

領域略称名：バイオアセンブラ
領域番号：2305

平成25年度科学研究費補助金
「新学術領域研究（研究領域提案型）」
に係る中間評価報告書

「超高速バイオアセンブラ」

（領域設定期間）

平成23年度～平成27年度

平成25年 6月

領域代表者 大阪大学・基礎工学研究科・教授・新井健生

目 次

1. 研究領域の目的及び概要	3
2. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	5
3. 研究の進展状況	7
4. 若手研究者の育成に関する取組状況	11
5. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	12
6. 総括班評価者による評価	13
7. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	15
8. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開發表等）	18
9. 今後の研究領域の推進方策	23
10. 組織変更等の大幅な計画変更がある場合は当該計画	25

1. 研究領域の目的及び概要（2ページ程度）

研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時に記述した内容を簡潔に記述してください。どのような点が「我が国の学術水準の向上・強化につながる研究領域」であるか、研究の学術的背景（応募領域の着想に至った経緯、これまでの研究成果を進展させる場合にはその内容等）を中心に記述してください。

【我が国の学術水準の向上・強化】

本研究の目的は、「生体から取り出した細胞から活性細胞を高速に計測分離し、それらを基盤構造（マトリクス）や血管を含む統制された3次元細胞システムに形成し、組織として機能させるための画期的な方法論（バイオアセンブラ）を創出すること、さらに一つの応用として、次世代培養技術を確立し再生医療に役立てること」である。in vitro 環境場における3次元細胞システムの創生は世界初であり、その創生をマイクロ・ナノ超高速計測制御の方法論を進展させることにより実現する両面で極めて革新的であり、我が国の理工学、医学の学術水準を大幅に向上・強化させる。

このような目標を達成するため、(1)有用な活性細胞を超高速に選りすぐる「細胞ソート工学」、(2)選りすぐった細胞から in vitro（体外）で組織を構築する「3次元細胞システム設計論」、(3)細胞集団レベルで個々の細胞機能が協調しあい機能を発現するメカニズムを明らかにする「細胞社会学」、という一連の技術開発と創生の学理を提案し、工学的に有用で再生治療のために移植可能な機能する人工3次元細胞システムを創生する。また、マイクロ・ナノ超高速計測制御では従来速度の10倍以上の高速化を目指す。

本領域研究はこれらを実現するために、マイクロ・ナノロボティクスを活用した(1)細胞の物理的特性に着目した超高速計測分離技術の開発、(2)単一細胞からロール・積層・折り紙成型等を組み合わせて3次元形状を実現する超高速細胞システム構築技術の開発により、(3)in vitro 環境で細胞の自律的機能発現を促しながら達成するという3点においてチャレンジングである。再生医療に役立つ人工3次元細胞システムを構築し、その方法論を進展させることにより、マイクロ・ナノ理工学と生命科学の進展と体系化を図る。

本領域「超高速バイオアセンブラ」の発展により、活性細胞の超高速計測分離技術、機能する3次元細胞システムの組み立て技術の体系的な方法論が確立され、3次元組織として機能発現するための増殖と分化誘導の原理が明らかにされる。ロボット工学では超高速マイクロ・ナノ計測制御という未開の領域への展開、一方、マイクロ・ナノロボティクスが生命・医学研究へ導入されることにより、3次元細胞システムの様々な特徴の理解と構築技術の確立が図られ、再生医療・診断技術が劇的に進展することが期待できる。これにより、ロボット工学・理工学、医学・薬学・生命科学で学術水準の大幅な向上と強化が実現される。

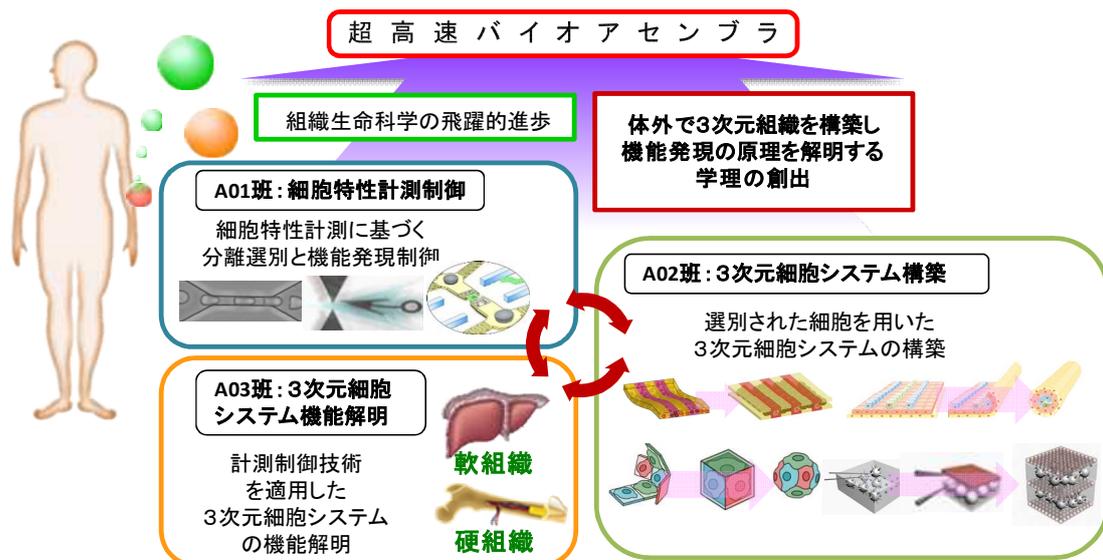


図1 超高速バイオアセンブラの学理の創出

【学術的背景】

近年のロボットエンジニアとバイオ・医学研究者との連携により、細胞への力学刺激と応答観察のための多くの要素技術や装置開発が成功し、細胞と環境との力学的相互作用が細胞の増殖と分化の制御に重要なことが示された。しかし、再生医療応用や生命理工学研究のモデル系として単一細胞では全く不十分であり、機能する3次元細胞システムの構築が不可欠であることが明確に認識された。さらに、*in vivo* 環境における様々な刺激が細胞集団・組織・臓器の形成と機能発現に必須であることが国内外で報告され始め、*in vitro* での細胞システム構築の阻害要因も明らかになりつつある。ロボティクス分野では、マイクロからナノスケールで様々な計測制御を行う技術が進展し、組織から細胞を扱う技術的環境も十分に整っている。

このような状況のもと、本提案では、マイクロ・ナノロボティクスの分野で世界をリードする工学研究者、多細胞システムの構築を試み機能する組織を目指す生物化学の世界的研究者、並びに、細胞シートの多面的応用や iPS 細胞を再生医療に用いることで世界に先駆けている医学研究者を結集した。これにより、バイオアセンブラの諸課題を解決し、学術的にも応用面でも大きな革新ができる体制が整った。

【研究動向の概観】

機械・制御工学と生物医学分野の融合分野の確立は、世界の目指す方向となっている。特に、サイズマッチングの良さのため、マイクロ・ナノロボティクスと細胞・生体組織制御の融合研究は急速に進みつつある。しかし、具体的医療での成果はまだない。その最も大きな理由は、3次元細胞システムを扱う**理工学的方法論の欠如**である。本提案は、細胞の特性を理解して3次元細胞システムを構築し、組織構築への原理を解明し、再生医療の基盤技術の大幅な底上げを図るという極めて明確なターゲットを持っている。それによって、理工学と生物医学の学術面でも、格段の進展を企図するものである。

【領域の取り組みと発展法】

3次元細胞システム構築と利用に関わるバイオアセンブラの革新的学術研究と開発を推進するため3つの研究グループを設定し、さらに、領域内外での共同研究を活発に推進する。

(1) 超高速マイクロ・ナノロボット技術を用いて細胞特性を計測し、3次元細胞システム形成に有用な活性細胞や希少細胞を超高速に分離する手法を開発するグループ（研究項目 A01：細胞特性計測制御）。

(2) 超高速マイクロ・ナノロボット技術を用いて活性細胞を線・面・立体形状に形成し、積層・ロール・折り紙などの手法を適用して多様な3次元細胞システムに組み立て構築する技術を開発するグループ（研究項目 A02：3次元細胞システム構築）。

(3) 再生医療に有用な3次元細胞システムの機能や構造を解明し、作製された3次元細胞システムを動物内の組織に移植して機能化を評価し再生医療を革新するグループ（研究項目 A03：3次元細胞システム機能解明）。

これらの計画研究グループと、方法論やターゲットの多様化を図るための公募研究（若手重視）の充実を図り、相互の連携・融合を促進することにより領域を発展させる。

【研究の対象】

・ **研究対象(2)** 異分野研究者の連携：マイクロ・ナノロボット工学、生物化学工学、組織創生と再生医療関連医学の3分野連携により、細胞システムの挙動を解明して組織構築への活動を誘導する「バイオアセンブラ」という新たな領域の発展を目指す。

・ **研究対象(3)** 多様な研究者による共同研究：工学・理学研究者の共同により細胞システムの3次元構造化・機能化を図るとともに、医学研究者の参加共同により3次元細胞システムの実証実験を実施して再生医療応用の妥当性を検証し、当該領域の飛躍的展開を目指す。

・ **研究対象(4)** 他研究領域への波及効果：細胞システムの挙動解明と3次元細胞システム構築の成果は、機械工学の底上げと生物化学の精緻化へのフィードバックとともに、再生医療・新薬開発・臨床診断分野への大きな波及効果をもたらす。

2. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況（2 ページ程度）

領域内の計画研究及び公募研究を含んだ研究組織と領域において設定している各研究項目との関係を記述し、研究組織間の連携状況について図表などを用いて具体的かつ明確に記述してください。

【本領域研究の組織】

総括班： 総括班は、評価・助言・シンポジウム開催・領域内外との連携の促進・若手育成に注力する。

新井健生 大阪大学 大学院基礎工学研究科 教授（代表・ロボット工学・領域代表および A02 班責任者）

新井史人 名古屋大学 大学院工学研究科 教授（分担・マイクロ・ナノシステム工学・A01 班責任者）

金子 真 大阪大学 大学院工学研究科 教授（分担・ロボット工学・知財担当）

中内啓光 東京大学 医科学研究所 教授（分担・幹細胞生物学・領域外連携担当）

福田敏男 名城大学 理工学部 教授（分担・マイクロ・ナノシステム工学・海外連携担当）

関 実 千葉大学 大学院工学研究科 教授（分担・生物化学工学・アウトリーチ担当）

竹内昌治 東京大学 生産技術研究所 准教授（分担・MEMS・若手 WG 主査）

大和雅之 東京女子医科大学 先端生命医科学研究所 教授（分担・再生医療，幹細胞生物学・A03 班責任者）

鈴木 治 東北大学 大学院歯学研究科 教授（分担・石灰化と骨再生・広報 WG 主査）

前 泰志 大阪大学 大学院基礎工学研究科 准教授（分担・ロボット工学・事務担当）

評価委員 藤江正克（早稲田大学 理工学部 教授），片岡一則（東京大学 工学系研究科 教授）

佐藤正明（東北大学 学際科学フロンティア研究所長），松田武久（金沢工業大学 ゲノム生物工学研究所教授）

計画研究： 計画研究は、3次元細胞システムを構築するための方法論の確立と超高速バイオアセンブラの新たな学理の創出を目的とし、密に連携しながら研究を推進する。

研究項目 A01 班「細胞特性計測制御」 マイクロ・ナノロボティクスを駆使して細胞の特性を解明し、有用な活性細胞を超高速選別するための計測・分離手法を確立する。

新井史人（名古屋大学 大学院工学研究科 教授）（A01 班班長）

金子 真（大阪大学 大学院工学研究科 教授），中内啓光（東京大学 医科学研究所 教授）

研究項目 A02 班「3次元細胞システム構築」 活性細胞を用い、様々な3次元形状の細胞システムを成型し組み立てるマイクロ・ナノロボティクス手法を確立するとともに、in vitro 環境場の特性を計測する。

新井健生（大阪大学 大学院基礎工学研究科 教授）（A02 班班長）

福田敏男（名城大学 理工学部 教授），関 実（千葉大学 大学院工学研究科 教授）

竹内昌治（東京大学 生産技術研究所 准教授）

研究項目 A03 班「3次元細胞システム機能解明」 作製された3次元細胞システムの増殖・分化誘導・形態形成制御と移植応答を解明し、in vitro での機能解明と比較検証を行い再生医療への応用を図る。

大和雅之（東京女子医科大学 先端生命医科学研究所 教授）（A03 班班長）

鈴木 治（東北大学 大学院歯学研究科 教授）

公募研究（H24 年度より）： 公募研究は、方法論と対象とする細胞や3次元構築の多様化を主な目的とし、計画研究と連携して領域の研究推進に資する。公募研究では、計画研究の補完、超独創的、超挑戦的なテーマが結集されている。

【A01 班】岡嶋孝治（北海道大学・教授），石井抱（広島大学・教授），安川智之（兵庫県立大学・准教授）

【A02 班】松井裕史（筑波大学・講師），福田淳二（横浜国立大学・准教授），吉川洋史（埼玉大学・助教），杉浦慎治（産総研・主任研究員）

【A03 班】水谷武臣（北海道大学・助教），益田泰輔（名古屋大学・助教），木原隆典（北九州市立大学・准教授），松本卓也（岡山大学・教授），武部貴則（横浜市立大学・助手）

