

令和 2 年 6 月 18 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03463

研究課題名(和文)細胞の選抜・配置・3次元複合化を実現する統合マイクロ流体システムの実証

研究課題名(英文) Demonstration of integrated microfluidic system that realizes selection / placement / 3-dimensional complex of cells

研究代表者

関 実 (Seki, Minoru)

千葉大学・大学院工学研究院・教授

研究者番号：80206622

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：個々の細胞を組み立てて3次元的な生体組織モデルを作り上げる上で、必要な細胞を選抜し、複数種の細胞を正確に配置させ、さらにそれらを3次元的空間に固定する、という技術は必須である。本研究では、これらの個別操作を自動的かつ効率的に達成するマイクロ流体デバイスを開発し、その有用性を実証したほか、それらを統合した連結型システムの開発を行った。そして実際に複合型肝組織や多層血管モデルなどの作製を実証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

通常の手作業の実験系では不可能な、精密な細胞操作を可能とする新規システムの開発を行うことができた。特に細胞の選抜においては、高効率な新規マイクロ流体デバイスを提案でき、また細胞の配置と組織化については、細胞親和性のあるハイドロゲル材料に細胞を生きたまま導入し、その機能を向上できることが確認された。これらの手法は、再生医療や創薬のみならず、診断医療や基礎生物学にも役立つ基盤技術になりえるものである。

研究成果の概要(英文)：In constructing a three-dimensional tissue model by assembling individual cells, the technology of selecting the required cells, accurately arranging multiple types of cells, and fixing them in a three-dimensional space is essential.

In this study, we developed a microfluidic device that automatically and efficiently achieves these individual operations, demonstrated its usefulness, and developed a connected system that integrates them. Then, we actually demonstrated the production of composite liver tissues and multi-layered blood vessel models.

研究分野：生物化学工学

キーワード：マイクロ・ナノデバイス 細胞選抜 3次元組織 細胞外マトリックス 細胞アッセイ

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

再生医療、創薬、あるいは細胞生物学研究のために、近年、3次元的な組織や臓器モデルを生体外において構築するための試みが、数多くなされてきた。たとえば平面的な細胞シートの積層化、脱細胞化臓器への細胞導入、高分子やハイドロゲルのスキャホールドの利用など、ユニークな手法が数多く報告されている。しかしながら、たとえば肝臓に代表されるように、複数種の細胞が規則的かつ高度に配列し、さらに複雑な血管網が存在するような複雑な生体組織を生体外において再構築し、生体内と同様の機能を発現させることは困難である。そのような目的のためには、細胞を取り囲む物理・化学的な微細環境をマイクロメートルスケールで再現する必要があると言えよう。さらにまた、「正しく機能する」3次元組織を作製するためには、*in vitro*において細胞の機能が損なわれる前に、複雑な細胞集団の中に含まれる特定の性質をもつ細胞を、高速かつ効率的に選抜し、その下流の3次元組織化プロセスに適用する必要もある。つまり、ただ単に細胞を配置させるだけではなく、「細胞の選抜・配列・組織化」という一連のプロセスを効率的に行うことで初めて、再生医療・組織工学において実用的なシステムが実現するものと考えられる。しかしながら、そのようなプロセス全体を見据えたシステム設計を行った研究報告例は、本研究の開始時点でほとんど報告されていなかった。

一方で、本研究代表者らはこれまでに、複数種の細胞を正確に配置した微小な組織体を形成するためのマイクロ流体工学手法の開発を行ってきた。例えば、マイクロ流路層流系を用いて作製した異方的アルギン酸ハイドロゲル材料(シートあるいはファイバー)を用いることで、微小な線形肝組織体の作製や、神経細胞のネットワーク形成などを行い、3次元組織構築における微細加工技術・マイクロ流路技術の有用性を実証してきた。さらにまた、マイクロ流体デバイスを用い、複雑な細胞集団から特定の有用な細胞を簡便かつ正確に選抜する手法の研究を継続しており、現在に至るまで分離の高速化・高精度化を推進している。これらの技術は、上流の細胞選抜と下流の3次元組織化を統合したシステムを開発する上で有用な基盤技術となりうるものと考えられた。

