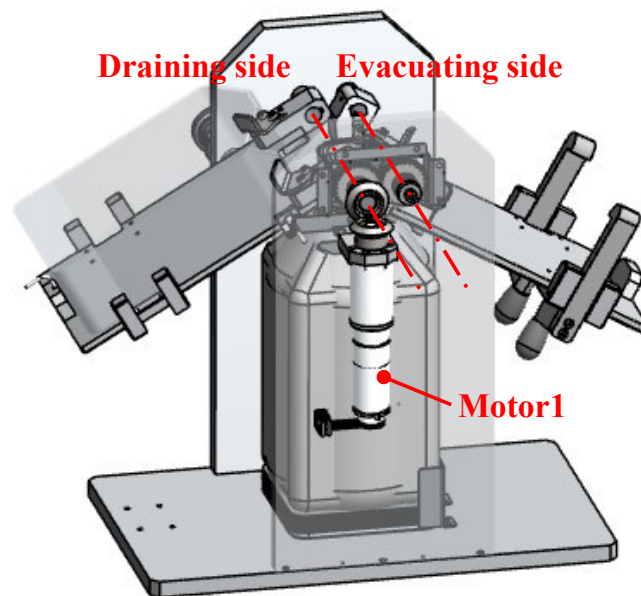
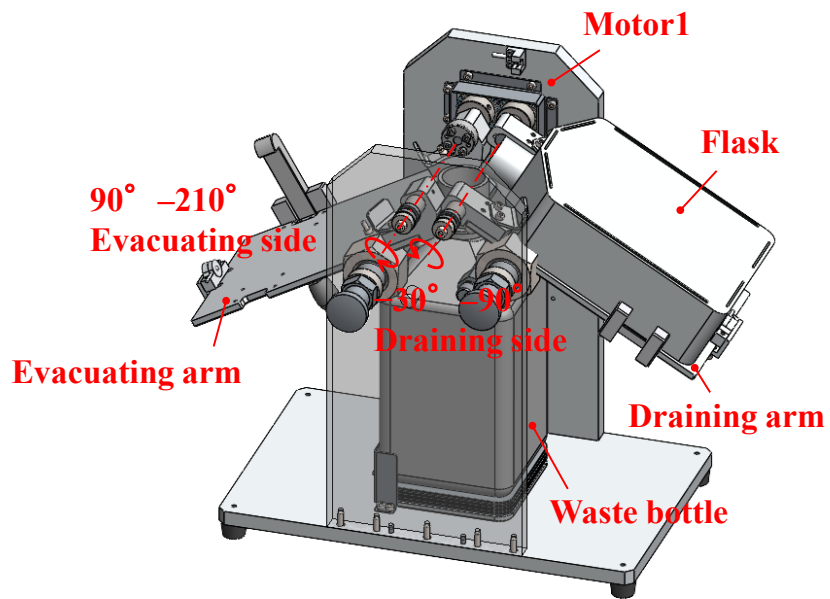


Fig. 5-3 Mechanical design of the discarding robot. The draining motion is performed by the rotation of Motor1 from -30° to 90° . Then, the evacuation motion is performed by the rotation of Motor1 from 90° to 210° .

Table 5-1 Design specifications of the discarding robot.

Items		Specification	
Width		430 mm ^a	
Depth		270 mm ^a	
Height		460 mm ^a	
Weight		6.8 kg	
1st axis Draining motion (Motor1)	1st high-speed rotation	Angular velocity	54°/s
		Range	-30°-0°
	Low-speed rotation	Angular velocity	16°/s
		Range	0°-45°
	2nd high-speed rotation	Angular velocity	43°/s
		Range	45°-90°
Dripping motion		Dripping time	0.5 s
2nd axis Evacuating motion (Motor1)		Angular velocity	54°/s
		Range	90°-210°
Motor1		maxon DCX22L GB KL 18V	
Gear head		maxon GPX26HP 326:1	
Encoder		maxon ENX16 EASY 1024IMP (1024 pulses per revolution)	
Control board		maxon EPOS4 Compact 50/5 CAN	
Photosensor		OMRON EE-SX951-W	

a. Maximum size during operation

5.1.3 注液装置の開発

第4章の効率化手法を適用した注液装置の設計を行う。注液装置の機械設計を Fig. 5-4 に、設計仕様を Table 5-2 に示す。注液作業は注液開始動作、注液動作、注液終了動作で構成する。各動作の速度は、注液開始動作を 32 deg/s、注液終了動作を 108 deg/s とする。注液ボトルのキャップは4.5節と同様のものを使用し、注液ポートの先端を TCP とする。

防塵・防水対策として、モーターやロードセルはカバーで覆われているため、拭き取りも容易である。安全キャビネット内（幅=1,300 mm、奥行=500 mm、高さ=675 mm）に廃液装置とともに設置し、作業者がそれらを使用して培地交換を実施できるサイズとした。また、異なるサイズのフラスコに対応するため、フラスコ底面の位置を調整可能とした。

注液装置は開始ボタンと緊急停止ボタンを備えている。作業者が注液ボトルとフラスコをセットして開始ボタンを押下すると、注液ボトルからフラスコに培養液が注入される。注液装置は注液アルゴリズムにより算出した注液量に到達した時点で注液終了動作を開始する。下部の表示部には注液中の培養液の重量がリアルタイムで表示されるため、作業者は正しい量の培養液が注入されたことを確認できる。注液作業中に注液ポートの閉塞などの異常が発生した場合は、作業者が緊急停止ボタンを押下することで強制的に原点位置に戻ることができる。作業者と注液装置が協調して作業するため、作業者は注液装置の故障に気付くことが可能である。

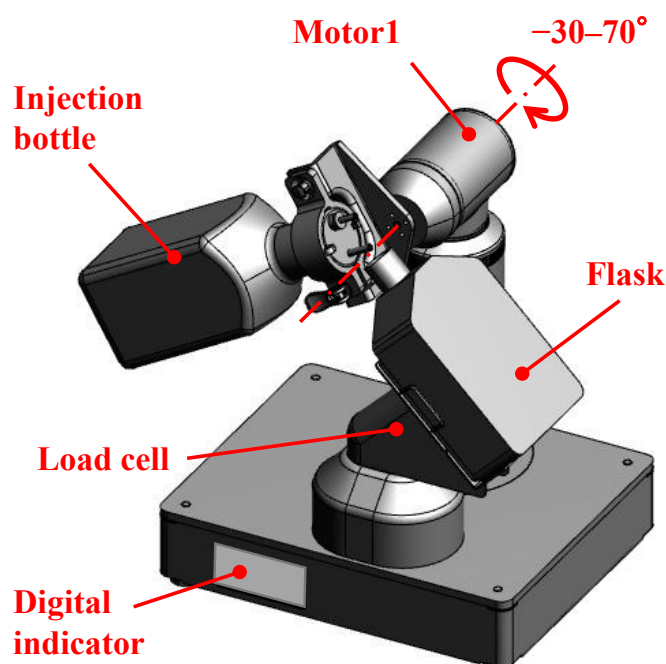


Fig. 5-4 Mechanical design of the injecting robot. The injection start motion is performed by the rotation of Motor1 from -30° to 70° . Then, the injection end motion is performed by the rotation of Motor1 from 70° to -30° .

Table 5-2 Design specifications of the injecting robot.

Items		Specification
Width		330 mm ^a
Depth		300 mm ^a
Height		500 mm ^a
Weight		6.2 kg
Payload		1.0 kg
1st axis Injection start motion (Motor1)	Angular velocity	32°/s
	Range	-30°-70°
1st axis Injection end motion (Motor1)	Angular velocity	108°/s
	Range	-30°-70°
Motor1		ROBOTIS Dynamixel PRO H42-20-S300-R
Load cell		TEAC 1004
Load cell digital indicator		TEAC TD-700T
Control board		ROBOTIS OpenCR

a. Maximum size during operation

5.1.4 全体システムの構成

5.1.2 項で開発した廃液装置と、5.1.3 項で開発した注液装置を、Fig. 2-7 のように安全キャビネット内に設置する。全体システムの構成を Fig. 5-5 に示す。両方の装置が安全キャビネット内に収まり、廃液作業前と注液作業後のフラスコを置くスペースも確保できている。どちらの装置も可搬性が高く、安全キャビネットへの搬入・搬出は問題なく行うことができた。