【各研究項目の連携状況】

各班のグループは、細胞特性評価と活性細胞の分離、3次元細胞システムの構築から in vitro, in vivo 評価という「らせん的」方法論探索と原理解明の過程の中で、相互に密接有機的に連携する。A01 班は3次元構築に有用な活性細胞の選別と分離、そしてこの細胞の供給を受け、A02 班は3次元細胞システムを構築し in vitro での計測と評価を推進する。A03 班は体内移植実験を実施して in vivo 評価を行い、再生医療の視点から有用な情報を他2班にフィードバックし、さらに精緻な3次元細胞システム構築の展開と有用な組織生成の確立に資する。各計画研究間の連携は下記の図に示されるように、具体的な目標とテーマを絞り、研究項目内外で幅広く有機的な連携を行っている。

平成 25 年 6 月現在における領域内の連携を図 2 に示す。複数の班の枠の中に配置されたグループは、それらの班間での連携を担っていることを表し、具体的な連携のグループ同士を矢印で繋いでいる。領域外のグループと連携しているグループは破線で囲んであり、多数ある班内の連携は省略してある。図よりこれまでに構築したシステム統合化拠点（大阪）である A02 新井健生 G、オンチップロボティクス拠点（名古屋）である A01 新井史人 G、軟組織モデル拠点（東京）である A03 大和 G、硬軟組織モデル拠点（仙台）である A03 鈴木 G が班間連携の中心になり領域研究を推進していることがわかる。例えば、A02 班内の新井健生 G と関 G との「フルイディクスを駆使した高速細胞アセンブリ」の連携研究、A02 関 G と A03 大和 G との「ハイドロゲルファイバを用いた幹細胞組織体の作製」の連携研究があるが、これらの成果を互いの連携研究に相互利用することにより各連携研究が相互に加速されるように組織されている。このような班内、班間の連携の連鎖によって成果が生成されるような有機的な連携を総括班主導のもとに推進している。H24 年度には、総括班から複数の若手の連携研究に対し加速支援を行った。

世界では、欧州の複数の研究機関による fab2asm project がロボット技術を適用した 3 次元微細アセンブリを試みているがバイオ応用ではない。バイオ分野では、University of South Carolina の The South Carolina Project での生体組織作製の試み、University of Pennsylvania の Chen や MIT の Bhatia らの細胞システムの構築研究があるが、いずれも目的が人工血管網に特化していたり、人材がバイオ研究者に限定されているなど多様性が低い。本領域のように異分野、多様な研究者とが密に連携し、実施されている研究プロジェクトはなく、本領域の国際的優位性が高い。

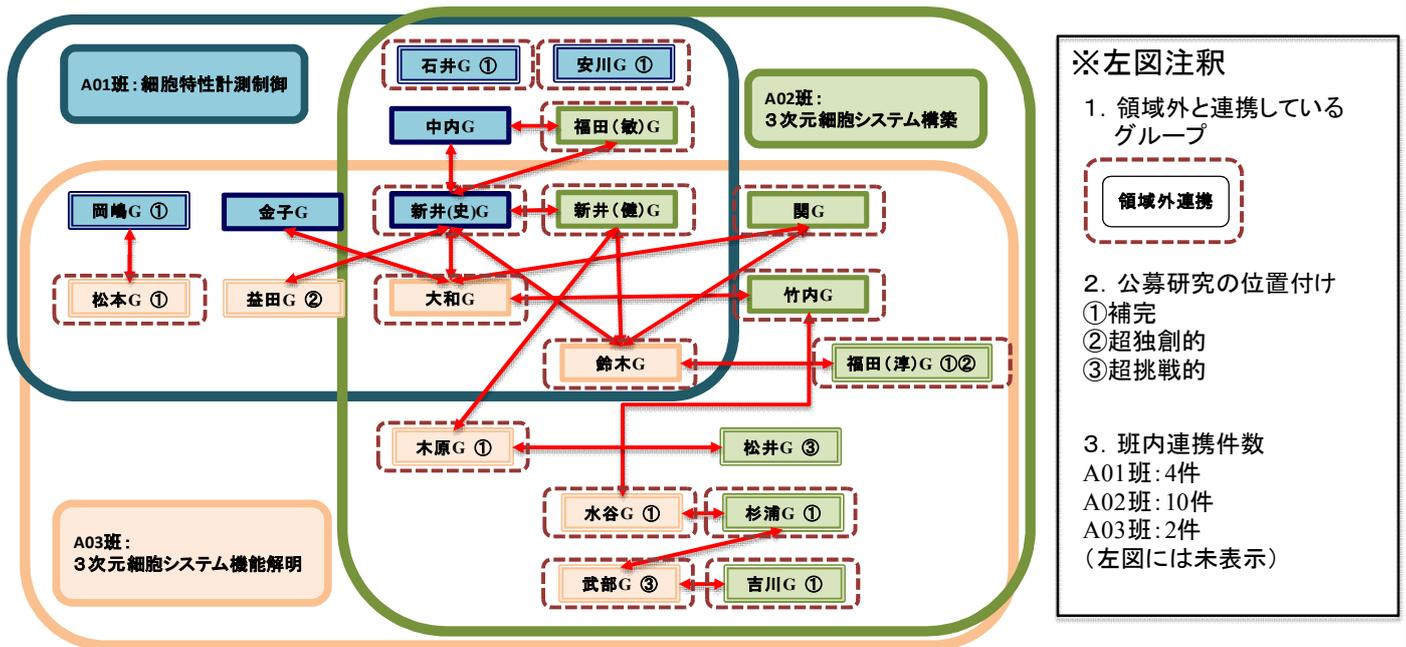


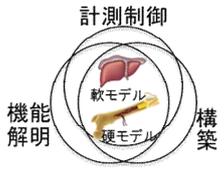
図 2 領域内連携

3. 研究の進展状況 [設定目的に照らし、研究項目又は計画研究毎に整理する] (3 ページ程度)

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、現在どこまで研究が進展しているのか記述してください。また、応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らして、どのように発展したかについて研究項目又は計画研究毎に記述してください。

【全体の進展状況】

最終目標である「体外で3次元組織を構築し機能発現の原理を解明する学理の創出」に対して、中間評価時までの期間前半では「計測特性制御, 3次元細胞システム構築, 及び機能解明の3つの項目間の連携を進展させ、それぞれの有望な方法論の確立」を目指した。この目標を達成するために、研究対象(2)に対応する計画研究を中心とした領域内での工学とバイオ/医学の分野連携を図り, 細胞特性計測・分離, 細胞システム組立, 細胞システム観察と評価の新たな方法論を探索した。また、公募研究には計画研究を補完するものを中心に、その分野で目立つ超独創的, あるいは超チャレンジングな研究を推進させた。研究対象(3)に対応して若手研究者を中心に再生医療応用を視野に入れた領域内外の異分野との連携も進展させるとともに, 製薬や化学, 機械など他分野への波及成果も上げることにより研究対象(4)への対応を図った。なお、各研究対象の連携における位置付けは次の通りである。**研究対象(2)**: 主に領域内の工学, バイオ, 医学系の連携。 **研究対象(3)**: 広く領域外の工学, 理学, 医学系の連携。 **研究対象(4)**: 主に産学連携を目指した共同研究。

目標	H23年度 ~ H25年度前半			H25年度後半~H27年度	
	領域内外の異分野・多様な研究者との連携による有望な方法論の確立			モデル細胞システム構築と検証によるバイオアセンブラ学理の確立	
達成状況 実施予定		対象(2)	対象(3)	対象(4)	軟組織モデルタスク オース, 硬組織モデル タスクフォースの設置 による領域の集中化, 各要素の高度化と併 せてバイオアセンブラ の体系化を図る。 
	A01	5件 (6件)	1件 (12件)	7件 (8件)	
	A02	4件 (11件)	5件 (12件)	2件 (4件)	
	A03	4件 (10件)	17件 (30件)	5件 (6件)	

(*数字は共同研究者が連名で発表した論文等の成果の件数を, また括弧内は同様の口頭発表の件数を示す。)

※以下の文中の [数字] は項目 8.研究成果の公表状況 (18 頁) における論文番号に対応する。

【A01 班: 細胞特性計測制御】

【研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、現在どこまで研究が進展しているのか】

A01 班では、超高速マイクロ・ナノロボット技術を用いて細胞特性を計測し、3次元細胞システム形成に有用な活性細胞や希少細胞を超高速に分離することを目的としており、細胞を計測して分離する方法論を「細胞ソート工学」として体系化することを目指している。細胞の超高速計測技術としては、計画研究 A01-01 班の新井(史) G と計画研究 A01-02 班の金子 G が浮遊細胞を対象として進めている。公募研究 A01-P1 班の岡嶋 G による超高速 AFM を用いた細胞レオロジー計測技術が加わり、接着細胞の細胞レオロジーの標準偏差(個性)を定量化できるようになり、多様な細胞ソースに対応できるめどがたった。

浮遊細胞を計測対象とする方式では、金子 G は数 μm から数十 μm の細胞の硬さを細胞ソータとの接続を意識し、1000 個/秒で細胞の硬さが評価できる計測システムの構築を目指している。マイクロ流体チップ内の細い流路を赤血球が通過する際の通過時間を計測して評価することで、細胞内の粘性効果を排除し、硬さだけを評価する方式を提案した。マイクロ流体チップに関しては新井(史) G との共同研究成果である[4]。これまで、大きさ $6\ \mu\text{m}$ から $8\ \mu\text{m}$ オーダの赤血球を用いて最大 400 個/秒で硬さが評価できる計測システムを構築し、実験的検証をおこなった。本システムの評価には計画研究 A01-03 班の中内 G が加わり共同研究を進めている。中内 G はこのシステムを用いて、マウス骨髓有核血球細胞は赤血球と異なり、その細胞種にかかわらず細胞径と通過時間に線形の相関がある結果を得た。一方、いくつかの腫瘍細胞株は細胞径、通過時間も正常有核血球細胞とは離れた分布を呈することが示唆され、効率のよい分離法の実現可能性を示した。

金子 G の方式は細胞の力学的特性の超高速計測が売りであり、細胞のパラメータ計測を目的としていない。一方、計画研究 A01-01 班の新井 (史) G は、単一細胞の力学的パラメータの連続計測を目的とし、マイクロ流体チップ内にマイクロロボットを組み込んだロボット統合型マイクロ流体チップ (磁気駆動方式) により、流路中を流れるウシ卵子の粘弾性パラメータを連続して計測することに成功した。また、計測速度の高速化を目指し、静電駆動方式によりロボットを高速駆動するシステムを構築した。今後、金子 G の超高速細胞計測システムのキャリブレーション技術として応用する。

金子 G、新井 (史) G のシステムでは超高速カメラを用いており、公募研究 A01-P2 班の石井 G の成果を適用できる。石井 G は、マイクロ流路内で変化する細胞位置・形状及び流れ分布の高速実時間計測を実現したフレームストラドリング型 PIV/PTV システムを実現した。これは細胞変形の実時間処理にも適用できる。

分離技術に関してはマイクロ流体チップ内で細胞特性を計測後に個別に分離する手法を新井 (史) G が進めている。公募研究 A01-P3 班の安川 G は、誘電泳動セルを用い、セル内の様々な位置に細胞パターンを作製できる技術を確立し、細胞群の中から目的抗原を発現した細胞を分離・回収できることを示した。安川 G の分離技術は組織構築における細胞特性の影響を調査する上で重要な役割を担う。

【研究の対象に照らしてどのような発展したか】

A01 班では、超高速マイクロ・ナノロボット技術を用いて細胞特性を計測・分離する研究が順調に進んでいる。独創的な方式が提案されており、細胞ソート工学の基盤技術が活発に研究されている。A01 は計画研究と公募研究がそれぞれのミッションを計画通りに進めており、適切に連携を促進し、班および領域の発展に貢献している。今後は iPS 細胞の力学的特性を測り、未分化状態と分化状態を比較するなど行う予定である。また、細胞計測、分離、組織構築をつなぎ、総合評価に向けて他の班とも連携して研究を進めていく。

研究対象 (2) : 積極的に連携し共同研究を推進することで、細胞ソート工学の基盤を築いている[3][6][7][9]。

研究対象 (3) : 領域外の研究者と連携することで、計測・構築・医療に向けた研究を進めている。新井 (史) G、益田 G は積層細胞の構築(大阪大学: 明石, 松崎 G)、血管組織の構築(横浜市立大学 横山 G)を推進した。また、新井 (史) G はオンチップマイクロロボットを用いた単一細胞の刺激応答計測(理研 BSI 宮脇 G)[1]、ゲルアクチュエータ(富山工業技術センター 横山 G)[4]、細胞計測・分離チップ(理研 渡邊)に関する研究を推進した。安川 G はナノデバイスにバイオ機能を付加したバイオハイブリッドデバイスの開発(東北大学 西澤 G)、バイオ LSI の応用展開(東北大学 末永 G)、誘電泳動による細胞配列と細胞融合(三重大学 富田 G)、バレルスパッタにより金属被覆した微粒子の誘電泳動解析(富山大学 阿部 G)を進めている。