### 2. 研究の目的

以上の背景を踏まえて、本研究では、複数種の細胞が規則的に配置された3次元組織を生体外において高効率に作製するための基盤技術として、「細胞の選抜」、「細胞のアセンブリ」、「細胞外マトリックス(ECM)環境への細胞の包埋および組織化」という個別の操作をシームレスに行うための統合型マイクロ流体プロセスの開発を行うことを目的とした。これまでに本研究代表者らは、マイクロフルイデクスを用いて個別の単位組織を作製し、さらにその集積化を目指した技術開発を行ってきたが、より実用的な3次元生体組織プロセス開発を行う上で、いくつかの解決すべき重要な課題がある。それは、生体活性を有しないハイドロゲル材料を用いた組織化では、細胞同士の相互作用形成が不十分であること、細胞をハイドロゲルに包埋する上で時間がかかり、細胞機能に悪影響を及ぼす場合があること、特に初代細胞を利用する際、主に遠心分離を利用してそれらの選抜操作を行っている間に細胞機能が低下してしまうこと、などの点である。もしも、「細胞選抜」と「細胞のアセンブリ」をシームレスに行い、さらに「生体活性のあるマトリックスを用いた細胞の組織化」を可能とする統合型システムが実現できれば、細胞機能の低下を最小限に抑え、また高速かつ高効率に細胞を3次元組織化できる手法として、再生医療・組織工学分野において有用であるのではないかと考えた。

### 3. 研究の方法

そこで本研究では、上記のアイデアを実証するために、以下のシステムや技術を順次開発することとした。

(1) 連続的かつ高速に、特定の細胞をサイズ・変形能・生死によって分離・選別するマイクロ流体デバイス技術。特に、培養細胞における有用細胞の選抜、初代細胞の混合物からの実質・非実質細胞の選別、サイズや変形能などの主に物理的性質の異なる細胞の効率的分離手法、の構築を目指した。これまでに開発を行ってきた、サイズ差を利用した細胞分離手法である「水力学的濾過法」を進展させ、その処理量や精度の向上を目指したほか、他のパラメーター(変形能・表面マーカー等)を用いた細胞の選別手法を新規に開発することとした。たとえば肝細胞をターゲットとする場合には、まず実質細胞を選別した後に、変形能の差異を利用して死細胞を除去し、さらに非実質細胞中の内皮細胞の純化を行うことができれば、非常に有意義であると考えられた。これらの手法について、その「分離精度」および「処理量」という、通常は相反する要素を同時に向上できるシステム開発を目指した。

(2) 細胞を懸濁させたキャリア溶液(培養液など)を、新規溶液(たとえばゾル溶液)に置換するフルイデクス技術。複数の分岐を有する流路構造を用いた溶液交換手法を応用し、細胞の懸濁液を多段階に置換できるシステムの開発を行ったほか、異なる粘度の水溶液を導入した場合にも溶液交換を可能とする流路ネットワークの設計指針を明らかにし、最適な操作条件を見出すこととした。4段階の溶液交換については、特に細胞内分子の可視化という実験操作への適応も行った。細胞にダメージを与えずに溶液交換を実現できるかどうかについても検証を行った。

(3) マイクロ流路層流系を利用して、細胞を高度に配列させ、さらに複数種の細胞であってもその位置やパターンを任意に制御するマイクロ流体システム。配列技術の一例として、狹隘部および拡張部を交互に形成した細胞の配列技術について、そのパラメーターの最適化を行った。さらに、多層マイクロ流体デバイスを用い、細胞を種類ごとに並行層流系の中に導入し、特に細胞溶液をそれらの流れを再合流させることによって、「生体構造にみられる細胞配置の規則性」を再現した状態で、下流の操作である「ECM 材料への包埋」を行う技術開発を目指した。その前段階として、マイクロ流体デバイスを用いて様々な生体活性ハイドロゲル材料を利用し、それらバイオマテリアルの内部に細胞を連続的に導入する技術の開発を行った。ゲル材料としては、最も一般的に用いられる I 型コラーゲンのほか、基底膜成分であるマトリゲル、また形態を簡便かつ精密に制御できるアルギン酸を主に用いた。さらに、ハイドロゲルの内部だけではなく、流路内に形成した ECM 薄膜を用いた細胞培養系の構築を同時に行った。これらの実験の多くにおいて、複数種の細胞の共培養を行い、細胞機能の評価を行った。

(4) 以上の要素技術を、一連の操作として統合したマイクロ流体システムの設計と作製。本研究では主に、肝細胞索構造を模倣した線形組織および中空・多層構造を有する血管組織の作製を目指した。特に細胞の配列技術を、アセンブリ・組織化技術の統合について、集中的に実験を行った。これらの組織構築を実証することで、「細胞の選抜」「アセンブリ」「機能的組織化」という一連のプロセスを高速かつシームレスに行うためのマイクロ流体デバイス技術の有用性を示すことを目指した。