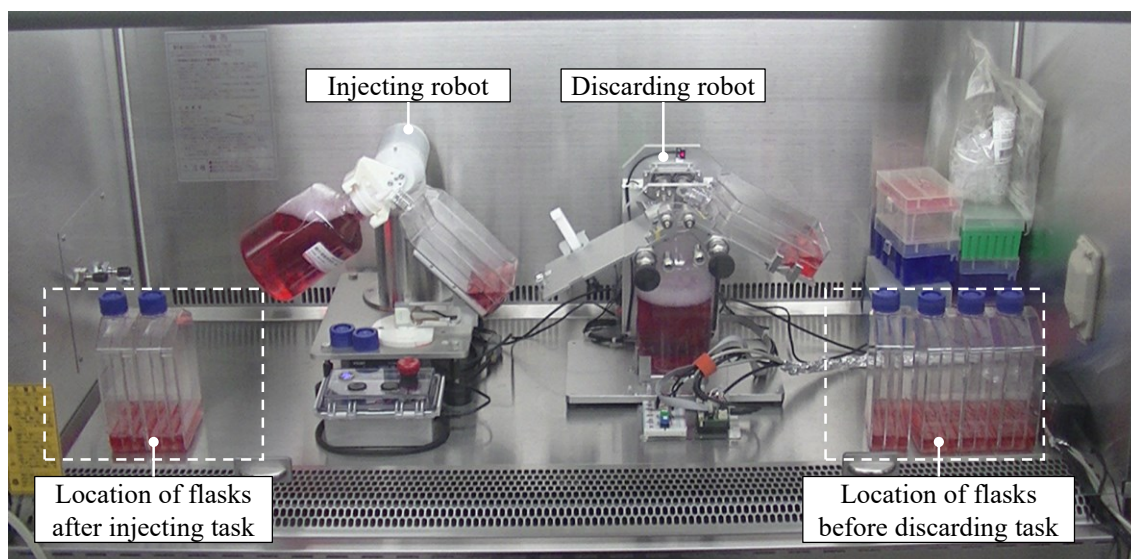


Fig. 5-5 System overview. Discarding robot (right), injecting robot (left).

5.2 培養補助ロボットの検証実験

5.2.1 廃液装置使用時の廃液時間測定

作業者が手作業で廃液作業を実施した場合の所要時間と、5.1.2 項で開発した廃液装置を使用して廃液作業を実施した場合の所要時間を測定する。実験は国士舘大学世田谷キャンパスのメイプルセンチュリーホール B3F の理工学部実習工場で行う。

Fig. 5-6 に実験システムの外観を、Table 5-3 に所要時間の測定結果を示す。廃液装置を使用することにより、液だれが発生することなく、手作業と同等以下の時間で廃液作業を行うことができた。特に、液だれを心配する必要がなくなったことは大きなメリットである。未経験者 A が他の作業者と比較して手作業の作業時間が長かったのは、液だれを防ぐために細心の注意を払ったためである。未経験者 B が廃液装置使用時に作業時間（廃液対象：水道水）を短縮できなかったのは、フラスコを廃液装置にセットして開始ボタンを押下する作業に時間がかかったためであり、廃液装置の操作に慣れることにより改善可能である。

廃液装置を用いた廃液作業を繰り返したところ、フラスコが退避アームに置かれた状態で誤って廃液作業を開始してしまうという問題が発生した。このヒューマンエラーへの対策として、ロードセルにより排出アーム及び退避アーム上のフラスコ有無を検知する機能を導入した。Fig. 5-7 は廃液作業開始時のフローチャートである。排出アームにフラスコが置かれていることと、退避アームにフラスコが置かれていないことの両方の条件を満たした場合のみ廃液作業を開始するようにしたことで、作業者のミスを防止でき、安全性を高めることができた。

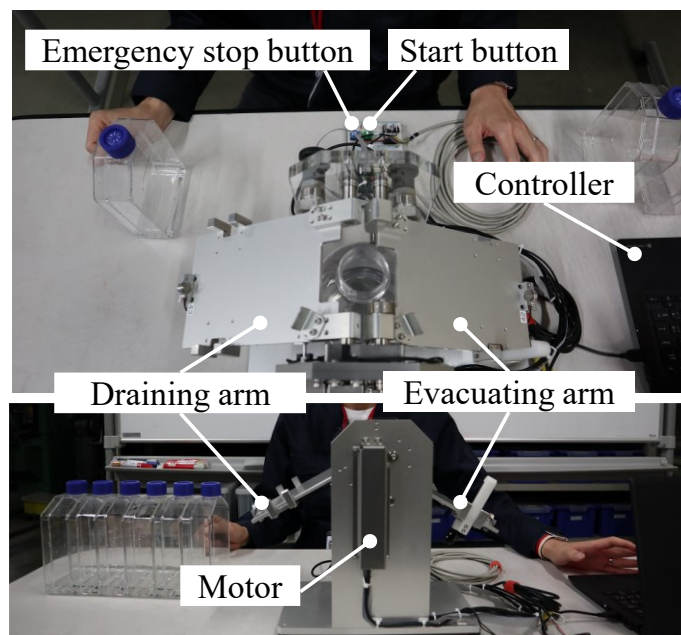


Fig. 5-6 Overview of the discarding robot.

Table 5-3 Time taken by each operator.

Operator	Object	Operator only	Robot with the operator
Beginner A	Water	2 min 32 s	2 min 12 s
	Culture media	2 min 33 s	2 min 15 s
Beginner B	Water	2 min 12 s	2 min 12 s
	Culture media	2 min 18 s	2 min 05 s
Expert	Culture media	2 min 09 s	-

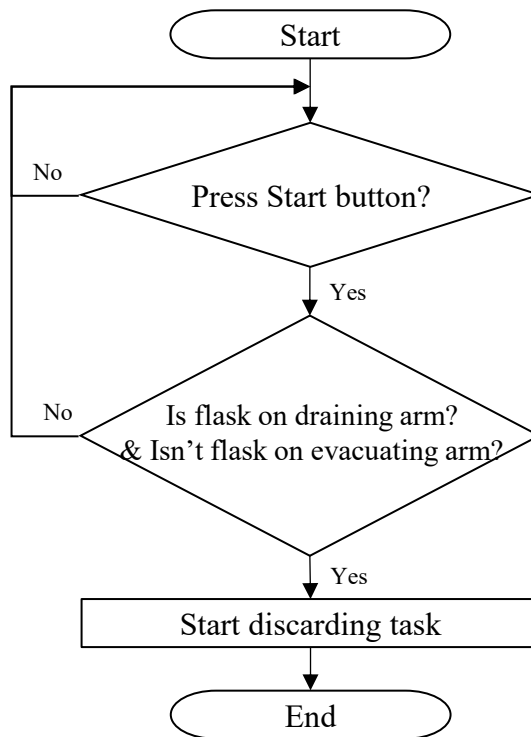


Fig. 5-7 Flowchart to start the discarding task.

5.2.2 注液装置使用時の注液精度検証

5.1.3 項で開発した注液装置を使用して注液精度を測定する。注液アルゴリズムは、Fig. 4-20 に従って判定した結果、 ΔT と X を用いた注液アルゴリズム（補正あり）を採用することとした。実験は国士舘大学世田谷キャンパスのメイプルセンチュリーホール B3F の理工学部実習工場で行われる。

注液量が 68 g を超えた時点で注液終了動作を開始すると 75 g 程度が注液される。注液ボトル内の培養液量を 950 g とし、注液ボトルを 70 deg 傾けて注液する場合、最後の 50 g 程度は注液できずに残るため、12 回まで注液可能である。この 12 回を 1 セットとして、3 セットの先行実験を実施した。4.5.1 項と比較して、注液ボトル内の培養液量を 2 倍に増やしたため、先行実験のセット数を半分に減らした。その平均値を採用し、 ΔT は 1.083 秒、 X は 75.2% に決定した。

次に、得られた ΔT と X を用いた注液アルゴリズムを元のデータに適用し、目標注液量の計算値を算出した。注液量の y 切片と、計算値と実測値の差の相関を Fig. 5-8 に示す。同様に、注液量の x 切片と、計算値と実測値の差の相関を Fig. 5-9 に示す。それぞれの補正量を元のデータに適用し、計算値と実測値の差の二乗平均平方根（RMS）を算出した結果、 y 切片を用いた場合は 0.240、 x 切片を用いた場合は 0.245 となった。どちらも相関性は見られるが、 y 切片を使用することとする。 y 切片と注液誤差には相関関係があるため、 y 切片を用いた補正量は下記式となる。

$$C_1 = -0.0980(b_y + 20.2980) \quad (5-1)$$

Fig. 5-10 は、注液終了動作開始時の残量と、注液終了動作開始後の注液量の相関を示したものである。75 g と目標注液量の差が、注液終了動作開始時の残量の差となるため、目標注液量 V_t を用いた補正量は下記式となる。

$$C_2 = -0.0010(V_t - 75.0) \quad (5-2)$$

ΔT 、 X 、2 種類の補正量から式(4-4)のパラメータを算出する。4.5.4 項の 6 軸垂直多関節型産業用ロボットを使用した場合のパラメータと、注液装置を使用した場合のパラメータを Table 5-4 に示す。