研究対象 (4) : 金子 G、新井 (史) G が受動的細胞挙動計測に関して、製薬会社と[4]、石井 G が高速ビジョンを用いた実時間マイクロ流れ分布計測に関して、高速度カメラメーカーと、安川 G が超高感度電気化学計測法の開発に関して、企業との共同研究へと発展している。

【A02 班： 3次元細胞システム構築】

【研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、現在どこまで研究が進展しているのか】

超高速マイクロ・ナノロボット、フルイディクス、MEMS 技術を用いて多様な 3次元細胞システムに組み立て構築する画期的な技術を提案・開発し、「3次元細胞システム設計論」を確立することを目的とする。これまでに線状・面状・立体状成型を適用した 3次元構築手法を提案し、多様性を持った構築法の実践評価を行った。その結果、高速高精度な 3次元細胞システム構築に向けた要素技術・方法論の創出を体系的に達成した。

In vitro における組織構築実現のためには、細胞のアセンブリによる細胞パーツ、単位組織モデルの構築後、パーツのアセンブリを行う必要がある。細胞のアセンブリにおいて、関 G ではフルイディクスを用いた多様なゲルファイバ・スフェロイド・足場材料形成方法を提案、他班 (新井(健)G、福田(敏)G、鈴木 G) に供給した[14]。既にファイバを並列化したシート形成や血管様の環状構造など単位組織モデルの形成にも成功している。竹内 G では細胞を微小なプレート (直径 50 μ m) 上へ細胞ずつ自律的に播種する方法を提案し、本手法を発展さ

せ、折り紙手法による3次元細胞パーツ形成・十字型プレートによる神経回路の形成を実現させた。

一方、細胞パーツのアセンブリにおいては、新井（健）Gでは細胞パーツの組み立てに必要である高速二本指マイクロハンド開発に取り組み、従来手法よりも10倍高速な1秒程度での細胞操作を達成した。特に二本指マイクロハンドを用いた3次元細胞パーツ組み立てを上記、関G、竹内Gらと連携して行い、高速かつ多様な組み立てを可能とした。また、ロボット技術を導入した細胞ファイバ、環状スフェロイド、細胞シート形成が可能なシステム開発も行ない、細胞パーツアセンブリに貢献した。福田（敏）Gでは、関Gと共同でロボット技術によるハイドロゲルファイバの足場への自動集積技術を提案し、細胞を含んだファイバの環状足場への高速集積を実現した。また、光硬化性樹脂による細胞含有パーツ生成とフルイディスクを用いた自律的構造体の形成に成功し、環状構造の高速形成方法を提案した。

細胞パーツのアセンブリにより、大型の組織モデル構築を実現するには血管構造が必須となる。福田（淳）Gでは電気化学的細胞剥離法を用いることで、環状構造の足場中に細胞播種を行う手法を開発した。本手法によりモールドニングによる血管構造形成に成功し、毛細血管が成長していることを確認した。これは大型の組織モデル形成の基礎となりうる成果である。吉川Gでは細胞集団が自律的に分化し血管を含む構造体を形成できる条件を足場固さの制御という視点から見いだした。本条件を用いて固さを制御した足場でパターンを描くことにより、自在な形状の血管を含む3次元細胞システムが実現されうる。

評価モデル系としての3次元細胞システム構築という視点から、関Gでは癌の浸潤評価モデルとしてのハイドロゲル細胞複合体を提案し、癌細胞浸潤の評価を行い、疾病評価系としての3次元細胞システムが利用可能であることを示した。また、福田（敏）Gでは、iPS細胞分化の巨核球からの血小板産生デバイスを中内G、新井史人Grらと共同で構築し、血管内構造を模したデバイスを用いることで、血小板産生過程の可視化に成功すると共に血小板産生量の増加を確認し、その有用性を実証した[17]。松井Gでは癌の浸潤を妨げることを最終目的として癌の遊走制御を試みており、薬剤の効果から、癌の浸潤に関わる遺伝子を明らかにした。3次元細胞システムを本実験系に取り入れることで、より詳細な結果を得られると期待される。

杉浦Gは新規光解離型架橋剤を合成し、これを用いた自在にパターンニングが可能な足場形成法を提案・実現した。本技術は3次元細胞システム形成における基礎技術であり、他班の研究を補完・加速する。

【研究の対象に照らしてどのような発展したか】

A02班では、In vitroにおける組織構築を実現する「3次元細胞システム設計論」の確立に向けて、細胞のアセンブリによる細胞パーツ・単位組織モデルの構築、細胞パーツのアセンブリ、それぞれの段階における要素技術の開発、方法論の創出を各班の連携のもと着実に推し進めている。今後はさらに連携を進め、体系化した方法論を組み合わせ、融合することにより、3次元細胞システム構築を軟組織、硬組織において実証する。

研究対象(2)：マイクロスケールの計測制御による組立は福田(敏)G[18]、微細操作ベースの成型は新井(健)G[14-15]、またフルイディスクベースは関G[21]、MEMSベースは竹内Gが担当し、ここに公募班を加えて積極的に連携し、「3次元細胞システム設計論」の確立に向けて共同研究を推進している。

研究対象(3)：新井(健)Gは細胞間相互作用を再現した創薬支援ツールと評価法の開発(大阪大学 境G)、福田(敏)Gは毛細血管の腎臓血管モデルとしての応用展開(名古屋大学 丸山G)、関Gは微細加工技術を利用した細胞模倣りポソームの作製(東京大学 豊田G)に関して共同研究を行っている。竹内Gは寄生虫の侵入に関する一細胞観察(慈恵医大 嘉糠G)、粘菌細胞の相互作用(東京大学 澤井G)、リニアモーターの一分子観察(東京大学 矢島G)に関する共同研究を進めている。公募班においても多数の領域外共同研究が推進されている(吉川G：海外を中心に4件)、(杉浦G：1件)、(福田(淳)：2件)。領域内研究を基盤として領域外の研究者と連携することで、計測・構築・医療に向けた研究を飛躍させた。

研究対象(4)：関Gがフルイディスクを利用した細胞分離の研究に関して、化学メーカーと共同研究へと発展している。

【A03 班： 3次元細胞システム機能解明】

【研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、現在どこまで研究が進展しているのか】

A03 班では、新規組織構築技術を用いて作製された肝臓、骨等の複雑化組織の機能評価をおこない、複数種の細胞からなる組織が示す高度な機能発現の分子機構を解明することを目的としている。生体の組織、臓器は複数種かつ数多くの細胞がお互いに作用しあうことで生体組織、臓器の機能が発現、維持されている。生体の組織、臓器の高度な機能を模倣するためには、単にその構造を模倣するだけでは限界があると考えている。1細胞やオリゴ細胞群さらには細胞集団レベルで個々の細胞機能がどのように協調しあい、機能を発現するメカニズムを明らかにする『細胞社会学』とでも呼ぶべき新学問の創成を目指している。A03 班大和 G では、これまでに、精密マイクロコンタクトプリンティングシステムやマスクレス露光装置の応用により、肝組織の規則的構造を模倣したパターン化温度応答性細胞培養表面の作製と評価を行った。また、マイクロ流路デバイスを活用し細胞シート工学によって作製した3次元組織構体に血管網を付与する技術開発にも成功した。A03 班やまと鈴木 G では、骨再生に理想的な細胞足場である octacalcium phosphate (OCP) を駆使し、OCP によって誘発される骨芽細胞の活性化と破骨細胞への分化機構に関して研究を行い、OCP が骨組織細胞の分化調節に有効であることを示した。また、ゼラチンやコラーゲンと OCP の複合化により、骨再生が促進されることも確認している。他班と連携しながら高酸素透過性を有する細胞培養開発や細胞・基材間の相互作用評価用デバイス開発にも着手し、細胞培養から3次元組織化への効果的なデバイスおよび手法を確立しつつある。

【研究の対象に照らしてどのような発展したか】

生体様組織構造体を模倣、作製する技術は確立しつつある。一方、公募班が中心行っている作製組織体の新たな評価方法も実験データが蓄積されてきた。これらの研究は proof of concept のステップから始まった研究が多く、本領域内外の研究連携も加わり、従来の手法では評価が困難であった3次元細胞システムの構造特性、機能特性を捉えることが可能となりつつある。また、他班が作製した3次元細胞システムの評価、解析を準備するべく、領域外研究機関との共同で次世代シーケンサによる遺伝子の網羅解析にも着手した。

公募班との連携により当初の計画以上の進展と大きな成果を上げることができた。たとえば公募班の武部 G は、ヒト iPS 細胞から分化誘導した肝実質細胞とヒト血管内皮細胞、ヒト間葉系幹細胞を最適化した共培養条件に供することにより in vitro で作製した肝原基をマウスに移植することで宿主血管系に接続する毛細血管網を有するミニ肝臓を再生させることに成功している(Nature, in press)。その評価を目的として、独自のライブイメージング技術の開発にも成功した。班間の共同研究も順調に進んでおり [33]、それぞれがもちよった技術のシナジー効果が出ていると認識している。

公募班の参加および他研究者との共同研究により、細胞社会としての組織、臓器の重要な構成要素である複数種の細胞、細胞-細胞間接着、細胞外マトリックス、細胞・組織機能の力学的制御、バイオインフォマティクスを駆使した網羅的遺伝子発現解析等の研究手法の確立に大きな進展を見せた。

研究対象(2)：「細胞社会学」の環境構築のための連携として A01 班 金子 G, A02 班 新井(健) G, 関 G, 竹内 G らと連携し、作製した組織構造体の機能、構造特性や評価について共同で研究を行った [21]。また、「細胞社会学」のメカニズム解明に向けた連携として A03 武部 G と連携し、血管新生を通じた組織、臓器の機能維持、再生について議論を行った。

研究対象(3)：阪大 西田 G, 慈恵医大 小島 G, 長崎大 江口 G, カロリンスカ・インスティテュートと連携し、ヒト由来細胞から作製した細胞シートの角膜、中耳、食道組織再生のヒト臨床応用を国内外で展開、推進している。

研究対象(4)：大和 G は金子 G と組み、企業と共同で細胞シート移植デバイスの製品化を検討している [7]。大和 G はオリンパス株式会社と生体アフィニティを利用した培養皿開発を共同で実施している。また、武部 G が軟骨の3次元自動培養に関する共同研究に関して、企業との開発へと発展している。

4. 若手研究者の育成に係る取組状況（1 ページ程度）

領域内の若手研究者の育成に係る取組状況について記述してください。

【若手研究者の育成に係る取組み】

本領域研究が継続、発展していくために学生も含めた若手研究者の育成に係る次の取り組みを行っている。

- 1) **若手 WG による若手シンポジウムの企画、開催**：若手を中心とした WG を組織し、若手シンポジウムの開催などを通し若手研究者間の円滑な情報交換の場としている。
- 2) **領域会議での若手中心としたポスター発表**：若手が発表し議論する場を設けている。
- 3) **領域主催の国際シンポジウムMHSでの若手主催のOS**：2011 年から毎年共同主催している国際シンポジウム IEEE International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science(MHS)における若手によるオーガナイズドセッションを企画して、交流を活性化している。
- 4) **領域主催の国際シンポジウムMHSにおける若手の表彰**：国際シンポジウムにおいて Best Paper Award や Best Poster Award を設けて、優秀な発表を表彰し、若手研究者をエンカレッジしている。
- 5) **若手の加速支援**：若手の連携研究が加速するように総括班から支援を行っている。公募研究の武部 G と吉川 G の連携、福田(淳)G と松井 G、多田隈（金子 G）と田中（大和 G）の連携研究への支援を行った。
- 6) **若手研究者とシニア研究者との交流会**：シンポジウムや領域内での各種会議において、若手研究者が幅広い年代の研究者と議論しやすい場を積極的に設けている。
- 7) **人材交流の促進**：将来の連携の基礎が構築されるよう若手研究者の国際会議での発表や海外留学、領域内外での人材交流を推奨している。領域内外との連携研究のための研究室間の学生交流は 31 件、若手研究者の海外渡航は H25 年 5 月現在で 76 件（松崎賢寿・共同研究先：ハイデルベルグ大学、期間：H25 年 4 月～6 月等）であり、活発な人材交流が実現されている。

【若手シンポジウムの開催状況と成果】

若手シンポジウムを平成 24 年 7 月 4 日と平成 25 年 6 月 12 日に開催し、第 1 回は 72 名（うち学生 30 名）、第 2 回は 82 名（うち学生 45 名）が参加した。シンポジウムでは若手研究者をエンカレッジするとともに、キャリアパスを考える機会を与えるために第一線で活躍する研究者に招待講演を依頼している。第 1 回は iPS 細胞の発見者である京大の高橋和利先生と様々な分野を渡り歩き 30 代で研究室を主宰した阪大の永井健治先生に、第 2 回では、他分野を渡り歩き今では阪大で研究室を主宰している森島圭祐先生、そして若手女性研究者の代表格である理化学研究所の戎家美紀先生、東大の松永行子先生に講演を依頼した。第 2 回からは若手研究者がお互いの技術を共有し、新しいブレイクスルーの創出を促すべく、「自分の研究についての表現力」に主眼をおいたポスターセッションを設け、参加者の投票により優秀な発表を表彰し、若手研究者をエンカレッジした。第 1 回、第 2 回ともに若手研究者同士の議論が活発に行われ多様な分野の技術や知識が共有され、今後の若手研究の成果が期待される。