#### 4. 研究成果

上記の研究内容を 2017~2019 年度の 3 年間にわたって実施した。以下にその内容を順次記述する。

(1) マイクロ流路を用いた細胞の選抜手法である「水力学的濾過」の技術を発展させた新しい手法を複数提案し、その有用性を実証することができた。深さの異なる非対称の格子状流路構造を用いたサイズ依存的分離手法を提案し、粒子分離における有用性を確認したほか、特に水力学的濾過手法の処理量の向上を目指し、最大で 200 個程度の流路を並列化することで、毎分 15mL 程度の細胞懸濁液処理を可能とするシステムを開発することができた。一例として、血液細胞を対象とした分離評価を行ったところ、たとえば血液中に存在する白血球の高効率な純化に応用できることが確認された。さらに、サイズ以外の要因として、細胞の変形能を利用した細胞選抜システムの開発も行ったほか、ピンチドフローフラクショナルネーション法の改良版として、スリット構造を利用する新規手法の開発を行った。細胞の変形能を用いた手法については、細胞の直径よりも薄い平板状の薄層流路を用いることで、変形能の低い細胞を高効率に分離するシステムを開発した。本分離手法については、当初の目的とは異なる副次的な効果として、血液中に導入したがん細胞の分離と解析に応用できることも確認できた。これらの分離手法については、本研究代表者らがこれまでに開発した技術の発展形であるとはいえるが、従来法と比較して、特に細胞の大量調製および精密選抜において有用であり、細胞の 3 次元組織化などの下流プロセスとの組み合わせによってその効果をより高く発揮できるものと期待された。

(2) 細胞のキャリア液交換については、複数の分岐を有する流路構造を用いた溶液交換手法を応用し、最大で 4 段階の溶液交換をシームレスに行うシステムの開発と評価を行った。通常細胞の溶液交換操作は遠心分離によって行われるが、このシステムでは、特定の流路構造に連続的に細胞懸濁液と新規溶液を導入するだけで、細胞のキャリアとなる溶液が交換されるというものであり、高い操作性および細胞回収率という両者の観点で有用であった。特に流路構造を工夫し、溶液交換ユニット同士を体積可変のチューブによって連結することによって、溶液交換後の滞留時間をある程度任意に制御できることを確認した。特に細胞内分子の可視化実験に適用し、モデル実験として細胞の産生するサイトカインの定量を行ったところ、このシステムはほぼ自動的な操作によってサイトカインの可視化を可能とすることが確認された。さらに下流の操作としてフローサイトメトリーによる解析も可能であった。このような性能は、細胞の選抜という上流操作、および細胞の組織化という下流操作との連結可能性を示すものであると言える。

(3) 主にハイドロゲルを用いた細胞のアセンブリについては、複数の技術開発を行った。主にコラーゲン水溶液 場合によってはアルギン酸水溶液を用い、単位構造となるファイバー構造、あるいは管腔状の構造作製を実証した。(a) 管腔 (血管) 構造の作製においては、弱酸性のコラーゲン水溶液を pH の調整によって急速にゲル化する手法について、細胞の生存率や増殖能を評価したほか、複数種類の細胞を同時に導入した 3 次元ハイドロゲル材料を作製することができた。(b) コラーゲンチューブを作製すると同時に、その内部に細胞を導入する新規手法を実証した。多層マイクロ流路を用いることで、特に肝細胞を導入し、直径 100 マイクロメートル程度の線形の細胞アセンブリを形成することができた。(c) アルギン酸ファイバー作製については、その断面に複数種の細胞を正確に配置できる流体デバイスを利用する手法を応用することで、内部に導入した細胞のマイグレーションの制御を実証することができた。さらに、肝細胞を内部に導入し、血管内皮細胞を表面に付着させたファイバーを束にし、灌流培養用チャンパーにおいて酸素分圧を制御しながら培養する系を提案し、その有効性を実証した。(d) 流路内にコラーゲンやマトリゲルからなる微小構造を作製し、その表面あるいは内部に細胞を導入する新規手法についても開発を行った。リン酸塩を包埋したシリコン樹脂によって形成された微小構造を