算出したパラメータを使用して、注液装置使用時の注液精度を測定した。目標注液量は 50 g～150 g の間で 10 g 間隔で設定し、950 g の培養液を残量が 50 g を下回る直前まで繰り返し注液した。検証実験を 3 セット実施した結果を Table 5-5、Fig. 5-11 に示す。注液装置を使用した場合も、4.5.4 項の結果と同様に作業者や補正なしの注液アルゴリズムと比較して、高い精度で注液できており、実際の培地交換で十分に使用できると考える。

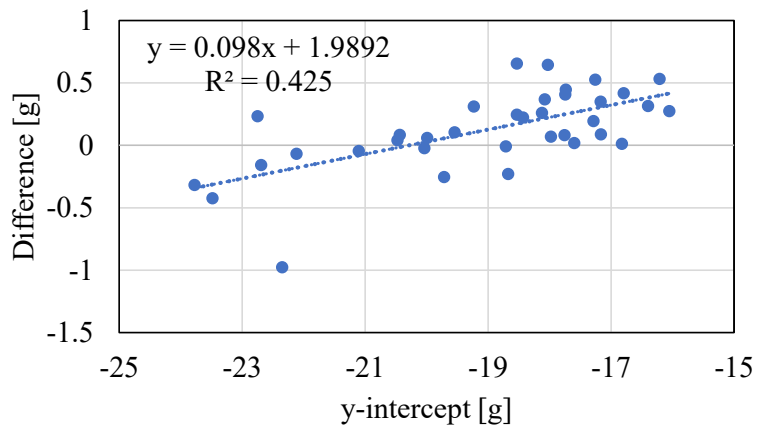


Fig. 5-8 Correlation between y-intercept of injection volume and difference between calculated and measured values (when using the injecting robot).

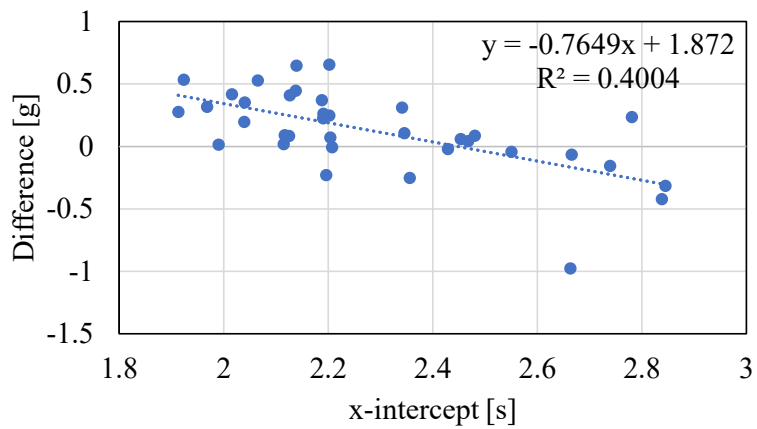


Fig. 5-9 Correlation between x-intercept of injection volume and difference between calculated and measured values (when using the injecting robot).

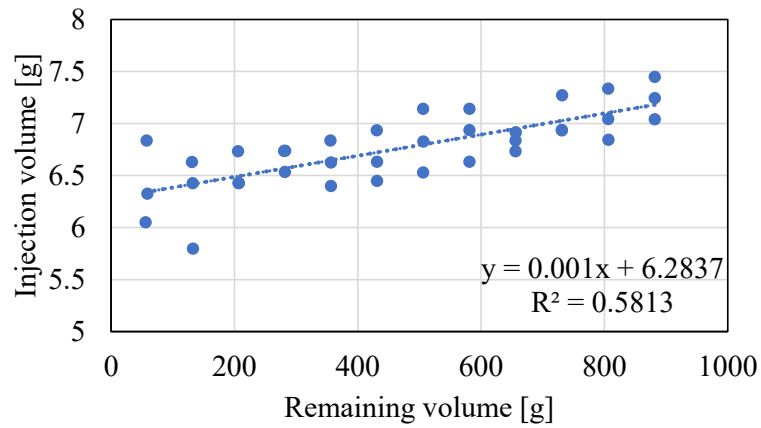


Fig. 5-10 Correlation between remaining volume in injection bottle and injection volume after the start of injection end motion (when using the injecting robot).

Table 5-4 Parameters for evaluating experiment of the six-axis articulated robot and injecting robot.

Parameters	Six-axis articulated robot	Injecting robot
w_1	-0.8120	-0.8144
w_2	-0.1421	-0.0980
w_3	1.0007	0.9990
b	-3.5116	-1.9142

Table 5-5 Experimental results for each target volume (when using the injecting robot).

Target volume [g]	RMS of injection error [g]	Average [g]	Standard deviation (1σ) [g]	Standard deviation (3σ) [g]
50	0.24	50.10	0.22	0.66
60	0.23	60.14	0.18	0.54
70	0.22	70.13	0.18	0.54
80	0.18	80.01	0.18	0.53
90	0.26	90.11	0.24	0.73
100	0.23	100.11	0.20	0.61
110	0.17	110.00	0.17	0.52
120	0.18	120.01	0.18	0.55
130	0.20	129.99	0.20	0.60
140	0.21	140.01	0.22	0.65
150	0.22	150.00	0.23	0.68

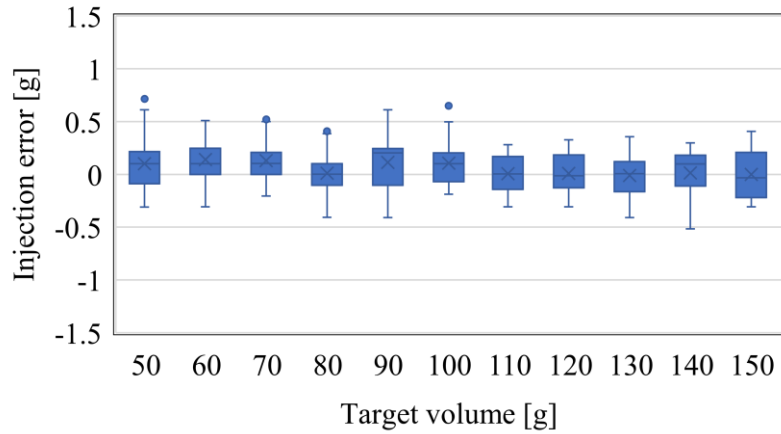


Fig. 5-11 Injection error for each target volume (when using the injecting robot).

5.2.3 培養補助ロボット導入による所要時間の短縮効果検証

作業員 1 名，支援者 1 名で，廃液装置と注液装置を使用して培地交換を実施したときの所要時間を測定する．実験はテルモ株式会社湘南センターで実施する．なお，使用する培養液は 20%ウシ胎児血清含有 MCDB 基礎培地，フラスコの排出口は外径 $\phi 28.2$ mm，内径 $\phi 25.8$ mm，厚さ $t=1.2$ mm，廃液ボトルの排出口は外径 $\phi 34.2$ mm，内径 $\phi 29.4$ mm，厚さ $t=2.4$ mm である．また，実験を行う細胞処理作業従事者の再生医療等製品の製造に関する実務経験年数は 10 年である．

作業の効率化および作業ミス防止のため，キャップ脱着・フラスコ移送・ボトル交換のタイミング等，検証実験の作業ルールを決めておく必要がある．まず，一つ目に，廃液ボトルと注液ボトルは 10 フラスコごとに交換する．廃液ボトルと注液ボトルの容量を考慮すると，10 フラスコ以上の培養液が入るが，作業員の手順が煩雑になることを防ぐには，切りの良いタイミングで両方のボトルを交換する方が良いと考えられる．二つ目に，注液中に廃液ボトルを交換し，注液後に注液ボトルを交換する．注液装置による注液作業と，作業員による廃液ボトル交換が並行できるため，装置が停止している時間を短くすることができる．三つ目に，初回とボトル交換後以外は，注液装置の開始後に廃液装置を開始するという順序とする．注液作業より廃液作業の方が短いため，注液作業中に廃液作業を複数回行い，廃液作業後のフラスコを溜めておくことも可能だが，注液作業が律速となり培地交換全体の時間は短縮できないため，廃液作業を急ぐ必要はない．

培養補助ロボットを使用して廃液プロセスと注液プロセスの所要時間を測定した結果を Table 5-6 に示す．培養補助ロボットを使用した場合の所要時間の平均は，廃液プロセスが 40 フラスコで 7 分 55 秒（1 フラスコあたり 11.88 秒），注液プロセスが 40 フラスコで 12 分 46 秒（1 フラスコあたり 19.15 秒）であった．培養補助ロボットの導入により廃液プロセスと注液プロセスを並行して行えるようになり，合わせて 14 分 51 秒で実施できた．

廃液プロセスと注液プロセスの所要時間の比較を Table 5-7, Fig. 5-12 に示す．培養補助ロボットの導入により，廃液プロセスと注液プロセスの時間は 37 分 30 秒から 14 分 51 秒に短縮できた．また，培養補助ロボットを使用した 3 回の培地交換において，液だれは 1 回も発生しなかった．

Table 5-6 Time taken for each process by robots with the operator.