【若手研究者の成果】

1. **若手研究者の受賞 64 件**：山本玲・再生医療学会 Young Investigator's Award（H25 年 3 月）等
2. **領域研究に関する研究での学位取得 19 件**：佐久間臣耶・名古屋大学大学院・博士（工学）H25 年 3 月等
3. **若手研究者の昇任 12 件**：穴田貴久が東北大学助教から東北大学准教授へ昇任（平成 24 年 10 月 1 日付）、有坂慶紀が東京女子医科大学大学院生から早稲田大学理工学術院助手に就任（H25 年 4 月 1 日付）等
4. **顕著な成果 55 件**：T Takebe*, et al. : Vascularised and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. *Nature*, in press (*: correspondence) 等

5. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）（1 ページ程度）

領域研究を行う上で設備等（研究領域内で共有する設備・装置の購入・開発・運用・実験資料・資材の提供など）の活用状況や研究費の効果的使用について総括班研究課題の活動状況と併せて記述してください。

総括班の研究方針のもと、名古屋（A01）、大阪（A02）、東京（A03）、仙台（A03）に研究拠点となる共同研究プラットフォームを構築し、円滑な連携研究の推進、研究費の効果的使用を図っている。

A01 オンチップロボティクス拠点（名古屋）：A01 新井(史)G ではマイクロ流体チップを製作する技術と環境を整え、細胞を観察するシステムを構築している。購入した高速共焦点観察システムによってマイクロ流体チップ内で細胞の運動を観察し、粘弾性特性を計測することが可能であり、A01 金子 G や A03 益田 G と共同で研究を進め、設備を効果的に使用している。また、A01 中内 G から実験資料である希少な細胞の供給体制が整っており、医工連携による新学術領域研究を推進している。本拠点では A01 金子 G や A03 鈴木 G など、他グループが設計したマイクロ流体チップを製作し供給することで設備を有効に活用しており、分野横断の研究を効率的かつ円滑に進める環境を整えている。研究成果は学術論文誌 3 件、学会発表 24 件ある(H25 年 5 月現在)。

A02 システム統合化拠点（大阪）：A02 新井(健)G において、微細加工および微細作業（マイクロハンド）設備を導入し、新井健生 G を中心とした連携研究で活用されている。微細加工設備は、A02 関 G とのフルイディクスを駆使した高速細胞アセンブリや A01 新井(史)G との微小流路を移動する粒子計測共同研究で利用され、微細作業設備は、A02 竹内 G とのマイクロハンドを利用したプレートハンドリングによる 3 次元組織構築の高速化に活用可能である。他に、旋回流を用いたトロイダル形状スフェロイド形成（A03 大和 G）、ロボットアームを用いた血管構造の高速モーディングの自動化（A02 福田(淳)G）や領域外 G との共同研究に活用予定である。研究成果は学術論文誌 1 件、学会発表 2 件ある(H25 年 5 月現在)。

A03 軟組織モデル拠点（東京）：A03 大和 G において設置している 3 次元プリンタを大和 G を中心とした連携研究、例えば A02 新井(健)G へのマイクロデバイスの作製と提供に活用している。他に、A02 竹内 G への高分子修飾培養表面の作製と提供や A01 金子 G への細胞シートの特性に関する情報提供と解析、A02 関 G との肝臓様組織構築のための手技の指導、A03 武部 G とのバイオリクター内での肝臓原基の培養を行っている。領域外とは幹細胞の網羅的遺伝子解析データの提供（東大領域外 G）、ヒト角膜再生（阪大領域外 G）、ヒト食道組織再生と細胞輸送技術（長大領域外 G）、ヒト中耳再生（慈恵医大領域外 G）、ヒト食道組織再生（カロリンスカ・インスティテュート領域外 G）。研究成果は学術論文誌 14 件、学会発表 2 件ある(H25 年 5 月現在)。

A03 硬組織モデル拠点（仙台）：A03 鈴木 G において再生骨の組織標本作製用に全自動回転式マイクローム、細胞の足場としてアセンブリする各種材料のキャラクタリゼーション（真比重測定）用として全自動ピクノメーターを導入し、鈴木 G を中心とした連携研究、例えば A01 新井(史)G、A01 益田 G との人工ミネラル/細胞相互作用解析デバイスの開発や A02 関 G との水和ゲルビースの開発に活用している。他に、酸素透過性スフェロイド培養の開発（A02 福田(淳)G）、エナメル質再生技術の開発（東北大（歯）領域外 G）、整形領域の骨および骨関連組織再生技術の開発（東北大（医）領域外 G）、口腔外科領域の骨再生技術の開発（東北大（歯）領域外 G）、歯髄再生技術の開発/軟骨再生技術の開発（昭和大（歯）領域外 G）、足場材料上のミネラル結晶成長（東北大領域外 G）、軟骨再生技術の開発（九州大（歯）領域外 G）、ミネラル結晶成長解析（フォーサイス・インスティテュート領域外 G）。研究成果は学術論文誌 13 件、学会発表 2 件ある(H25 年 5 月現在)。

その他共用設備：A01 中内 G（東京）においてフローサイトメーターFACS Verse を導入し、細胞表面の特定分子を同定し、その発現量の定量値と、A01 新井(史)G、A01 金子 G と共同で計測した高速型細胞硬度測定値との相関計測を行うために使用し、赤芽球/赤血球を用いたマイクロ流路通過時間測定における最適な細胞を選別するために有用であった。A02 竹内 G（東京）において MEMS 加工装置を導入し、マイクロハンドを利用したプレートハンドリングによる 3 次元組織構築の高速化（A01 新井健生 G）、細胞シートの折り紙（大和 G）、3 次元組織の力学的計測（A03 水谷 G）等の連携研究に活用している。

6. 総括班評価者による評価（2 ページ程度）

総括班評価者による評価体制や研究領域に対する評価コメントを記述してください。

総括班評価者 藤江正克（早稲田大学）

本領域は、「計測特性制御，3次元細胞システム構築，及び機能解明の3項目間の連携を発展させ，それぞれの有望な方法論の確立」を目指し，新学術領域形成に不可欠となる工学とバイオ/医学の分野連携により，細胞特性計測・分離，細胞システム組立，細胞システム観察と評価の新たな方法論を試行した．研究前半として計画以上に順調な推移していると評価できる，研究の後半が期待される．

A01 班では，接着細胞の細胞レオロジーの標準偏差（個性）を定量化できるようになり，多様な細胞ソースに対応できるめどをたてた．また細胞ソータと接続して細胞の硬さを評価できる計測システム構築の事前検討として，6 μm から 8 μm オーダの赤血球を用いて最大 400 個/秒を実現した．さらにこのシステムを用いて，マウス骨髄有核血球細胞は赤血球と異なり，その細胞種にかかわらず細胞径と通過時間に線形の相関があることも明らかにした．その他，効率のよい分離法の実現可能性を示した．超高速マイクロ・ナノロボット技術を用いて細胞特性を計測・分離する研究が順調に進んでいる．

A02 班では，フルイディスクを用いた多様なゲルファイバ・スフェロイド・足場材料形成方法の提案，ファイバを並列化したシートの形成や血管様の環状構造など単位組織モデルの形成に成功してプロジェクト全体に供給した．細胞を微小なプレート（直径 50 μm ）上へ細胞ずつ自律的に播種する方法を提案し，折り紙手法による 3 次元細胞パーツ形成・十字型プレートによる神経回路の形成を実現し，さらに細胞パーツの組み立てに必要な高速二本指マイクロハンド開発に取り組み，従来手法よりも 10 倍高速な 1 秒程度での細胞操作を達成した．さらに，ロボット技術を導入した細胞ファイバ，環状スフェロイド，細胞シート形成が可能なシステム開発も行い，細胞を含んだファイバの環状足場への高速集積を実現した．大型の組織モデル構築を実現するのに必要な血管構造では電気化学的細胞剥離法を用いることで，環状構造の足場中に細胞播種を行う手法を開発しモールドイングによる血管構造形成に成功し，毛細血管が成長していることを確認した．In vitro での組織構築実現に向けて，細胞アセンブリによる細胞パーツ・単位組織モデルの構築，細胞パーツのアセンブリそれぞれの段階における要素技術の開発，方法論の創出を各班が連携することにより着実に進めている．

A03 班では，毛細血管網を有するミニ肝臓を再生させることに成功し（Nature, in press），その評価を目的とした，独自のライブイメージング技術の開発にも成功した．班間の共同研究も順調に進んでいる．また，当初計画時に提案した，複数種の細胞からなり，細胞集団が協調して高度な機能を発現するメカニズムを明らかにする『細胞社会学』とでも呼ぶべき新学問の創成に関しても，細胞社会としての組織，臓器の重要な構成要素である複数種の細胞，細胞-細胞間接着，細胞外マトリックス，細胞・組織機能の力学的制御，バイオインフォマティクスを駆使した網羅的遺伝子発現解析等の研究手法の確立に大きな進展を見せた．

総括班評価者 片岡一則（東京大学）

細胞シートなどに見られる 2 次元の組織再生技術が臨床での検証を進められているが，依然として臓器などの 3 次元組織構築に資する確たる技術は存在しない．こうした中で，本領域では医・理・工と異分野の研究者がチームを組むことで，3次元組織構築に向けた基礎原理の解明，ロボティクスに基づく組織構築の方法論の確立，さらには臨床での検証を可能とする体制を築いており，他の既存プロジェクトとは一線を画した有望な新学術領域研究といえる．

本新学術領域研究では，領域会議，班会議に加え，年数回のシンポジウム，国際ワークショップを通じて，関連分野の研究者との情報交換の場を数多く設けており，領域全体として活発に交流する様子が見られる．具体的な研究としても，ターゲットである軟組織，硬組織の構築に向け，A01 班では微小流路内で超高速での細胞特性計測技術，A02 班における超高速微細操作技術に基づく細胞操作や安定した血管導入を可能にする技術，A03 班における 3 次元組織の評価に向けたライブイメージング技術など，各班において顕著な成果が見られる．さらに，班間の有機的な連携も多数見受けられ，3次元組織構築に向けた方法論を着実に確立してきていることがわかる．また，若手研究者をエンカレッジする機会を多く設けることで，次世代を担う研究者を育成するマ

ネージメントにも成功しているように見受けられる。

このように、領域全体として活気にあふれており、現段階において3次元組織構築に向けた基盤が整っていることから、本新学術領域研究の残りの期間を通じて、これらを統合した、新たな学理の創出が可能と判断する。

総括班評価者 佐藤正明（東北大学）

本新学術領域研究（研究領域提案型）において目指す「再生医療に有用な3次元細胞システムの機能や構造を解明し、細胞システムの挙動を解明して組織構築への活動を誘導する『バイオアセンブラ』という新たな領域の発展」を目的として、我が国の第一線の研究者が集結している。これまでの2年間の活動を拝見すると、個々のテーマについては、着実に成果を挙げてきている。例えば、A01班では、細胞とマイクロ・ナノロボット技術が組み合わせられ、細胞の物理的な特性を超高速で計測するシステムの開発が進んだ。また、特異な細胞種を選択する技術も目を見張るものがある。A02班では、細胞の配置や形状を操作する技術や3次元配置に向けた技術の開発に興味深いものが多い。A03班では、従来法の延長による成果が中心となっているが、3次元組織構築に向けた下準備が進んでいる印象を受けた。また、公募研究で参加した武部らによるヒトiPS細胞から分化誘導した肝実質細胞、ヒト血管内皮細胞、ヒト間葉系幹細胞による肝原基の作製に基づくミニ肝臓の再生は特筆すべき成果である。

個々にみると上記のように素晴らしい成果がみられるので、今後の展開としては所期の目的を達成すべく、焦点を絞った研究に進むべきであろう。本中間報告によれば、平成25年度以降、タスクフォースを組み、軟組織（特に肝組織）と硬組織（特に軟骨や骨など）に焦点を当てた展開を計画しているようであり、大いに賛成である。願わくば、これまでの成果の中から何を選択し焦点を当てるのか、そして何が不足しているのか、再整理の上効率よく本プロジェクトを進めてほしい。その結果として、1例でもいいと思うので、成功例を期待したい。周辺技術は、まだまだ必要であるので、当初の計画に従って並行して研究する意義はある。骨組織に関しては、これまでの成果が既にあり、今回のプロジェクトで新たに解明あるいは開発された内容、さらには他のグループとの連携が若干弱いように思われる。