利用することで、その周囲に簡便にコラーゲンゲルの構造体を形成したほか、マイクロステンシルプレートを利用することで、基底膜を模倣した ECM の超薄膜を形成する手法についても報告を行った。(e) さらにこれらの他にも、スポンジ状のゼラチンハイドロゲルの形成と肝細胞培養系への適用、コラーゲン微粒子を用いた細胞の 3 次元組織化手法、断片化 ECM マイクロファイバーのワンステップ形成などの新規材料およびプロセスを提案することができた。通常のハイドロゲルを用いた 3 次元細胞培養系と比較して、マイクロ流体デバイス技術、あるいは微細加工技術を適用することの有効性を実証できたと言える。

(4) 上記の技術の統合について、「細胞の選抜・配列・組織化」という一連のプロセスをシームレスに行うための流路システムの開発を推進した。特に細胞を流路内で配列するために、拡張部と狭隘部を交互に多数連結した微細流路構造を用いる手法をテストした。しかしながら、高粘度の溶液との親和性の低さや、高い圧力損失などにおいて問題があり、結果として十分なパフォーマンスが得られなかった。そのため、マイクロノズルアレイ構造を統合した流体デバイスを用いて細胞の配列(フォーカシング)を行った。次にこれら要素技術の連結の一例として、コラーゲンチューブの内腔への細胞導入手法と細胞の配列手法を組み合わせた結果、直径 100 マイクロメートル程度のコラーゲンチューブの内腔に細胞(肝細胞)を配置することができた。ただし現時点までの検討では、「細胞の位置制御」と「組織化」技術の連携までにとどまっており、細胞の分離に関しては、それらを全て統合するには至っていない。細胞の生存率を維持し、細胞へのダメージを最小限に抑えるためには、特に選抜技術を組み合わせるシステム開発が重要であると考えられるため、今後も研究を継続させる予定である。なお、以上の結果を総括すると、統合型流路システムは完成に至っていないものの、流路内における肝細胞の灌流培養技術、コラーゲン微粒子を用いた初代肝細胞の 3 次元組織化、多段階の溶液交換を実現する細胞プロセス、など、当初は予期していなかった様々な新規技術を開発でき、それらのいくつかは再生医療や創薬のみならず、医療診断や基礎生物学に寄与するものであった。そのため、十分な成果が得られたものと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 17件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ozawa Ryoken, Iwate Hideki, Toyoda Hajime, Yamada Masumi, Seki Minoru	4. 巻 19
2. 論文標題 A numbering-up strategy of hydrodynamic microfluidic filters for continuous-flow high-throughput cell sorting	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Lab on a Chip	6. 最初と最後の頁 1828-1837
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C9LC00053D	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mayu Fukushi, Keita Kinoshita, Masumi Yamada*, Yuya Yajima, Rie Utoh, and Minoru Seki	4. 巻 9
2. 論文標題 Formation of Pressurizable Hydrogel-based Vascular Tissue Models by Selective Gelation in Composite PDMS Channels	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 9136-9144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C9RA00257J	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hideki Iwate, Masumi Yamada*, Naoki Kimura, Rina Hashimoto, Yuya Yajima, Rie Utoh, and Minoru Seki	4. 巻 287
2. 論文標題 PDMS Microstencil Plate-supported Fabrication of Ultra-thin, Condensed ECM Membranes for Separated Cell Coculture on Both Surfaces	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sensors and Actuators B: Chemical,	6. 最初と最後の頁 486-495
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.snb.2019.02.067	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shuhei Aoyama, Yuto Akiyama, Kenji Monden, Masumi Yamada, and Minoru Seki*	4. 巻 144(5)
2. 論文標題 Thermally Imprinted Microcone Structure-assisted Lateral-flow Immunoassay Platforms for Detecting Disease Marker Proteins	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analyst	6. 最初と最後の頁 1519-1526
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C8AN01903G	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kotone Saeki, Masumi Yamada, Sakiko Enomoto, Yuya Yajima, Rie Utoh, and Minoru Seki	4. 巻 1
2. 論文標題 Wrapping of Linear Cell Assemblies with Tubular Collagen Membranes Using Multilayered Microfluidic Devices	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proc. MicroTAS 2018	6. 最初と最後の頁 1442-1444
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Makoto Furuhashi, Masumi Yamada, and Minoru Seki	4. 巻 1
2. 論文標題 Planar Slit Channel System for Label-free, Deformability-based selective capture of Circulating Tumor Cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proc. MicroTAS 2018	6. 最初と最後の頁 1254-1256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sugimoto Manami, Kitagawa Yoichi, Yamada Masumi, Yajima Yuya, Utoh Rie, Seki Minoru	4. 巻 18
2. 論文標題 Micropassage-embedding composite hydrogel fibers enable quantitative evaluation of cancer cell invasion under 3D coculture conditions	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Lab on a Chip	6. 最初と最後の頁 1378-1387