-	Discarding process		Injecting process		Total
	40 flasks	1 flask	40 flasks	1 flask	40 flasks
1st	8 min 09 s	12.10 s	13 min 42 s	20.55 s	15 min 57 s
2nd	7 min 50 s	11.75 s	12 min 10 s	18.25 s	14 min 13 s
3rd	7 min 46 s	11.65 s	12 min 25 s	18.63 s	14 min 22 s
Avg.	7 min 55 s	11.80 s	12 min 46 s	19.10 s	14 min 51 s

Table 5-7 Time taken for each process.

-	Discarding process		Injecting process		Total
	40 flasks	1 flask	40 flasks	1 flask	40 flasks
Operator only	10 min 46 s	16.15 s	26 min 44 s	40.10 s	37 min 30 s
Robots with the operator	7 min 55 s	11.88 s	12 min 46 s	19.15 s	14 min 51 s

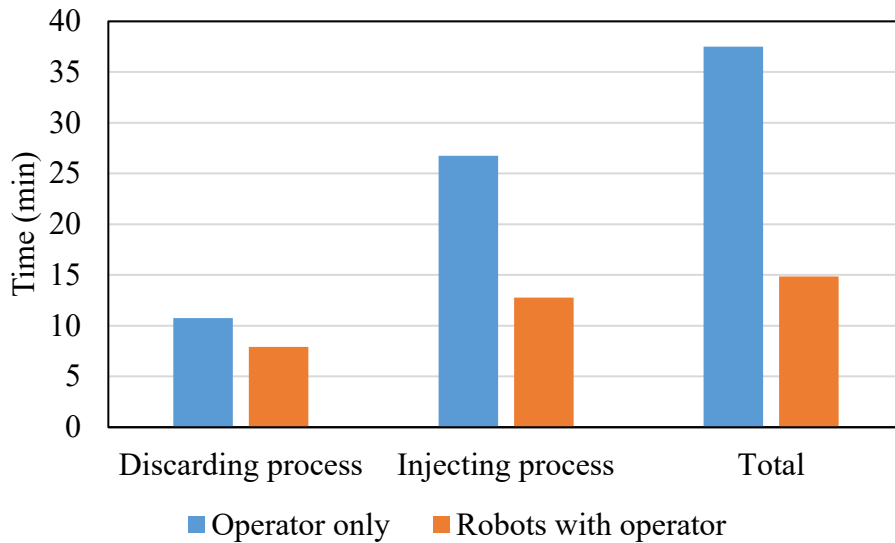


Fig. 5-12 Time taken for each process.

5.3 培養補助ロボットの検証実験に対する考察

5.3.1 安全キャビネットのファン稼働時の注液精度に対する考察

注液装置はロードセルを用いて注液中の培養液の重量を計測しながら注液終了動作開始注液量を予測する。注液装置は安全キャビネット内に設置するため、ファン稼働時の振動や風圧が注液精度に影響を与えてはいけない。

Fig. 5-13 に、安全キャビネット内での重量測定結果を示す。測定開始から 10 秒後にファンの電源を入れ、60 秒後にファンの電源を切った。ファンが稼働している間は、重量は 0.15 g を中心に -0.01 g ~ 0.02 g の範囲で変動している。測定値から 0.15 g を引くと、誤差は -0.01 g ~ 0.02 g となり、注液量の 75 g と比較して十分に小さい。したがって、ファンの振動や風圧が注入精度に与える影響は軽微であると考ええる。

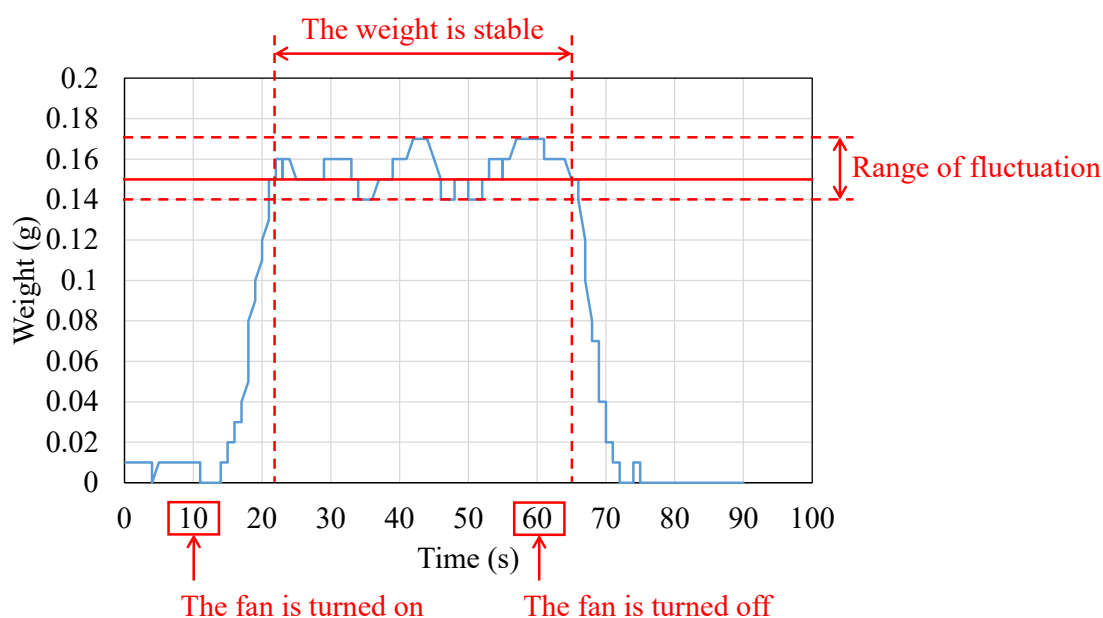


Fig. 5-13 Weight measurement results in the safety cabinet. During the operation of the fan, the weight fluctuates in the range of -0.01 to 0.02 g around 0.15 g .

5.3.2 培養補助ロボット導入による所要時間の短縮効果に対する考察

人と協働する培養補助ロボットを導入することにより、廃液プロセスと注液プロセスの時間を 37 分 30 秒から 14 分 51 秒に短縮できた。それ以外の作業は装置の使用によらず発生するため、Table 2-1 のフラスコ搬入・搬出の 5 分 46 秒は同等と考えた場合、培地交換全体としては 43 分 16 秒から 20 分 37 秒 (47.7%) に短縮できた。人件費にすると、作業者と支援者の 2 名分×22 分 39 秒のコスト削減になる。また、培養補助ロボットを使用する場合は装置の準備と片付けが発生するが、ピペットの準備や片付けは不要となるため、手作業の場合の前段取りや後片付けの時間内に収まると考えられる。

培地交換を実施するフラスコ数と時間短縮効果の関係について考える。培養補助ロボットにより作業時間を大幅に短縮できたのは、廃液プロセスと注液プロセスを並行できたためである。この並行作業は、廃液プロセスの 1 フラスコ目と注液プロセスの 40 フラスコ目以外に適用できるが、注液プロセスの方が廃液プロセスより作業時間が長いため、注液プロセスが律速となる。フラスコ数を n としたとき、 n フラスコの培地交換にかかる時間は、廃液プロセスの 1 フラスコ分と注液プロセスの n フラスコ分の作業時間が大半を占める。検証実験 (2 回目) の測定結果をもとに、手作業の場合に対する培養補助ロボットを導入した場合の作業時間比率を算出した結果を Fig. 5-14 に示す。作業時間比率は、2 フラスコ目で 50%を下回り、2 フラスコ~40 フラスコでは 35%~45%の範囲内となった。よって、フラスコ数が 40 枚までいかになくとも、2 枚程度の極めて少ないフラスコ数から、並行作業による十分な時間短縮効果が得られることがわかる。

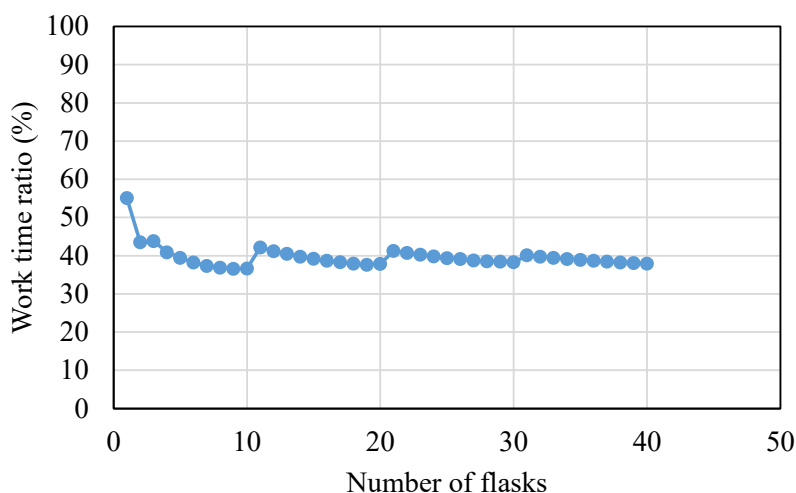


Fig. 5-14 Work-time ratio when using the robot to that of manual work.