本プロジェクトの目的である「3次元細胞システム構築」に向かうためには、人工的な操作と細胞の「自己組織化」をうまく組み合わせる必要がある。報告書にもこの点に言及している箇所が見られます。そこで、後半のプロジェクトにおいては、「自己組織化」の研究者を公募してはどうでしょうか？

総括班評価者 松田武久（金沢工業大学）

本研究領域の最終目標は、再生医療のための1) 主としてマイクロ・ナノロボティクスを活用した理工学的手法による組織再生の基盤技術と、2) これを可能にする次世代の培養・組織技術の開発、および3) 三次元組織構築・機能発現野原理を解明する学理の創出である。これを実現するため、有機的に考案・配置された三つの班により、細胞レベルから、組織構築・機能解明等階層的な研究体制で構成されている。各班内では、新しい技術、方法論の提案、プロトタイプ組織の構築がなされ、概ね順調に経緯しているとみなせる。

再生組織の研究は多様な取り組み方が可能であるが、マイクロ・ナノロボティクスを基本分野に置いた試みは国内外では例を見なく、このような取り組み方の再生医工学は、新奇な技術を今後提案していくものと期待される。国内外の学会・雑誌への報告も順当であり、また社会への啓蒙的な発信も行われており、新学術領域としての役割を大いに果たしていると考えられる。また、若手研究者間の連携もなされている。

細胞培養技術については、2次元の面に対しては、既に長い歴史と経験があるが、本研究領域がターゲットとしている、異なる形状を有し異種細胞の適正空間配置による3次元立体組織のシステム化は、近未来の再生医療の中核課題であり、これらの技術の開発によって再生医療の理工学的基盤ができることになる。一方、新しい学理・原理の提出に関しては、新しい方法が散見できるが、より一層の深化を期待したい。これらの研究でえられた技術、現象野発券が将来、細胞生物学にもインパクトを与えることができれば、この分野の研究の意義があるといえよう。研究代表者の推敲された工程と行程の設定と経過が概ね順調であると評価できる。

7. 主な研究成果（発明及び特許を含む）[研究項目毎に計画研究・公募研究の順に整理する]

（3 ページ程度）

現在実施している新学術領域研究（公募研究含む）の研究課題を元に発表した研究成果（発明及び特許を含む）について、図表などを用いて研究項目毎に計画研究・公募研究の順に整理し、具体的に記述してください。なお、領域内の共同研究等による研究成果についてはその旨を記述してください。

【A01】 計画研究

計画研究 A01-01 新井（史）G は、単一細胞の力学的特性計測が可能なロボット統合型マイクロ流体チップを作製した。磁気駆動方式によりロボットを高い位置決め精度（約 200 nm）で制御し、流路中を流れるウシ卵子の粘弾性を連続して計測することに成功した（JRM2013）。また、計測速度の高速化を目指し、静電駆動方式によりロボットを駆動するシステムを構築した（図 1：ROMOMECH2013）。本手法は、オンチップで超高速に浮遊細胞の機械的特性を評価するための基幹技術である。

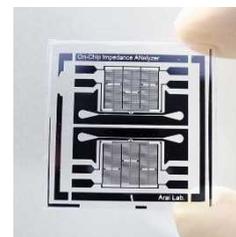


図 1 ロボット統合型マイクロ流体チップ（静電駆動方式）

計画研究 A01-02 金子 G は、大きさ $6 \mu\text{m}$ から $8 \mu\text{m}$ オーダの赤血球を用いて最大 400 個/秒で硬さが評価できる計測システムを構築した（図 2）。本システムにはマイクロ流体チップを利用しており、新井（史）G との共同研究成果である。このチップ内の細い流路を赤血球が通過する際の通過時間を計測して評価することで、細胞内の粘性効果を排除し、硬さだけを評価する方法を確立した（ICMA2012）。本手法は、浮遊細胞に対するオンチップでの超高速細胞計測の基幹技術である。また、細胞に周期負荷を印加し、形状が変化していく過程が計測できるシステムを構築した（MEMS2013）。単一細胞の疲労特性を評価できる画期的な手法である。

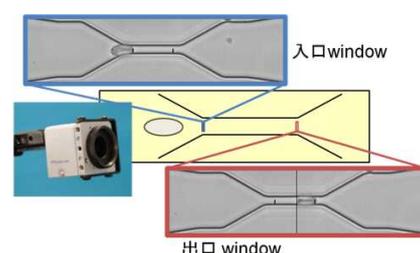


図 2 マイクロ流体チップを用いた赤血球硬さ計測システム

計画研究 A01-03 中内 G は、新井（史）G、金子 G により開発されたシステムを用いて、細胞がマイクロ流路を通過する時間を測定し、マウス骨髄有核血球細胞と赤血球の差から細胞径と通過時間に線形の相関が細胞種に関係なく存在し、加えて腫瘍細胞と正常有核血球細胞が効率よく分離可能である事を示した。また新井（史）G、A02 班福田（敏）G が設計した流路システムを用いたデバイスによりヒト ES、iPS 細胞由来血小板の産生効率が高まる事を証明した（Exp Hematol2013）。

【A01】 公募研究

公募研究 A01-P1 岡嶋 G は、プローブ顕微鏡技術を利用して、細胞レオロジーの標準偏差（個性）（Bio-AFM2012）と細胞膜揺らぎ（APL2013）を定量化する手法を提案した（図 3）。本手法は、細胞レオロジーによる超高速細胞分離技術の基幹技術であり、接着細胞に適用できることが大きな特色である。

公募研究 A01-P2 石井 G は、マイクロ流路内で変化する細胞位置・形状及び流れ分布の高速実時間計測を実現したフレームストラドリング型 PIV/PTV システムを実現した（ICRA2012, JRM2013）。その結果、 $100 \sim 200 \mu\text{m}$ 幅のマイクロ流路内における流速分布を計測可能とし、 1 m/s 以上で搬送される $60 \sim 80 \mu\text{m}$ 大の細胞の位置・形状を実時間かつ長時間にわたり検出することに成功した。また、ウニ卵細胞を用いた動作実験により、流速や細胞の硬さに応じて細胞の変形を定量化できることを確認した。本実時間計測技術は領域内で大いに活用できる。

公募研究 A01-P3 安川 G は、細胞群の中から、ラベルフリー、3 分程度、84%の捕捉率で目的の細胞を識別できた（Anal.Chem.2012）。本領域で設定されている「有用な活性細胞の分離」に資するマイクロ流路型

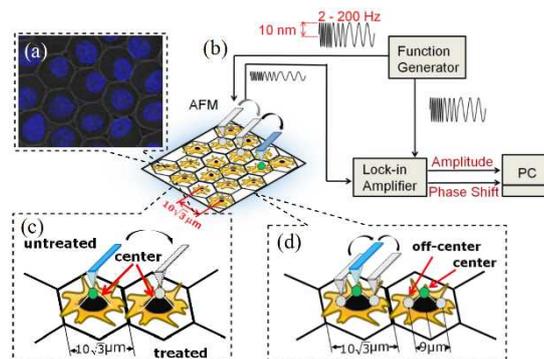


図 3 プローブ顕微鏡技術を利用した細胞計測の概念図

の識別細胞分離に取り組み、正の誘電泳動による不要細胞の破碎システムを採用し分離・回収の可能性を示した。「誘電泳動を利用する細胞識別方法」を特許出願した（特願 2012-111134）。

【A02】計画研究

A02 班では超高速マイクロロボティクス、フルイディクス、MEMS 技術を用いて多様な 3 次元細胞システムに組み立て構築する技術を開発し、実証することを目的としている。線状・面状・立体状成型を適用した 3 次元構築手法を提案し、多様性を持った構築法の実践評価を行った。

A02-01 新井(健)G では二本指マイクロハンド開発取り組み、細胞パーツの組み立て作業の高速化及び自動化を目指した。高速駆動時には振動が問題となるが、ハンドの剛性の改善と駆動系からの振動制御を組み合わせることで、振動抑制に成功・高速化を達成した (Int. J. of Mech. and Automation, 2013)。これにより従来手法よりも高速な自動操作を達成した。また、他班と連携して細胞ファイバ、環状スフェロイド、細胞シート形成にロボット技術を導入した自動化システムの開発を行った。A02-02 福田(敏)G では A02-03 関 G と共同でハイドロゲルファイバの足場への自動集積技術を提案した。本手法により、血管内皮細胞を含んだファイバの環状足場への高速集積を行い、播種した細胞が生育することを確認した (MHS 2012)。また、光硬化性樹脂による細胞含有パーツ生成とフルイディクスを用いた自律的構造体の形成に成功し、環状構造が連続したチューブ型構造の高速形成方法を提案した (μ TAS 2012)。これらの手法は新たな高速血管形成法となりうる。また、iPS 細胞分化の巨核球からの血小板産生デバイスを中内 G、新井(史)G らと共同で構築し、血小板産生過程の可視化に成功すると共に血小板産生量の増加を確認し、デバイスの有用性を実証した (Exp. Hematology, 2013)。関 G ではフルイディクスを用いた多様な機能性ハイドロゲル材料の作製と組織工学的応用を提案した。マイクロチップを用いたハイドロゲルファイバの形成 (図 1: Soft Matter, 2012) を発展させ、細胞高密度近接共培養 (図 4: Biomaterials, 2012) やパターン化したファイバ、さらにはファイバを並列化したシートの形成に成功している。また、ハイドロゲル流路を利用した血管様組織の構築にも取り組み、血管様の環状構造の形成にも成功している。さらに、極微小なコラーゲン粒子 (20 μ m 程度) を生成する独自の手法を提案した。A02-04 竹内 G では細胞を微小なプレート (直径 50 μ m) 上へ細胞ずつ自律的に播種する方法を提案し、本手法を発展させ、折り紙手法による細胞の力を利用した 3 次元細胞パーツの自律形成を成功させた (PLOS ONE, 2012)。また、十字型プレートにおいて神経細胞を培養し、生きた細胞による神経回路の形成を実現させた。本技術にロボット技術を統合することで、高速かつ複雑なシステム構成が期待される。以上の様に、高速高精度な 3 次元細胞システム構築に向けた要素技術・方法論の創出を体系的に達成、成果の発表を行った。

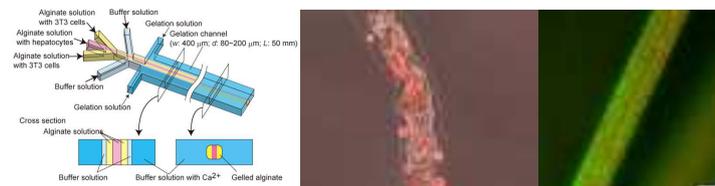


図4 マイクロチップを用いたゲルファイバ形成(左). 肝細胞・3T3 細胞高密度近接共培養(中)とパターン化ファイバの作製細胞のネットワーク形成(右).

【A02】公募研究

A02 班の公募研究では、A02-P01 松井 G は癌の浸潤を妨げる独自の視点から癌の遊走制御を試みており、薬剤の効果から、癌の浸潤を促進する因子を明らかにした (J. of Clinical Biochem. and Nutrition, 2013). A02-P02 福田(淳)G では電気化学的細胞剥離法を開発し (Tissue Eng., 2013; Tissue Eng. and Regenerative Med., 2013)、本手法を用いることで、環状構造の足場中に細胞播種を行う手法を提案した。本手法によりモールドイングによる血管構造形成に成功し、毛細血管が成長していることを確認した。本手法は大型の組織形成を実現しうる臓器形成の基礎となる成果である。A02-P03 吉川 G では A03-P05 武部 G と 3 次元細胞集

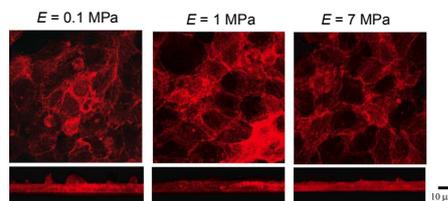


図5 硬組織環境モデル上で形成した骨肉種細胞シート

合体形成の制御に関する領域内共同研究に着手し、その基礎的検証において良好な結果を得ている。また、ヤング率を 0.1 kPa~10 MPa の範囲で制御可能な硬組織環境モデルを構築、本モデル上で骨肉種細胞を播種したところ、より硬い環境ほど面内均一な細胞シートが形成することを明らかにし、その細胞接着様式がモデルのメカニクスに依存することを見出した(図 5 : J. Phys. Chem. B, 2013)。A02-P04 杉浦 G では新規光解離型架橋剤を合成し、これを用いることで自在なパターンニングが可能な足場形成法を提案・実現した。本技術を他班の研究に取り入れることで、3次元細胞形成が飛躍的に進むことが期待される。

以上の様に他班との連携による成果もあり、公募班が補完することで3次元細胞システム構築に向けた方法論が確立しつつある。

【A03】計画研究

計画研究 A03 は生体組織の特徴から軟組織 (A03-01 大和 G) および硬組織 (A03-02 鈴木 G) の機能解析、評価を担当している。大和 G では軟組織として複雑構造かつ機能を有する肝組織をターゲットとし、新たに開発した精密マイクロコンタクトプリンティングシステムやマスクレス露光装置の応用により、肝組織の規則的構造を模倣したパターン化温度応答性細胞培養表面の作製と評価を行った (Biomaterials, accepted)。また、マイクロ流路デバイスを活用し細胞シート工学によって作製した3次元組織構体に血管網を付与する技術開発にも成功した (Nat Commun. 2013)。また、他班が作製した3次元組織構造体の評価、解析を準備するべく、領域外の研究機関との共同で次世代シーケンサによる遺伝子の網羅解析にも着手した。