5.4 まとめ

細胞処理作業のなかで重要な作業工程の一つである培地交換プロセスにおいて、特に作業者の感覚動作に頼っている廃液作業と注液作業を自動化し、かつ安全キャビネット内で使用可能な培養補助ロボットの開発および検証を行い、以下の結果が得られた。

- 培養補助ロボットは可搬性が高く、安全キャビネットへの搬入・搬出が容易である。
- 作業者と培養補助ロボットは、安全キャビネット内で協働して培地交換を行うことが可能である。
- 廃液装置の使用により所要時間が短縮できるかどうかは作業者次第であるが、液だれなく廃液作業を行うことができることは大きなメリットである。
- 注液装置は手作業より高精度で、かつ液だれなく注液作業を行うことができる。
- 培養補助ロボットを使用することで、廃液プロセスと注液プロセスの並行作業が可能となり、手作業の場合と比較して培地交換の所要時間を 47.7%に短縮できた。

培養補助ロボットを導入することで、培地交換における作業時間の短縮と液だれの防止を実現することができた。

第6章 結論

再生医療で使用される細胞は、製造にかかる費用や労力が大きく、その効率化が望まれている。再生医療等製品の本格的な事業化に合わせて、多くの企業や研究機関が自動培養装置の開発を進めているが、全工程を自動化した装置は汎用性や拡張性などフレキシビリティに欠けるうえ、コストが高くなるなどの課題がある。本研究では、ロボットが得意な作業と人が得意な作業を組み合わせ、単純な構成でかつ合理的に細胞処理作業を行う細胞処理システムを構築し、その有効性を確認した。

以下に、本論文の結論をまとめる。

第1章では、研究背景と既存の自動培養装置の課題を説明し、本研究の具体的なアプローチを示した。再生医療の領域では全自動の細胞培養装置の導入が困難であったため、ロボットによる作業と手作業を組み合わせた細胞処理システムの実現を目指すことを目的とした。

第2章では、細胞処理作業を構成する各作業を抽出し、作業者とロボットの分担を判断した。実施頻度が高く、かつロボットが得意な動作という観点から、培地交換プロセスの廃液作業と注液作業をロボットの分担とした。ロボットの特性をいかした作業方法により、液だれの防止と作業時間の半減を実現できると考えた。

第3章では、ロボットによる廃液作業の効率化手法を提案し、検証実験を実施した。作業者が行った廃液作業の分析を通じて、廃液作業を排出動作・滴下動作・退避動作の3つの動作に分解した。フラスコを退避する際、作業者は元の方向にしか退避できないが、ロボットは作業者では不可能な方向にも退避可能なため、液だれを防ぐことができると考えた。作業者の排出動作を参考に、排出動作をさらに第1高速回転動作・低速回転動作・第2高速回転動作の3段階に分け、それぞれの動作速度を3種類ずつ設定し、実験計画法により最適な速度の組み合わせを決定した。また、液だれが発生するパターンを考慮して、動作速度の調整を行った。その結果、第1高速回転動作を 54 deg/s、低速回転動作を 16 deg/s、第2高速回転動作を 43 deg/s、滴下時間を 0.5 秒、退避速度を 54 deg/s とした。決定した条件における検証実験では、ロボットは作業者より 4.7 秒短い時間で、液だれなく廃液作業を実施できることを確認した。

第4章では、ロボットによる注液作業の効率化手法を提案し、検証実験を実施した。吸気ポートと注液ポートを備えたキャップを開発することで、注液ボトルから一定流量の注液を可能とした。ロードセルによりフラスコ内に注液された培養液の重量をリアルタイムで測定し、注液終了動作中に注液される培養液量を事前に予測して注液停止タイミングを決定することで、作業者よりも高い精度で注液できるアルゴリズムを開発した。作業者より精度が高いだけでなく流量の変化にも対応できたが、注液を繰り返すと注液ボトル内の残量が減少し、注液終了動作中の注液量が減少することから、最終的な注液量が減少するという現象が発生した。そこで、さらなる注液精度向上のため、注液量の y 切片と目標注液量による補正を追加した。また、補正を含めた注液アルゴリズムと同等の機能を持つ別の方法とし

て、機械学習の線形回帰を用いる注液アルゴリズムを考案した。これらの注液アルゴリズムを用いて検証実験を行い、ロボットは作業員より効率的に、かつ液だれなく注液作業を実施できることを確認した。手作業の場合は目標注液量 75 g に対する注液誤差が ± 1.5 g 以内であったが、本研究で考案した注液アルゴリズムを用いた場合は目標注液量 50 g~150 g に対する注液誤差が ± 1 g 以内となり、注液精度を向上させることができた。

第 5 章では、人と協働して培地交換を実施できる培養補助ロボットとして、廃液作業の効率化手法を適用した廃液装置と注液作業の効率化手法を適用した注液装置を、安全キャビネット内に設置可能になるように開発した。培地交換プロセスの作業分析を行い、培養補助ロボットを導入した場合に、ロボットの作業と手作業をどのように組み合わせれば効率的に作業できるのかを検討した。廃液装置を使用した廃液時間の測定と、注液装置を使用した注液精度の測定を行ったところ、手作業と同等以上の結果が得られた。作業員が単独で培地交換を行う場合は廃液プロセスと注液プロセスを順次行う必要があったが、培養補助ロボットにより並行作業が可能となり、手作業の場合と比較して培地交換の所要時間を 47.7%に短縮することができた。

本研究で提案した細胞処理システムでは、培地交換プロセスの廃液作業と注液作業をロボットの分担とした。TCP を回転中心とした姿勢変化のみで廃液作業と注液作業を行う方法を考案したことで、どちらのロボットも 1 つのモーターのみで実現できた。それにより、両方のロボットを安全キャビネットに収めることが可能となり、手作業と組み合わせたシステム全体としても単純な構成にすることができた。本システムでは廃液作業と注液作業を自動化したが、そのほかにもロボットの分担を増やすことで、さらなる改善に繋がる可能性はある。例えば、細胞の懸濁などの作業員の分担とした作業は、ロボットによる作業時間の短縮は難しいかもしれないが、作業員の負荷軽減を重視するのであれば、自動化することも選択肢の一つである。

本システムを導入することで、作業時間短縮による培養コストの削減や、液だれ防止によるコンタミネーションリスクの低減が期待できる。培養補助ロボットは手作業による細胞処理作業の一部を置き換えるものであるため、現時点で製造販売承認を受けている再生医療等製品の生産工程にそのまま導入可能となっている。今後、再生医療等製品の生産効率向上による治療コストの低下により、再生医療の普及が加速することを期待したい。

用語集

用語	内容
細胞処理作業	細胞の播種から回収までの一連の作業.
培養液	細胞の培養に必要な栄養素を含んだ液.
培地交換	フラスコ内の培養液を入れ替える作業.
ES 細胞	動物の発生初期段階である胚盤胞期の胚の一部に属する内部細胞塊より作られる幹細胞細胞株のこと.
iPS 細胞	体細胞へ4種類の遺伝子を導入することにより, ES 細胞のように非常に多くの細胞に分化できる分化万能性と, 分裂増殖を経てもそれを維持できる自己複製能を持たせた細胞のこと.
スキャフォールド	細胞の増殖を制御する基材.
細胞培養	体の中から組織や細胞を取り出し, 培養容器の中で細胞を生かし続けたり増殖させたりすること.
細胞培養施設	細胞培養に必要な清浄度が保たれている専用のクリーンルームのこと.
再生医療等製品	人又は動物の細胞に培養その他の加工を施したものであって, 身体の構造・機能の再建・修復・形成や, 疾病の治療・予防を目的として使用するもの, または, 遺伝子治療を目的として, 人の細胞に導入して使用するもの.
インキュベーター	温度, 湿度, 二酸化炭素濃度を一定に保つための装置.
コンタミネーション	細胞の培養中に余計な雑菌(バクテリアやカビの類)が入り込んで増殖すること.
安全キャビネット	バイオハザードを封じ込めるための箱状の実験設備.
液だれ	培地交換などの作業中に培養液がこぼれる現象.
細胞播種	培養容器に細胞を加えること.
継代	新しい培養容器に細胞をまき替えること.

参考文献

第 1 章

- [1] S. K. Sanganalmath, and R. Bolli, “Cell Therapy for Heart Failure: A Comprehensive Overview of Experimental and Clinical Studies, Current Challenges, and Future Directions,” *Circulation Research*, Vol.113, No.6, pp.810–834, 2013.
- [2] H. Tsujimoto, and K. Osafune, “Current status and future directions of clinical applications using iPS cells—focus on Japan,” *The FEBS Journal*, 2021.
- [3] P. Menasché, O. Alfieri, S. Janssens, W. McKenna, H. Reichenspurner, L. Trinquart, J. T. Vilquin, J. P. Marolleau, B. Seymour, J. Larghero, S. Lake, G. Chatellier, S. Solomon, M. Desnos, and A. A. Hagège, “The Myoblast Autologous Grafting in Ischemic Cardiomyopathy (MAGIC) Trial: First Randomized Placebo-Controlled Study of Myoblast Transplantation,” *Circulation*, Vol.117, No.9, pp.1189–1200, 2008.
- [4] J. M. Hare, J. E. Fishman, G. Gerstenblith, D. L. DiFede Velazquez, J. P. Zambrano, V. Y. Suncion, M. Tracy, E. Ghersin, P. V. Johnston, J. A. Brinker, E. Breton, J. Davis-Sproul, J. Byrnes, R. George, A. Lardo, I. H. Schulman, A. M. Mendizabal, M. H. Lowery, D. Rouy, P. Altman, C. Wong Po Foo, P. Ruiz, A. Amador, J. Da Silva, I. K. McNiece, and A. W. Heldman, “Comparison of Allogeneic vs Autologous Bone Marrow–Derived Mesenchymal Stem Cells Delivered by Transendocardial Injection in Patients With Ischemic Cardiomyopathy: The POSEIDON Randomized Trial,” *JAMA*, Vol.308, Issue.22, pp.2369–2379, 2012.
- [5] R. R. Makkar, R. R. Smith, K. Cheng, K. Malliaras, L. E. Thomson, D. Berman, L. S. Czer, L. Marbán, A. Mendizabal, P. V. Johnston, S. D. Russell, K. H. Schuleri, A. C. Lardo, G. Gerstenblith, and E. Marbán, “Intracoronary cardiosphere-derived cells for heart regeneration after myocardial infarction (CADUCEUS): a prospective, randomised phase 1 trial,” *The Lancet*, Vol.379, Issue.9819, pp.895–904. 2012.
- [6] O. Caspi, I. Huber, I. Kehat, M. Habib, G. Arbel, A. Gepstein, L. Yankelson, D. Aronson, R. Beyar, and L. Gepstein, “Transplantation of Human Embryonic Stem Cell-Derived Cardiomyocytes Improves Myocardial Performance in Infarcted Rat Hearts,” *Journal of the American College of Cardiology*, Vol.50, Issue.19, pp.1884–1893, 2007.
- [7] M. Mandai, A. Watanabe, Y. Kurimoto, Y. Hirami, C. Morinaga, T. Daimon, M. Fujihara, H. Akimaru, N. Sakai, Y. Shibata, M. Terada, Y. Nomiya, S. Tanishima, M. Nakamura, H. Kamao, S. Sugita, A. Onishi, T. Ito, K. Fujita, S. Kawamata, M. J. Go, C. Shinohara, K. I. Hata, M. Sawada, M. Yamamoto, S. Ohta, Y. Ohara, K. Yoshida, J. Kuwahara, Y. Kitano, N. Amano, M. Umekage, F. Kitaoka, A. Tanaka, C. Okada, N. Takasu, S. Ogawa, S. Yamanaka, and M. Takahashi, “Autologous Induced Stem-Cell-Derived Retinal Cells for Macular Degeneration,” *The New England Journal of Medicine*, Vol.376, Issue.11, pp.1038–1046, 2017.
- [8] T. Imamura, K. Kinugawa, Y. Sakata, S. Miyagawa, Y. Sawa, K. Yamazaki, and M. Ono,

- “Improved clinical course of autologous skeletal myoblast sheet (TCD-51073) transplantation when compared to a propensity score-matched cardiac resynchronization therapy population,” *Journal of Artificial Organs*, Vol.19, No.1, pp.80–86, 2016.
- [9] Y. Sawa, Y. Yoshikawa, K. Toda, S. Fukushima, K. Yamazaki, M. Ono, Y. Sakata, N. Hagiwara, K. Kinugawa, and S. Miyagawa, “Safety and Efficacy of Autologous Skeletal Myoblast Sheets (TCD-51073) for the Treatment of Severe Chronic Heart Failure Due to Ischemic Heart Disease,” *Circulation Journal*, Vol.79, No.5, pp.991–999, 2015.
- [10] テルモ株式会社, “テルモ、世界初の心不全治療用の再生医療等製品「ハートシート」発売,” <https://www.terumo.co.jp/newsrelease/detail/20160530/792>, 閲覧日 2022.11.5.
- [11] M. Kempner, and R. Felder, “A Review of Cell Culture Automation,” *JALA*, Vol.7, No.2, pp.56–62, 2002.
- [12] M. Daniszewski, D. E. Crombie, R. Henderson, H. H. Liang, R. C. B. Wong, A. W. Hewitt, and A. Pébay, “Automated Cell Culture Systems and Their Applications to Human Pluripotent Stem Cell Studies,” *SLAS Technology*, Vol.23, Issue.4, pp.315–325, 2018.
- [13] F. Regent, L. Morizur, L. Lesueur, W. Habeler, A. Plancheron, K. B. M’Barek, and C. Monville, “Automation of human pluripotent stem cell differentiation toward retinal pigment epithelial cells for large-scale productions,” *Scientific Reports*, Vol.9, No.10646, 2019.
- [14] R. J. Thomas, A. D. Hope, P. Hourd, M. Baradez, E. A. Miljan, J. D. Sinden, and D. J. Williams, “Automated, serum-free production of CTX0E03: a therapeutic clinical grade human neural stem cell line,” *Biotechnology Letters*, Vol.31, Issue.8, pp.1167–1172, 2009.
- [15] Y. Liu, P. Hourd, A. Chandra, and D. J. Williams, “Human cell culture process capability: a comparison of manual and automated production,” *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, Vol.4, pp.45–54, 2010.
- [16] F. A. Soares, A. Chandra, R. J. Thomas, R. A. Pedersen, L. Vallier, and D. J. Williams, “Investigating the feasibility of scale up and automation of human induced pluripotent stem cells cultured in aggregates in feeder free conditions,” *Journal of Biotechnology*, Vol.173, pp.53–58, 2014.
- [17] C. J. Bernard, D. Connors, L. Barber, S. Jayachandra, A. Bullen, and A. Cacace, “Adjunct Automation to the Cellmate™ Cell Culture Robot,” *JALA*, Vol.9, Issue.4, pp.209–217, 2004.
- [18] R. Lehmann, J. C. Severitt, T. Roddelkopf, S. Junginger, and K. Thurow, “Biomek Cell Workstation: A Variable System for Automated Cell Cultivation,” *Journal of Laboratory Automation*, Vol.21, Issue.3, pp.439–450, 2016.
- [19] R. Lehmann, C. Gallert, T. Roddelkopf, S. Junginger, A. Wree, and K. Thurow, “3 dimensional cell cultures: a comparison between manually and automatically produced alginate beads,” *Cytotechnology*, Vol.68, Issue.4, pp.1049–1062, 2016.
- [20] A. Schultz, S. Koch, M. Fuss, A. S. Mazzotta, M. Sarzotti-Kelsoe, D. A. Ozaki, D. C. Montefiori,