鈴木 G では研究代表である鈴木が開発した骨再生に理想的な細胞足場である octacalcium phosphate (OCP) を駆使し、OCP によって誘発される骨芽細胞の活性化と破骨細胞への分化機構に関して研究を行い、OCP が骨組織細胞の分化調節に有効であることを示した。また、ゼラチンやコラーゲンと OCP の複合化により、骨再生が促進されることも確認している (Tissue Eng Part A, 2012)。他班と連携しながら高酸素透過性を有する細胞培養開発や細胞-基材間の相互作用評価用デバイス開発にも着手し、細胞培養から3次元組織化への効果的なデバイスおよび手法を確立しつつある。

今後、他班が作製した軟組織、硬組織の評価、解析を実行すべく A03 班の公募班が有するイメージング技術やシミュレーション技術、細胞足場に対する力学的な測定技術を他班へフィードバックし、他班が開発した細胞計測、測定や3次元組織構築システムへとの融合を図り、生体移植に有効な3次元生体組織様構造の作製、設計と組織を構成する細胞機能の解明を目指したい。

【A03】公募研究

A03 班の公募班では、領域会議、班会議 (平成 24 年、25 年の各 1 回 (計 2 回)) 等の開催を通じ、領域内外との連携数も増え、学会発表、論文数などの成果も増えてきている。公募研究 A03-P01 班の水谷は細胞集団が組織を形成する際の力学ルール of 解明を目的として、①細胞-細胞間に発生する力学歪計測法と②3次元環境下の細胞が細胞外基質に発生する応力分布計測法の確立し (図 6 : Japanese Journal of Applied Physics, in press)、従来では測定、解析が困難であった多細胞による3次元組織化の力学法則の解明に貢献できる。公募研究 A03-P05 班の武部は、ヒト iPS 細胞から分化誘導した肝実質細胞とヒト血管内皮細胞、ヒト間葉系幹細胞を最適化した共培養条件に供することにより作製した肝原基をマウスに移植することで宿主血管系に接続する毛細血管網を有するミニ肝臓を再生させることに成功している (図 7 : Nature, in press)。その評価を目的として、独自のライブイメージング技術の開発にも成功した。

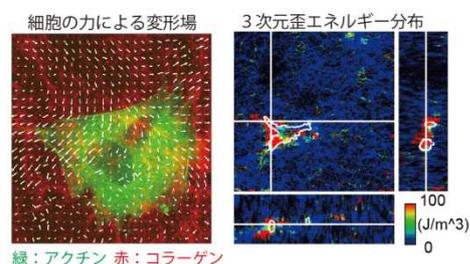


図 6 力学的測定を通じた3次元多細胞運動規則の理解

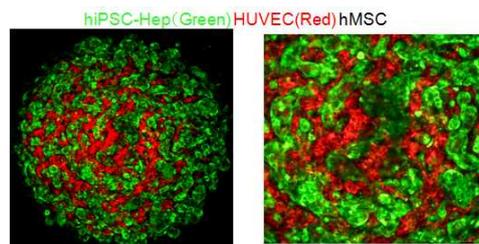


図 7 ヒト iPS 細胞を分化誘導し共培養を経て作製した肝原基

8. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開發表等）（5 ページ程度）

現在実施している新学術領域研究（公募研究含む）の研究課題を元に発表した研究成果（主な論文、書籍、ホームページ、主催シンポジウム等の状況）について具体的に記述してください。論文の場合、計画研究・公募研究毎に順に記載し、研究代表者には二重下線、研究分担者には一重下線、連携研究者には点線の下線を付し、corresponding author には左に*印を付してください。また、一般向けのアウトリーチ活動を行った場合はその内容についても記述してください。

【主な論文：計画研究】 計画研究学術論文数計 87 件（A01：28 件，A02:32 件，A03:27 件）

A01-1 新井史人 G（その他を含め学術論文合計 15 件、国際会議発表合計 23 件、国内会議発表 26 件）

- [1] *T. Kawahara, M. Sugita, M. Hagiwara, F. Arai, H. Kawano, I. Shihira-Ishikawa, A. Miyawaki, “On-Chip Microrobot for Investigation of Stimulant Property of Aquatic Microorganisms”, *Lab Chip*, issue 6, 2013, pp. 1070-1078. (領域外共同研究)
- [2] *S. Sakuma, M. Sugita, F. Arai, “Fabrication of Nanopillar Micropatterns by Hybrid Mask Lithography for Surface-Directed Liquid Flow”, *Micromachines*, 4, 2013, pp. 232-242; doi:10.3390/mi4020232
- [3] *C. Tsai, M. Kaneko, S. Sakuma and F. Arai: Observability of Cell Stiffness in Micro-Channel Method, Proc. of the IEEE Int. Conf. on Robotics and Automation (ICRA13), pp. 2792-2798, Karlsruhe, German, May 8, 2013. (A01-2 との班内連携)
- [4] *K. Ito, S. Sakuma, Y. Yokoyama, F. Arai, "Photoprocessible thermo-sensitive gel actuator for functional microfluidic devices", *The 17th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers 2013)*, 2013, pp. 1811-1814. (領域外共同研究) (産学連携への波及効果)

A01-2 金子 G（その他を含め学術論文合計 8 件、国際会議発表合計 12 件、国内会議発表 14 件）

- [5] * Chia-Hung Tsai, Imin Kao, Mitsuru Higashimori, Mitsuru Kaneko, “Modeling, Sensing and Interpretation of Viscoelastic Contact Interface”, *Journal of Advanced Robotics*, vol.26, no.11-12, pp.1393-1418, 2012.
- [6] *福井航, 金子真, 川原知洋, 山西陽子, 新井史人. 幾何学的運動拘束を利用した拘束・高精度細胞マニピュレーション. 日本ロボット学会誌, vol.6, pp 655-661, 2012. (A01-1 との班内連携)
- [7] *多田隈建二郎, 野村亮太, 田中信行, 原田裕次, 清水達也, 大和雅之, 岡野光夫, 東森充, 金子真, “薄型柔軟生体用ヘラ機構による心臓への筋芽細胞シート移植の実施”, 第 12 回日本再生医療学会総会, O-1-3, 2013. (A03-1 との班間連携) (産学連携への波及効果)
- [8] *Ixchel G. Ramirez-Alpizar, Mitsuru Higashimori, Makoto Kaneko, Chia-Hung Tsai, and Imin Kao, “Dynamic Nonprehensile Manipulation for Rotating a Thin Deformable Object: an Analogy to Bipedal Gaits”, *IEEE Transactions on Robotics*, vol.28, no.3, pp.607-618, 2012.

A01-3 中内 G（その他を含め学術論文合計 5 件、国際会議発表合計 4 件、国内会議発表 3 件）

- [9] Nakagawa Y, Nakamura S, Nakajima M, Endo H, Dohda T, Takayama N, Nakauchi H, Arai F, Fukuda T, *Eto K. Two differential flows in a bioreactor promoted platelet generation from human pluripotent stem cell-derived megakaryocytes. *Exp Hematol*. 2013 Apr 22. doi:pii: S0301-472X(13)00165-3. 10.1016/j.exphem.2013.04.007. Epub ahead of print (A01-1 との班内連携, A02-2 との班間連携)
- [10] Nishimura T, Kaneko S, Kawana-Tachikawa A, Tajima Y, Goto H, Zhu D, Nakayama-Hosoya K, Iriguchi S, Uemura Y, Shimizu T, Takayama N, Yamada D, Nishimura K, Ohtaka M, Watanabe N, Takahashi S, Iwamoto A, Koseki H, Nakanishi M, *Eto K, Nakauchi H. Generation of rejuvenated antigen-specific T cells by pluripotency reprogramming and dedifferentiation. *Cell Stem Cell*. 12: 114-126m 2013
- [11] Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Kakuta S, Iwakura Y, Takayama N, Oehara J, Otsu M, Kamiya A, Petrich B, Urano T, Kadono T, Sato S, Aiba A, Yamashita H, Sugiura S, Kadowaki T, Nakauchi H, *Eto K, Nagai R. In vivo imaging visualizes discoid platelet aggregations without endothelium disruption and implicates contribution of inflammatory cytokine and integrin signaling. *Blood*. 2011 Nov 16. [Epub ahead of print]
- [12] Nao Suzuki, Satoshi Yamazaki, Tomoyuki Yamaguchi, Motohito Okabe, Hideki Masaki, Satoshi Takaki, Makoto Otsu, *Hiromitsu Nakauchi. Generation of Engraftable Hematopoietic Stem Cells from Induced Pluripotent Stem Cells by Way of Teratoma Formation. *Mol Ther*. 2013 May 14. doi: 10.1038/mt.2013.71. [Epub ahead of print]

A02-1 新井健生 G（その他を含め学術論文合計 6 件、国際会議発表合計 11 件、国内会議発表 13 件）

- [13] *E Avci, K Ohara, T Takubo, Y Mae, T Arai, Development of Multi-Scalable Microhand System with Precise Motion Ability, *Journal of Robotics and Mechatronics*, 25-1, 183-191, 2013.

- [14] K Ohara, M Kojima, A Fukushima, S Onozaki, M Horade, M Yamada, M Seki, Y Mae, T Arai, “Automated construction system for 3D lattice structure based on alginate gel fiber containing living cells”, Journal of Robotics and Mechatronics, vol.25, no.4, 2013. (in press) (A02-3 との班内連携)
- [15] *Puwanan Chumtong, Masaru Kojima, Kenichi Ohara, Yasushi Mae, Mitsuhiro Horade, Yoshikatsu Akiyama, Masayuki Yamato, Tatsuo Arai, Design and Fabrication of Changeable Cell Culture Mold Journal of Robotics and Mechatronics, vol.25, no.4, 2013. (in press) (A03-1 との班間連携)
- [16] 奥田一郎, 田窪朋仁, 前泰志, 大原賢一, 新井史人, 新井健生, ” マルチファイバアレイセンサによる微小流路を移動する粒子計測”, 電気学会論文誌 E, Vol.132, No.7, pp.203-211, 2012. (A01-1 との班間連携)
- A02-2 福田敏男 G (その他を含め学術論文合計 7 件、国際会議発表合計 33 件、国内会議発表 25 件)**
- [17] Y Nakagawa, S Nakamura, M Nakajima, H Endo, T Dohda, N Takayama, H Nakauchi, F Arai, T Fukuda, *K Eto, “Two differential flows in a bioreactor promoted platelet generation from human pluripotent stem cell-derived megakaryocytes”, Experimental Hematology, In Press, Available online 22 April 2013 (A01-1, A01-3 との班間連携)
- [18] *C Hu, C Tercero, S Ikeda, M Nakajima, H Tajima, Y Shen, T Fukuda, F Arai, "Biodegradable Porous Sheet-like Scaffolds for Soft-Tissue Engineering using a Combined Particulate Leaching of Salt Particles and Magnetic Sugar Particles", Journal of Bioscience and Bioengineering, Volume 116, Issue 1, pp. 126-131, 2013 July (Available online 23 February 2013) (A01-3 との班間連携)
- [19] *Yajing Shen, Masahiro Nakajima, Zhan Yang, Hirotaka Tajima, Zoran Najdovski, Michio Homma, Toshio Fukuda, "Single cell stiffness measurement at various humidity conditions by nanomanipulation of a nano-needle", Nanotechnology 24 145703, 2013 March.
- [20] *Mohd Ridzuan Ahmad, Masahiro Nakajima, Masaru Kojima, Seiji Kojima, Michio Homma, Toshio Fukuda, “Nanofork for Single Cells Adhesion Measurement via ESEM-Nanomanipulator System”, IEEE Transactions on Nanobioscience, Vol. 11, No. 1, pp. 70-78, 2012 Jan.
- A02-3 関 G (その他を含め学術論文合計 14 件、国際会議発表合計 30 件、国内会議発表 37 件)**
- [21] M Yamada, R Utoh, K Ohashi, K Tatsumi, M Yamato, T Okano, *M Seki, Controlled Formation of Heterotypic Hepatic Micro-Organoids in Anisotropic Hydrogel Microfibers for Long-Term Preservation of Liver-Specific Functions, Biomaterials, 33 (33), 8304–8315 (2012). (A03-1 との班間連携)
- [22] *M Yamada, S Sugaya, Y Naganuma, M Seki, Microfluidic Synthesis of Chemically and Physically Anisotropic Hydrogel Microfibers for Guided Cell Growth and Networking, Soft Matter, 8 (11), 3122–3130 (2012).
- [23] A Miyama, *M Yamada, S Sugaya, M Seki, A Droplet-based Microfluidic Process to Produce Yarn-ball-shaped Hydrogel Microbeads, RSC Advances, in press (2013).
- [24] A Kobayashi, K Yamakoshi, Y Yjima, R Utoh, *M Yamada, M Seki, “Preparation of Stripe-patterned Heterogeneous Hydrogel Sheets Using Microfluidic Devices for High-density Coculture of Hepatocytes and Fibroblasts”, Journal of Bioscience and Bioengineering, in press (2013).
- A02-4 竹内 G (その他を含め学術論文合計 5 件、国際会議発表合計 18 件、国内会議発表 18 件)**
- [25] K. Kuribayashi-Shigetomi, H. Onoe, *S. Takeuchi, “Cell Origami: Self-Folding of Three-Dimensional Cell-Laden Microstructures Driven by Cell Traction Force”, PLOS ONE 7(12) e51085, 2012.
- [26] S. Yoshida, K. Sato, *S. Takeuchi, “Sequential Micro-assembly of Three Dimensional Biological Microstructures from Two Dimensional Cell-laden Microplates”, The 1st CIRP Conference on Biomanufacturing, Tokyo, Japan, 4. Mar., 2013.
- [27] S. Yoshida, *S. Takeuchi, “Dissolvable Mobile Microplates for Handling Adherent Cells”, MEMS 2013, Taipei, Taiwan, pp. 959-962, 24. Jan., 2013.
- [28] T. Teshima, H. Aonuma, H. Onoe, H. Kanuka, *S. Takeuchi, “Vertucak abd Horizontal Confocal Imaging of Single Cells on Magnetically Handleable Microplates” MEMS 2013, Taipei, Taiwan, p. 145, 22. Jan., 2013.
- A03-1 大和 G (その他を含め学術論文合計 10 件、国際会議発表合計 9 件、国内会議発表 10 件)**
- [29] Sekine H, Shimizu T, Sakaguchi K, Dobashi I, Wada M, Yamato M, Kobayashi E, Umezumi M, *Okano T, In vitro fabrication of functional three-dimensional tissues with perfusable blood vessels. Nat Commun. 2013, 29; 4:1399-1401.
- [30] Tamura A, Kobayashi J, Yamato M, *Okano T, Temperature-responsive poly(N-isopropylacrylamide)-grafted microcarriers for large-scale non-invasive harvest of anchorage-dependent cells. Biomaterials 2012; 33: 3803-12.