- H. von Briesen, H. Zimmermann, and A. Meyerhans, "An Automated HIV-1 Env-Pseudotyped Virus Production for Global HIV Vaccine Trials," *PLoS ONE*, Vol.7, Issue.12, pp.1–10, 2012.
- [21] S. Konagaya, T. Ando, T. Yamauchi, H. Suemori, and H. Iwata, "Long-term maintenance of human induced pluripotent stem cells by automated cell culture system," *Scientific Reports*, Vol.5, No.16647, 2015.
- [22] H. Koike, K. Kubota, K. Sekine, T. Takebe, R. Ouchi, Y. W. Zheng, Y. Ueno, N. Tanigawa, and H. Taniguchi, "Establishment of automated culture system for murine induced pluripotent stem cells," *BMC Biotechnology*, Vol.12, No.81, pp.1–8, 2012.
- [23] 坂井慎一, 石井浩介, 福地泰彦, 藤田穰, 谷口英樹, "再生医療の実現化に向けた, iPS 細胞自動大量培養装置の開発," *IHI 技報*, Vol.56, No.1, pp.41–46, 2016.
- [24] 脇谷滋之, 田原秀晃, 中嶋勝己, 蓮沼仁志, 下平滋隆, 小野寺雅史, 植村寿公, "再生・細胞医療のための自動細胞培養システムの開発—高品質細胞製品を調製するロボットシステム—," *Synthesiology*, Vol.6, No.4, pp.198–208, 2013.
- [25] 中嶋勝己, 金澤秀和, 櫻井隆, 蓮沼仁志, 佐藤理, "幹細胞の自動培養システム," *生物工学会誌*, Vol.92, No.9, pp.473–478, 2014.
- [26] K. Shu, M. Kiyama, T. Nozaki, A. Nishimura, D. Suzuki, M. Kato, Y. Igarashi, and S. Takeda, "Wider Adoption of Regenerative Medicine Driven by Open Innovation," *Hitachi Review*, Vol.64, No.10, pp.693–698, 2016.
- [27] E. Matsumoto, N. Koide, H. Hanzawa, M. Kiyama, M. Ohta, J. Kuwabara, S. Takeda, and M. Takahashi, "Fabricating retinal pigment epithelial cell sheets derived from human induced pluripotent stem cells in an automated closed culture system for regenerative medicine," *PLoS One*, Vol.14, Issue.3, 2019.
- [28] A. Nishimura, R. Nakajima, R. Takagi, G. Zhou, D. Suzuki, M. Kiyama, T. Nozaki, T. Owaki, T. Takahara, S. Nagai, T. Nakamura, M. Sugaya, K. Terada, Y. Igarashi, H. Hanzawa, T. Okano, T. Shimizu, M. Yamato, and S. Takeda, "Fabrication of tissue-engineered cell sheets by automated cell culture equipment," *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, Vol.13, pp.2246–2255, 2019.
- [29] M. Kino-oka, S. R. Chowdhury, Y. Muneyuki, M. Manabe, A. Saito, Y. Sawa, and M. Taya, "Automating the Expansion Process of Human Skeletal Muscle Myoblasts with Suppression of Myotube Formation," *Tissue Engineering Part C Methods*, No.15, No.4, pp.717–728, 2009.
- [30] V. Truong, K. Viken, Z. Geng, S. Barkan, B. Johnson, M. C. Ebeling, S. R. Montezuma, D. A. Ferrington, and J. R. Dutton, "Automating Human Induced Pluripotent Stem Cell Culture and Differentiation of iPSC-Derived Retinal Pigment Epithelium for Personalized Drug Testing," *SLAS Technology*, Vol.26, Issue.3, pp.287–299, 2021.
- [31] N. Francini, K. Wuertz, I. Patocchi-Tenzer, R. Durner, N. Boos, and U. Graf-Hausner, "Development of a Novel Automated Cell Isolation, Expansion, and Characterization Platform,"

JALA, Vol.16, Issue.3, pp.204–213, 2011.

- [32] K. Ochiai, N. Motozawa, M. Terada, T. Horinouchi, T. Masuda, T. Kudo, M. Kamei, A. Tsujikawa, K. Matsukuma, T. Natsume, G. N. Kanda, M. Takahashi, and K. Takahashi, “A Variable Scheduling Maintenance Culture Platform for Mammalian Cells,” *SLAS Technology*, Vol.26, Issue.2, pp.209–217, 2021.
- [33] G. N. Kanda, T. Tsuzuki, M. Terada, N. Sakai, N. Motozawa, T. Masuda, M. Nishida, C. T. Watanabe, T. Higashi, S. A. Horiguchi, T. Kudo, M. Kamei, G. A. Sunagawa, K. Matsukuma, T. Sakurada, Y. Ozawa, M. Takahashi, K. Takahashi, and T. Natsume, “Robotic search for optimal cell culture in regenerative medicine,” *eLife*, Vol.11, No.77007, 2022.
- [34] ロボティック・バイオロジー・インスティテュート株式会社, “Concept,” <https://rbi.co.jp/concept/>, 閲覧日 2022.11.5.
- [35] 株式会社日立産機システム, “感染症対策機器のバイオハザード対策キャビネット：9型クラスIIタイプ A2 型,” https://www.hitachi-ies.co.jp/products/cleanair/bio_cabinet/index.htm, 閲覧日 2022.11.5.

第2章

- [36] 株式会社ニコン, “細胞培養全般における基本的な工程,” <https://www.healthcare.nikon.com/ja/ss/cell-image-lab/knowledge/process.html>, 閲覧日 2022.11.5.

第3章

- [37] 中島礼, 小林正和, 森英輝, 清水徹, 塚本毅, 木村健二郎, “輸液ポンプの流量測定装置の試作”, *医科器械学*, Vol.73, No.10, pp.525–526, 2003.
- [38] 内村護, カチョーナルルンルアンパナート, 伊藤高廣, 村上直, “点滴流量計測小型高精度化の研究”, 2021年度精密工学会秋季大会学術講演会, pp.383–384, 2021.
- [39] 廣安知之, 三木光範, 上浦二郎, “実験計画法を用いた分散遺伝的アルゴリズムのパラメータ推定”, *数理モデル化と応用*, Vol.43, No.10, pp.199–217, 2002.
- [40] 田辺郁男, 水谷淳之介, 高橋智, 熊井達也, “実験計画法における制御因子間の相乗効果を探るプログラムの開発”, *日本機械学会論文集*, Vol.84, No.863, pp.1–13, 2018.
- [41] 岡本真也, 川島久宜, 内田亮, 田中大輔, 石間経章, “実験計画法を用いた液滴-液膜の衝突挙動の系統的分類（液滴と液膜が異種液体の場合）”, *日本機械学会論文集*, Vol.87, No.901, pp.1–12, 2021.
- [42] 桐山一郎, 山内一矢, 小島宏介, 伊東虎太郎, 横山優太, 杉山裕文, 岡澤重信, “実験計画法による自動車衝突前の乗員挙動に対する誤差因子の影響評価”, *自動車技術会論文集*, Vol.53, No.3, pp.529–534, 2022.
- [43] 田口玄一, 横山巽子, “品質工学講座 4 品質設計のための実験計画法”, 日本規格協会,

p.346, 1988.

- [44] 森田浩, “図解入門よくわかる最新実験計画法の基本と仕組み[第 2 版]”, 秀和システム, p.181, 2019.

第 4 章

- [45] 坪根香織, 吉田久博, 大坪泰昭, 石光淳, 神谷晃, “消毒剤自動分注装置の使用評価”, 病院薬学, Vol.26, No.3, pp.329–334, 2000.
- [46] 宮川浩一, 大澤純子, 根井さき子, “流量制御方式の輸液ポンプにおける輸液セット装着手技が流量誤差におよぼす影響”, 日本医療マネジメント学会雑誌, Vol.7, No.3, pp.410–414, 2006.
- [47] 窪孝充, 大木誠, 玉井直, “汎用輸液ポンプの耐用期間への影響：故障に関連する因子”, 医療機器学, Vol.88, No.3, pp.349–356, 2018.
- [48] 吉田浩二, 寺尾嘉彰, “輸液ポンプの使用条件が流量精度に及ぼす影響の検証”, 日本職業・災害医学会会誌, Vol.70, No.1, pp.22–30, 2022.
- [49] W. Lindsay, “Automatic Pouring and Metal Distribution Systems,” Foundry Trade Journal, pp.151–176, 1983.
- [50] 佐藤二郎, 吉田健逸, “ “メルポアシステム” 鑄造用自動注湯装置”, 工業加熱, Vol.29, No.4, pp.19–27, 1991.
- [51] 野田善之, 寺嶋一彦, “傾動式自動注湯システムにおける注湯流量モデルと逆モデルによる注湯流量フィードフォワード制御”, 日本機械学会論文集 C 編, Vol.72, No.722, pp.3147–3154, 2006.
- [52] A. Ito, Y. Noda, R. Tasaki, and K. Terashima, “Outflow Liquid Falling Position Control Considering Lower Pouring Mouth Position with Collision Avoidance for Tilting-Type Automatic Pouring Machine,” Materials Transactions, Vol.58, No.3, pp.485–493, 2017.
- [53] 杉浦圭一, “注液キャップおよび方法”, 特開 2023-26143, 2021 年 8 月 13 日出願(2023 年 2 月 24 日公開).
- [54] O. Nyarko-Boateng, A. F. Adekoya, and B. A. Weyori, “Predicting the actual location of faults in underground optical networks using linear regression,” Engineering Reports, Vol.3, Issue.3, pp.1–13, 2021.
- [55] S. Roy, and P. Ghosh, “Factors affecting COVID-19 infected and death rates inform lockdown-related policymaking,” PLoS ONE, Vol.15, Issue.10, pp.1–18, 2020.
- [56] F. Pedregosa, G. Varoquaux, A. Gramfort, V. Michel, B. Thirion, O. Grisel, M. Blondel, P. Prettenhofer, R. Weiss, V. Dubourg, J. Vanderplas, A. Passos, D. Cournapeau, M. Brucher, M. Perrot, and É. Duchesnay, “Scikit-learn: Machine Learning in Python,” Journal of Machine Learning Research, Vol.12, No.85, pp.2825–2830, 2011.

第 5 章

- [57] T. Kikuchi, T. Shimizu, M. Wada, M. Yamato, and T. Okano, “Automatic fabrication of 3-dimensional tissues using cell sheet manipulator technique,” *Biomaterials*, Vol.35, Issue.8, pp.2428–2435, 2014.
- [58] T. Kikuchi, M. Kino-oka, M. Wada, T. Kobayashi, M. Kato, S. Takeda, H. Kubo, T. Ogawa, H. Sunayama, K. Tanimoto, M. Mizutani, T. Shimizu, and T. Okano, “A novel, flexible and automated manufacturing facility for cell-based health care products: Tissue Factory,” *Regenerative Therapy*, Vol.9, pp.89–99, 2018.
- [59] M. Sasamata, D. Shimojo, H. Fuse, Y. Nishi, H. Sakurai, T. Nakahata, Y. Yamagishi, and H. Sasaki-Iwaoka, “Establishment of a Robust Platform for Induced Pluripotent Stem Cell Research Using Maholo LabDroid,” *SLAS Technology*, Vol.26, Issue.5, pp.441–453, 2021.

研究業績

1. 原著論文

- [1] 野々山良介, 神野誠, 鮫島正, 頼紘一郎, “細胞処理作業の効率化システムに関する研究 (システムコンセプトと培地交換プロセスにおけるロボットによる廃液作業の効率化)”, 日本機械学会論文集, Vol.84, No.859, pp.1–13, 2018.
- [2] 清水美雪, 頼紘一郎, 鮫島正, 野々山良介, 神野誠, “再生医療の事業化における自動培養装置のポジション”, 医療機器学, Vol.88, No.4, pp.433–439, 2018.
- [3] 野々山良介, 神野誠, 鮫島正, 頼紘一郎, “細胞処理作業の効率化システムに関する研究 (培地交換プロセスにおけるロボットによる注液作業の効率化)”, 日本機械学会論文集, Vol.85, No.874, pp.1–13, 2019.
- [4] 野々山良介, 頼紘一郎, 杉浦圭一, 神野誠, “細胞処理作業の培地交換プロセスにおける培養補助ロボットの効果検証”, 医療機器学, Vol.92, No.3, pp.263–271, 2022.

2. 国際学会 (査読付き)

- [1] R. Nonoyama, M. Jinno, K. Yori, K. Sugiura, and T. Sameshima, “Cooperation between media changing robot system and humans for cell processing,” Proc. of the 2021 IEEE/SICE International Symposium on System Integration (SII), pp.201–206, 2021.
- [2] R. Nonoyama, K. Yori, K. Sugiura, and M. Jinno, “Development of a simple discarding robot for the media changing process,” Proc. of the 2021 21st International Conference on Control, Automation and Systems (ICCAS), pp.1998–2001, 2021.

3. 国内学会

- [1] 野々山良介, 神野誠, 鮫島正, 頼紘一郎, “細胞処理作業の効率化システムに関する研究 –システムコンセプトと培地交換プロセスにおけるロボットによる廃液作業の効率化–”, 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 2017 講演論文集, 2017.
- [2] 野々山良介, 神野誠, 鮫島正, 頼紘一郎, “細胞処理作業の効率化システムに関する研究 –培地交換プロセスにおけるロボットによる培養液の排出動作の効率化–”, 第 35 回日本ロボット学会学術講演会予稿集, 2017.
- [3] 野々山良介, 神野誠, 鮫島正, 頼紘一郎, “細胞処理作業の効率化システムに関する研究 –培地交換プロセスにおけるロボットによる注液作業の効率化–”, 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 2018 講演論文集, 2018.
- [4] 野々山良介, 神野誠, 鮫島正, 頼紘一郎, “細胞処理作業の効率化システムに関する研究 –培地交換プロセスにおけるロボットによる注液作業の制御アルゴリズムの適用範囲拡大–”, 第 36 回日本ロボット学会学術講演会予稿集, 2018.
- [5] 野々山良介, 頼紘一郎, 鮫島正, 神野誠, “細胞処理作業の効率化システムに関する研究 –注液量可変制御アルゴリズムの開発–”, 日本機械学会ロボティクス・メカトロニク

ス講演会 2019 講演論文集, 2019.

- [6] 野々山良介, 神野誠, 鮫島正, 頼紘一郎, 杉浦圭一, “培地交換プロセスにおけるロボットによる注液作業・廃液作業の効率化”, 第 19 回日本再生医療学会総会, 2020.
- [7] 野々山良介, 頼紘一郎, 杉浦圭一, 神野誠, “細胞処理作業の効率化システムに関する研究—機械学習による注液停止タイミングの予測—”, 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 2021 講演論文集, 2021.

4. 特許

- [1] 神野誠, 野々山良介, 鮫島正, 頼紘一郎, “細胞処理方法およびそのシステム”, 特願 2017-173154(特開 2019-47744), 2017 年 9 月 8 日出願(2019 年 3 月 28 日公開).
- [2] 神野誠, 野々山良介, 鮫島正, 頼紘一郎, “細胞処理方法およびそのシステム”, 特願 2017-173155(特開 2019-47745), 2017 年 9 月 8 日出願(2019 年 3 月 28 日公開).
- [3] 神野誠, 野々山良介, 鮫島正, 頼紘一郎, “細胞処理方法、デバイスおよびシステム”, 特願 2018-103354(特開 2019-205399), 2018 年 5 月 30 日出願(2019 年 12 月 5 日公開).
- [4] 神野誠, 野々山良介, 鮫島正, 頼紘一郎, “細胞処理方法、デバイスおよびシステム”, 特願 2018-103355(特開 2019-205400), 2018 年 5 月 30 日出願(2019 年 12 月 5 日公開).
- [5] 神野誠, 野々山良介, 鮫島正, 頼紘一郎, “細胞処理方法、デバイスおよびシステム”, 特願 2018-103356(特開 2019-205401), 2018 年 5 月 30 日出願(2019 年 12 月 5 日公開).
- [6] 神野誠, 野々山良介, 頼紘一郎, 鮫島正, “細胞処理方法、デバイスおよびシステム”, 特願 2020-522609(WO2019/230922), 2018 年 5 月 30 日出願(2019 年 12 月 5 日公開).
- [7] 神野誠, 野々山良介, 杉浦圭一, 頼紘一郎, “精度の高い注液を実現する方法、システムおよびプログラム”, 特願 2021-93666(特開 2022-185810), 2021 年 6 月 3 日出願(2022 年 12 月 15 日公開).

謝辞

本研究論文を執筆するにあたり終始懇切なるご指導とご鞭撻を戴いた国士舘大学 大学院 工学研究科 教授 神野 誠氏には、謹んで深謝の意を表します。また、本論文をまとめるに際し有益なご教示、ご助言を戴いた国士舘大学 大学院 工学研究科 教授 本田 康裕氏、同准教授 堀井 宏祐氏、東京大学 大学院工学系研究科 特任研究員 松日楽 信人氏には心から深謝の意を表します。

研究を遂行するにあたりご指導、ご支援戴いたテルモ株式会社 前執行役員 鮫島 正氏、テルモ株式会社 コーポレート R&D センター 研究員 頼 紘一郎氏、杉浦 圭一氏、株式会社メディカルラボパートナーズ 代表取締役 清水 美雪氏には心から深謝の意を表します。

また、インターナショナルシステムズ株式会社の皆様のご支援に感謝致します。

本研究は、テルモ株式会社より共同研究費を受けて実施致しました。心から感謝致します。

最後に、いつも明るく応援してくれた妻 礼子、あたたかく見守ってくれた両親と兄に心から感謝します。

2023年3月
野々山 良介