[31] Tamura A, Nishi M, Kobayashi J, Nagase K, Yajima H, Yamato M, *Okano T, Simultaneous enhancement of cell proliferation and thermally induced harvest efficiency based on temperature-responsive cationic copolymer-grafted microcarriers. *Biomacromolecules* 2012; 13: 1765-73.

[32] Tang Z, Akiyama Y, Itoga K, Kobayashi J, Yamato M, *Okano T, Shear stress-dependent cell detachment from temperature-responsive cell culture surfaces in a microfluidic device. *Biomaterials* 2012; 33: 7405-11.

A03-2 鈴木 G (その他を含め学術論文合計 17 件、国際会議発表合計 7 件、国内会議発表 15 件)

[33] *T Anada, J Fukuda, Y Sai, *O Suzuki, An oxygen-permeable spheroid culture system for the prevention of central hypoxia and necrosis of spheroids. *Biomaterials*, 2012, 33: 8430-8441 (**A02-P2 との班間連携**) (**産学連携への波及効果**)

[34] T Handa, T Anada, Y Honda, H Yamazaki, K Kobayashi, N Kanda, S Kamakura, S Echigo, *O Suzuki, The effect of an octacalcium phosphate co-precipitated gelatin composite on the repair of critical-sized rat calvarial defects. *Acta Biomater*, 2012, 8: 1190-1200 (**産学連携への波及効果**)

[35] Y Shiwaku, T Anada, H Yamazaki, Y Honda, S Morimoto, K Sasaki, *O Suzuki. (2012) Structural, morphological and surface characteristics of two types of octacalcium phosphate-derived fluoride-containing apatitic calcium phosphates. *Acta Biomater* 8:4417-4425

[36] Y Tanuma, T Anada, Y Honda, T Kawai, S Kamakura, S Echigo, *O Suzuki. (2012) Granule size-dependent bone regenerative capacity of octacalcium phosphate in collagen matrix. *Tissue Eng Part A* 18: 546-557

【主な論文：公募研究】公募研究学術論文数計 77 件 (A01 : 15 件, A02:34 件, A03:28 件)

A01-P1 岡嶋 G (その他を含め学術論文合計 2 件、国際会議発表合計 3 件、国内会議発表 6 件)

[37] Yusuke Mizutani, Myung-Hoon Choi, Sang-Joon Cho, *Takaharu Okajima, “Nanoscale fluctuations on epithelial cell surfaces investigated by scanning ion conductance microscopy”, *Applied Physics Letters* 102 (2013) 173703 (4pages)

[38] 岡嶋孝治, 原子間力顕微鏡による細胞レオロジー測定、日本膜学会「膜」38, 76-81 (2013)

A01-P2 石井 G (その他を含め学術論文合計 4 件、国際会議発表合計 1 件、国内会議発表 2 件)

[39] Hao Gao, Qingyi Gu, Takeshi Takaki, Idaku Ishii : A Self-Projected Light-Section Method for Fast Three-Dimensional Shape Inspection, *International Journal of Optomechatronics*, Vol.6, No.4, pp.289-303 (2012)

[40] Qingyi Gu, Takeshi Takaki, Idaku Ishii : Fast FPGA-Based Multi-Object Feature Extraction, *IEEE Transactions on Circuits and Systems for Video Technology*, doi : 10.1109/TCSVT.2012.2202195 (early access articles) (2012)

A01-P3 安川 G (その他を含め学術論文合計 9 件、国際会議発表合計 8 件、国内会議発表 8 件)

[41] *Yasukawa, T., Hatanaka, H., *Mizutani, F., Simple detection of surface antigens on living cells by applying distinct cell positioning with negative dielectrophoresis. *Anal. Chem.* 2012; 84: 8830-8836.

[42] Yamamoto, M., *Yasukawa, T., Suzuki, M., Kosuge, S., Shiku, H., Matsue, T., *Mizutani, F., Patterning with Particles Using Three-Dimensional Interdigitated Array Electrodes with Negative Dielectrophoresis and Its Application to Simple Immunosensing. *Electrochim. Acta* 2012; 82: 35-42. (**領域外共同研究**)

A02-P1 松井 G (その他を含め学術論文合計 18 件、国際会議発表合計 4 件、国内会議発表 0 件)

[43] M Tamura, *H Matsui, Yumiko N. Nagano, T Kaneko, H P Indo, H J Majima, I Hyodo, Salt is an oxidative stressor for gastric epithelial cells, *Journal of Physiology and Pharmacology*, 2013, 64(1). 89-94

[44] Masato Tamura, *Hirofumi Matsui, Tsuyoshi Kaneko and Ichinosuke Hyodo. Alcohol is an oxidative stress for gastric epithelial cells. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, Accepted

A02-P2 福田淳二 G (その他を含め学術論文合計 7 件、国際会議発表合計 9 件、国内会議発表 7 件)

[45] T. Anada, J. Fukuda, Y. Sai, *O. Suzuki, An oxygen-permeable spheroid culture system for the prevention of central hypoxia and necrosis of spheroids, *Biomaterials* (IF=7.88), 33(33), 8430-41 (2012) (**A03-2 との班間連携**)

[46] T. Kakegawa, N. Mochizuki, N. Sadr, H. Suzuki, *J. Fukuda, Cell-adhesive and cell-repulsive zwitterionic oligopeptides for micropatterning and rapid electrochemical detachment of cells, *Tissue Engineering* (IF=4.64), 19(1-2):290-8 (2013)

A02-P3 吉川 G (その他を含め学術論文合計 7 件、国際会議発表合計 1 件、国内会議発表 4 件)

[47] H. Y. Yoshikawa, T. Kawano, T. Matsuda, *S. Kidoaki, M. Tanaka, "Morphology and Adhesion Strength of Myoblast Cells on Photocurable Gelatin under Native and Non-Native Micromechanical Environments", *J. Phys Chem. B*, **117** (2013) 4081.

[48] *H. Y. Yoshikawa, J. Cui, K. Kratz, T. Matsuzaki, S. Nakabayashi, A. Marx, U. Engel, A. Lendlein, M. Tanaka, "Quantitative Evaluation of Adhesion of Osteosarcoma Cells to Hydrophobic Polymer Substrate with Tunable Elasticity", *J. Phys. Chem. B*, **116** (2012) 8024. (領域外共同研究)

A02-P4 杉浦 G (その他を含め学術論文合計 2 件、国際会議発表合計 3 件、国内会議発表 3 件)

[49] S. Sugiura, T. Takagi, T. Kanamori, Biomaterials Science Poster Prize, "Cell Micropatterning and Manipulation on Photodegradable Hydrogel Sheet" 9th International Gel symposium, Oct. 12, 2012

[50] 田村磨聖, 柳川史樹, 杉浦慎治, 高木俊之, 須丸公雄, *松井裕史, 金森敏幸: 光分解性ゲルへの局所光照射による 3 次元培養細胞の選択的摘出, 化学とマイクロ・ナノシステム学会第 27 回研究会, 1P08, 仙台, 2013 年 5 月 24 日 (A02-P1 との班内連携)

A03-P1 水谷 G (その他を含め学術論文合計 5 件、国際会議発表合計 0 件、国内会議発表 6 件)

[51] Takemoto K, *Mizutani T, Tamura K, Takeda K, Haga H, Kawabata K, The number of cyclic stretch regulates cellular elasticity in C2C12 myoblasts. *CellBio*, 2012; 1(1):1-10.

[52] Ishihara S, Yasuda M, Nishioka T, Mizutani T, Kawabata K, Shirato H, *Haga H, Irradiation-tolerant lung cancer cells acquire invasive ability dependent on dephosphorylation of the myosin regulatory light chain. *FEBS Letter*, **587**(6):732-6 2013

A03-P2 益田 G (その他を含め学術論文合計 1 件、国際会議発表合計 6 件、国内会議発表 2 件)

[53] T. Masuda, N. Takei, T. Nakano, T. Anada, O. Suzuki, F. Arai, "A microfabricated platform to form three-dimensional toroidal multicellular aggregate" *Biomedical Microdevices*, Vol. 14, pp. 1085-1093, 2012. (A01-1 との班間連携, A03-2 との班内連携)

[54] Owaki H, Masuda T, Kawahara T, Takei N, Miwa-Kodama K, Miyasaka K, Ogura T, Arai F. Organ-explanted bionic simulator (OBiS): concurrent microcardiovascular anastomosis of chick embryo. *Proc. of IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems 2012*; 3812-17.

A03-P3 木原 G (その他を含め学術論文合計 6 件、国際会議発表合計 5 件、国内会議発表 9 件)

[55] Shinohara S, *Kihara T, Sakai S, Matsusaki M, Akashi M, Taya M, Miyake J, Fabrication of in vitro three-dimensional multilayered blood vessel model using human endothelial and smooth muscle cells and high-strength PEG hydrogel, *J. Biosci. Bioeng.* 2013; **116**: 231-234 (領域外共同研究)

[56] Haghparast SMA, *Kihara T, Shimizu Y, Yuba S, Miyake J, Actin-based biomechanical features of suspended normal and cancer cells, *J. Biosci. Bioeng.* (in press)

A03-P4 松本 G (その他を含め学術論文合計 7 件、国際会議発表合計 2 件、国内会議発表 2 件)

[57] Sasaki J, *Matsumoto T, Nishiguchi M, Matsusaki M, Egusa H, Nakano T, Akashi M, Imazato S, Yatani H. In vitro reproduction of endochondral ossification using 3D cell constructs. *Integr Biol*, **4** (2012) 1207-1214

[58] Egusa H, Kobayashi M, Matsumoto T, Sasaki JI, Uruguchi S, Yatani H. Application of cyclic strain for accelerated skeletal myogenic differentiation of mouse bone marrow-derived mesenchymal stromal cells with cell alignment. *Tissue Eng Part A* **19** (2013)770-782

A03-P5 武部 G (その他を含め学術論文合計 9 件、国際会議発表合計 11 件、国内会議発表 6 件)

[59] *Takanori Takebe, Keisuke Sekine, Masahiro Enomura, Hiroyuki Koike, Ran-Ran Zhang, Yasuharu Ueno, Yun-Wen Zheng, Naoto Koike, Shinsuke Aoyama, Yasuhisa Adachi, *Hideki Taniguchi: Vascularised and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. *Nature*, 2013. (In press)

[60] H Tanaka*, S Tanaka*, K Sekine*, S Kita, A Okamura, T Takebe, Y Zheng, Y Ueno, J Tanaka, *H Taniguchi (*; Equal contribution). Efficient generation of pancreatic β -cell spheroids in a simulated microgravity culture system. *Biomaterials*, 2013, S0142-9612.

【書籍(専門)】(その他を含め, 15 件)

1. Toshio Fukuda, Fumihito Arai, Masahiro Nakajima, *Micro-Nanorobotic Manipulation Systems and Their Applications*, Page 347, Springer, 2013.3.1

2. Y. Kumashiro, Y. Akiyama, M. Yamato, T. Okano, "Temperature-responsive culture surfaces for regenerative medicine", Chapter44, *Handbook of intelligent scaffolds for tissue engineering and regenerative medicine*, Pan stanford publishing Pte. Ltd, USA, 903-924 (2012)

【ホームページ】 「新学術領域超高速バイオアセンブラ」 ホームページ <http://bio-asm.jp/>

【シンポジウム, 学会活動など】

領域主催のシンポジウム (その他を含め, 合計 10 件)

1. 第 2 回国際シンポジウムを MHS2011 と共同開催(2012 年 11 月 4-7 日) (名古屋)
2. 第 1 回新学術領域ジョイント研究会・超高速バイオアセンブラ・少数性生物, (2012 年 11 月 19 日) (東京)
3. バイオアセンブラ第 4 回シンポジウム(2013 年 3 月 10 日) (神戸: 参加者 61 名, 外部企業 9 社)
4. バイオアセンブラ第 2 回若手シンポジウム (2013 年 6 月 12 日) (東京: 参加者 82 名, うち学生 45 名)

会議でのオーガナイズドセッション(OS)の開催 (その他を含め, 合計 7 件)

日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 2013 にて OS:バイオアセンブラ (つくば:つくば国際会議場), オーガナイザ:新井健生 (大阪大学), 2013 年 5 月 23 日

会議でのワークショップ(WS)の開催 (その他を含め, 合計 7 件)

ICRA2013 (5 月 6~10 日, Karlsruhe, Germany)にて, WS: Hyper Bio Assembler for 3D Cellular System Innovation, T. Arai, T. Fukuda, F. Arai, M. Yamato, Makoto Kaneko, 2013 年 5 月 6 日

学術雑誌でのバイオアセンブラ特集号の発行 (合計 1 件)

Journal of Robotics and Mechatronics, Vol.25, No.4, Special Issue of “BioAssembler” 2013 年 8 月発行予定

【アウトリーチ活動】

一般向けシンポジウムでの講演や見学会(その他を含め, 合計 21 件)

1. F. Arai, “未来の医療ロボットを創る! -バイオニックな視点からみた最先端技術の紹介-”, Special Lecture, 名大カフェ, 2013 年 11 月 21 日
2. 新井健生, “超高速バイオアセンブラ -マイクロロボティクスとバイオの融合による再生医療への貢献-”, 基礎工学部談話会-再生医療と基礎工学-にて講演, 2013 年 3 月 18 日
3. 大和雅之, “最新お科学・技術を青少年にアピールする科学・技術フェスタ”, 2013 年 3 月 16-17 日

一般向け書籍, 雑誌(その他を含め, 合計 11 件)

1. 吉川洋史, “すれすれから照らせばよく見える~微小角入射 X 線が明かす生体膜階層構造~”, 月刊「化学」, 2013, in press.
2. 大和雅之, “おしゃべりな細胞たち再生医療入門 すぐその未来を話そう”講談社 2012.

新聞・テレビ・ラジオ報道 (その他を含め, 33 件)

1. 竹内昌治, 読売新聞(朝刊)15 面, 「細胞の力で「折り紙」縮む性質利用して立方体作製」2012.12.23
2. 武部貴則, 朝日新聞 「iPS 細胞から膝島 東大 横浜市大は肝臓作製」 2012.6.15

VIP 見学 (その他を含め, 合計 6 件)

安倍晋三内閣総理大臣が, 東京女子医科大 (軟組織モデル拠点 A03 大和) を訪問 2013 年 3 月 27 日

【基調講演・招待講演】(その他を含め, 合計 89 件)

1. F. Arai, “Microrobots in Spotlight for Evolution of Biomedicine”, MEMS: 25th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems, (Paris, France), Jan. 2012. (Plenary)
2. T. Arai, “Overview of Bio Assembler for 3D Cellular System Innovation”, ICRA2012, St. Paul Minnesota USA, May 18, 2012.
3. Masayuki Yamato, “Current status of clinical applications of cell sheet engineering for regenerative medicine: Cornea, Heart, Esophagus, and Teeth”, The 9th World Biomaterials Congress, Chengdu, China, June. 5, 2012. (Invited)

【受賞】(その他を含め, 合計 66 件)

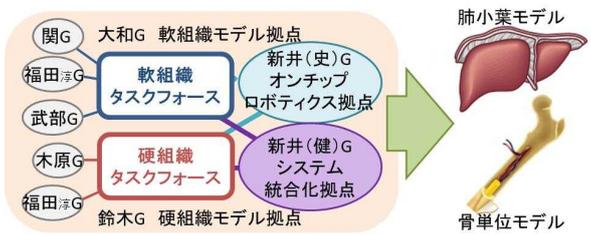
1. M. Hagiwara, T. Kawahara, T. Iijima, Y. Yamanishi and F. Arai, Best Conference Paper Award, “High Speed Microrobot Actuation in a Microfluidic Chip by Levitated Structure with Riblet Surface”, IEEE International Conference on Robotics and Automation(ICRA2012), 17 May, 2012.
2. 竹内昌治, 読売テクノフォーラム ゴールド・メダル賞, 生体と機械の融合に関する先駆的研究, (株)読売新聞東京本社, 2013 年 4 月

【特許】(その他を含め, 合計 17 件)

1. S. Sakuma, M. Sugita, F. Arai, “Two dimensional patterning method and micro-channel fabrication method”, Patent application number 2012-44180, 3 Feb. 2012.
2. 特許出願 2013-028485 号 出願日: 平成 25 年 2 月 16 日, 細胞評価用ハイドロゲル基材および細胞評価手法, 関実, 山田真澄, 北川陽一
3. 鈴木治, 穴田貴久, 塩飽由香利, 本田義知, 佐々木啓一, 森元慎二, 「骨再生材料」, 特願 2012-186995

9. 今後の研究領域の推進方策（2ページ程度）

今後どのように領域研究を推進していく予定であるか、研究領域の推進方策について記述してください。また、領域研究を推進する上での問題点がある場合は、その問題点と今後の対応策についても記述してください。また、目標達成に向け、不足していると考えているスキルを有する研究者の公募班での重点的な補充や国内外の研究者との連携による組織の強化についても記述してください。

	H25	H26～H27
計画	<p>・軟組織と硬組織に対応した2つのタスクフォースを領域内に設置</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="border: 1px solid blue; padding: 5px; text-align: center;"> <p>軟組織 タスクフォース</p>  </div> <div style="border: 1px solid red; padding: 5px; text-align: center;"> <p>硬組織 タスクフォース</p>  </div> </div>	<p>・タスクフォース拠点を中心としたモデル細胞システム構築</p> <p>・モデル細胞システムの評価検証とバイオアセンブラ体系化</p> 

【タスクフォースによる連携強化と領域集中化】

最終目標である in vitro で3次元細胞システムを構築するバイオアセンブラの方法論の体系化と学理の構築を目指して、前半の各項目の学術的成果である「A01:細胞ソート工学」,「A02: 3次元細胞システム設計論」,「A03:細胞社会学」を一体化するとともに、「特性計測・分離」→「3次元細胞システム組立」→「機能発現解明」→〈フィードバック〉で示されるバイオアセンブラサイクルを検証するために3次元モデル細胞システムの作製と評価を領域一丸となって実施する。

ここで、3次元モデル細胞システムは人由来細胞を用いて肝組織を対象とする軟組織と、骨を対象とする硬組織の2つを設定する。これら2つのモデルをバイオアセンブラサイクルに則って作製・評価するためのタスクフォースを領域内に設置する。軟組織タスクフォースは大和計画研究代表を、また硬組織タスクフォースは鈴木計画研究代表をそれぞれ主査とし、各項目の対応する計画研究Gメンバを参加させて組織化を図る。また後半募集の公募班によりタスクフォースの補強とバイオアセンブラサイクル検証の効率化と迅速化を図る。実験は拠点に集結して行い、バイオアセンブラサイクルの効率的な実験と評価を目指す。

タスクフォースで得られたデータと知見をベースにプロジェクト期間前半で得られた各論も総合してバイオアセンブラの学理とし、テキストとしての出版を目指す。また、バイオアセンブラの具体的応用の知見を得るとともに安全性の評価なども行うため、タスクフォースで得られたモデル細胞システムを用いて人臨床を見据えた前臨床研究に着手する。

【各項目の方法論の高度化と体系化】

プロジェクト前期で得られた「A01:細胞ソート工学」,「A02: 3次元細胞システム設計論」,「A03:細胞社会学」それぞれの原理と方法論をさらに高度化するとともに、モデル細胞以外の組織構築に際して必要となる広範な知見の整備を図る。

・A01:細胞特性計測では、計測手法の一層の高速化とともに、細胞の培養環境下で使用可能な力学的・電氣的マルチパラメータ計測システムの構築、細胞導入・計測・分離・回収までの一連の作業をフロー系で行うマイクロ流体チップの提案、培養細胞の力学的・電氣的マルチパラメータと発生・分化の相関関係の評価などこれまでの単一評価からマルチパラメータ計測評価を充実させる。また、A03班との連携により硬組織や軟組織と環境との相互作用の解析を行う。

・A02: 3次元細胞システム組立では、細胞が高密度にパッキングされ、内皮細胞に覆われた血管組織を有し、余分なマトリックスを含まない組織構造の高速形成、複合型微小組織を灌流培養条件下において複合化して細胞の有する自発的な管腔構造形成能力を利用した内部血管構造の構築、異種細胞培養マイクロプレートの高精度かつ高速な操作法と立体構造の構築、そして細胞システムパーツの高速マニピュレーションによる大型3次元構造の構築に取り組む。

・A03：機能解明では、3次元組織様構造体の *in vitro* および *in vivo* 評価とこれらを効率的に実施するための生体組織を模倣したマイクロパターン化細胞シートの作製、3次元生体組織様構造体積層化手法の開発、人工ミネラルの細胞賦活能の評価、骨再生動物モデルによる3次元細胞システムの評価、*in vitro* における自家由来の骨芽細胞と血管内皮細胞などの共存培養による3次元細胞システムの評価、骨欠損内埋入における3次元細胞システムの生体応答性評価等を行い、組織構築の原理の確立と学理の体系化に資する。

【公募研究の活用・若手育成・アウトリーチ・国際交流等】

・タスクフォースの設置において計画研究を補完するとともに、モデル細胞システム以外の3次元細胞システム構築を目指す研究を積極的に採択する。また、前半で超独創的、超挑戦的なテーマに取り組んだ研究を発展させる。

・若手の育成と活用については、引き続き若手WGの活動を中心に据え、若手シンポジウムを充実・発展させる。関連のGCOEとの討論会や発表会に参加をさせ、異分野交流や融合の修練を図る。

・これまでに交流のある他新学術領域「少数性生物学」や「ナノメディシン分子科学」との討論会やジョイントシンポジウムを開催し、当領域の成果の波及を目指す。

・現在のニューズレター担当を主査とする広報WGを設置し、積極的に報道や青少年一般を対象とする講演などを行っていく。また、展示会（例えばバイオEXPO2014）へ積極的に参加し当領域の成果を産業界に知らしめる。

・本年9月13日にゲッチンゲンで予定されている日本・ドイツ6大学交流会において当領域の紹介を行うが、そのメンバー校の一つであるハイデルベルグ大学との交流を一層深める。現在、公募班との研究連携が実施されており、これを核に研究連携を発展させる。また、これまでの国際会議におけるワークショップでの国際的交流が広まり、海外の研究者が領域の各機関への訪問が活発化しており、これをベースに一層の交流を深める。

10. 組織変更等の大幅な計画変更がある場合は当該計画（研究代表者の変更は真にやむを得ない場合に限る）（2～5ページ程度）【非公開】※本欄に記載の計画研究については、全て3年度目の審査の対象となります。

領域内の計画研究の研究代表者の交替や組織体制に大幅な変更がある場合（新しく計画研究を追加する場合や既存の計画研究を廃止する場合、領域全体の交付予定額の範囲内で各計画研究の研究経費を変更する場合（計画研究に係る経費を減額し、公募研究に係る経費を増額する場合等））には必ず記入してください。その際、以下の点を含めてください。

- ・計画研究を追加する場合は、追加の必要性、その計画研究が領域内で果たす役割、他の計画研究への影響等
- ・計画研究を廃止する場合は、廃止の理由、当該計画研究を廃止しても領域として支障がないことの説明等
- ・研究代表者の交替の場合は、交替の必要性、新旧の研究組織の異なる点（組織構成、領域内で果たす役割等）、新たに研究代表者になろうとする者が、旧研究代表者に替わって研究を実施できることの根拠、妥当性及びその者の研究業績等
- ・計画研究に係る経費と公募研究に係る経費の額の変更については、その必要性、1回目の公募研究の応募・採択状況等（公募研究に係る経費を減額して計画研究に係る経費を増額する変更は真にやむを得ない場合に限る。また、公募研究の規模に係る最低基準を下回らないこと。）
- ・以上の各変更に伴う他の計画研究の研究経費の変更及びその妥当性等