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C7LC01280B	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yuya Yajima, Chu Ning Lee, Masumi Yamada, Rie Utoh, and Minoru Seki	4. 巻 126
2. 論文標題 Development of a Perfusable 3D Liver Cell Cultivation System via Bundling-up Assembly of Cell-laden Microfibers	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 111-118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2018.01.022.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Masumi Yamada and Minoru Seki	4. 巻 51
2. 論文標題 Multiphase Microfluidic Processes to Produce Alginate-based Microparticles and Fibers (Review)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Chemical Engineering of Japan	6. 最初と最後の頁 318-330
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1252/jcej.17we328	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yuya Yajima, Masumi Yamada, Rie Utoh, and Minoru Seki	4. 巻 3 (9)
2. 論文標題 Collagen Microparticle-mediated 3D Cell Organization: A Facile Route to Bottom-Up Engineering of Thick and Porous Tissues	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 ACS Biomaterials Science and Engineering	6. 最初と最後の頁 2144-2155
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsbmaterials.7b00131	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mayu Fukushi, Yuya Yajima, Rie Utoh, Masumi Yamada, Kazuya Furusawa, and Minoru Seki	4. 巻 1
2. 論文標題 Collagen gelation on phosphate particle-embedding PDMS (PP-PDMS) channel: An efficient approach to vascular tissue engineering	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Proc. MicroTAS 2017	6. 最初と最後の頁 1145-1146
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takuma Yanai, Takatomo Ouchi, Masumi Yamada, and Minoru Seki	4. 巻 10 (6)
2. 論文標題 Hydrodynamic Microparticle Separation Mechanism Using Three-Dimensional Flow Profiles in Dual-Depth and Asymmetric Lattice-Shaped Microchannel Networks	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Micromachines	6. 最初と最後の頁 425 (12)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/mi10060425.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hori Aruto, Watabe Yuki, Yamada Masumi, Yajima Yuya, Utoh Rie, Seki Minoru	4. 巻 2
2. 論文標題 One-Step Formation of Microporous Hydrogel Sponges Encapsulating Living Cells by Utilizing Bicontinuous Dispersion of Aqueous Polymer Solutions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Applied Bio Materials	6. 最初と最後の頁 2237 ~ 2245
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsbm.9b00194	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Misaki Kato, Mayu Fukushi, Masumi Yamada, Rie Utoh, and Minoru Seki	4. 巻 1
2. 論文標題 Composite PDMS-based in situ Patterning of Collagen Microgels for Perfusion Cell Culture Microsystems	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the 23rd International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2019)	6. 最初と最後の頁 282-283
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Naotaka Jin, Jumpei Yamamoto, Masumi Yamada, Kazuki Iijima, Koji Katayama, and Minoru Seki	4. 巻 1
2. 論文標題 Vertical Slit-fractionation: High-throughput Particle/cell Separation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the 23rd International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2019)	6. 最初と最後の頁 606-607
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Aoyama Shuhei, Monden Kenji, Akiyama Yuto, Yamada Masumi, Seki Minoru	4. 巻 91
2. 論文標題 Enhanced Immunoabsorption on Imprinted Polymeric Microstructures with Nanoengineered Surface Topography for Lateral Flow Immunoassay Systems	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 13377 ~ 13382
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.9b03454	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -



1. 著者名 Mu Tinglin, Toyoda Hajime, Kimura Yuki, Yamada Masumi, Utoh Rie, Umeno Daisuke, Seki Minoru	4. 巻 92
2. 論文標題 Laborless, Automated Microfluidic Tandem Cell Processor for Visualizing Intracellular Molecules of Mammalian Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 2580 ~ 2588
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.9b04288	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計47件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 15件)

1. 発表者名 Hideki Iwadate, Naoki Kimura, Rina Hashimoto, Yuya Yajima, Rie Utoh, Masumi Yamada, and Minoru Seki
2. 発表標題 Separated Co-culture of Heterotypic Cells Using Microfabricated Thin ECM Membranes
3. 学会等名 29th 2018 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science (MHS 2018), Nagoya University, Japan, Dec. 9-12, 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Makoto Furuhashi, Masumi Yamada, and Minoru Seki
2. 発表標題 Planar Slit Channel System for Label-free, Deformability-based selective capture of Circulating Tumor Cells
3. 学会等名 The 22nd International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2018), Kaohsiung Exhibition Center, Kaohsiung, Taiwan, Nov. 11-15, 2018. (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kotone Saeki, Masumi Yamada, Sakiko Enomoto, Yuya Yajima, Rie Utoh, and Minoru Seki
2. 発表標題 Wrapping of Linear Cell Assemblies with Tubular Collagen Membranes Using Multilayered Microfluidic Devices
3. 学会等名 The 22nd International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2018), Kaohsiung Exhibition Center, Kaohsiung, Taiwan, Nov. 11-15, 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 穆 廷林, 豊田 一, 山田 真澄, 鶴頭 理恵, 関 実
2. 発表標題 多段階溶液交換プロセッサーを利用した細胞内サイトカインの可視化
3. 学会等名 化学工学会 第84年会, 芝浦工業大学 豊洲キャンパス, 2019年3月13~15日
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鶴頭理恵, 榎本紗希子, 山中啓吾, 山田真澄, 関 実
2. 発表標題 断片化マイクロコラーゲンファイバーを導入した肝細胞スフェロイド培養の肝機能への効果
3. 学会等名 化学工学会 第84年会, 芝浦工業大学 豊洲キャンパス, 2019年3月13~15日
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hideki Iwadate, Masumi Yamada, Rie Utoh, and Minoru Seki
2. 発表標題 Microfabrication of Ultra-thin ECM Films for Controlled Cell Coculture Systems
3. 学会等名 化学工学会 第84年会, 芝浦工業大学 豊洲キャンパス, 2019年3月13~15日
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鶴頭理恵, 榎本紗希子, 山中啓吾, 山田真澄, 関 実
2. 発表標題 肝スフェロイド培養における断片化コラーゲンマイクロファイバー内包の効果
3. 学会等名 シンポジウム: 細胞アッセイ技術の現状と将来, 産業技術総合研究所つくばセンター 共用講堂, 2019年1月30日
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩館秀樹, 木村尚貴, 橋本里奈, 矢嶋祐也, 山田真澄, 鶴頭理恵, 関 実
2. 発表標題 マイクロステンシルプレート内濃縮によるECM薄膜の作製と肝臓細胞培養への応用
3. 学会等名 シンポジウム: 細胞アッセイ技術の現状と将来, 産業技術総合研究所つくばセンター 共用講堂, 2019年1月30日
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 穆 廷林, 豊田 一, 山田真澄, 鶴頭理恵, 関 実
2. 発表標題 タンDEM型溶液交換プロセッサーを用いた希少細胞の高効率染色
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第38回研究会 札幌市民交流プラザ 2018年10月30日-11月1日
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森田明寛, 矢嶋祐也, 山田真澄, 鶴頭理恵, 関 実
2. 発表標題 3次元微粒子培養系によるシート状肝組織のワンステップ作製
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第38回研究会 札幌市民交流プラザ 2018年10月30日-11月1日
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 古畑 誠, 山田真澄, 関 実
2. 発表標題 血中がん細胞の捕捉と純化のためのマイクロ流体デバイスの開発
3. 学会等名 化学工学会 第50回秋季大会 鹿児島大学 郡元キャンパス 2018年9月18~20日
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐伯琴音, 榎本紗希子, 矢嶋祐也, 鶴頭理恵, 山田真澄, 関 実
2. 発表標題 細胞を内腔に導入可能なコラーゲンチューブのワンステップ作製
3. 学会等名 化学工学会 第50回秋季大会 鹿児島大学 郡元キャンパス 2018年9月18~20日
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 穆 廷林, 豊田 一, 山田 真澄, 関 実
2. 発表標題 希少細胞の連続的化學処理を可能とする多段階溶液交換プロセッサの開発
3. 学会等名 第70回日本生物工学会大会 関西大学 千里山キャンパス 2018年9月5~7日
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 福土万由, 矢嶋祐也, 古澤和也, 鶴頭理恵, 山田真澄, 関 実
2. 発表標題 流路内壁相転移法による血管模倣ハイドロゲルチューブの作製
3. 学会等名 日本混相流学会 混相流シンポジウム2018, 東北大学青葉山東キャンパス, 2018年8月8日~10日
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐伯琴音, 榎本紗希子, 矢嶋祐也, 鶴頭理恵, 山田真澄, 関 実
2. 発表標題 マイクロ流体デバイスを用いた細胞の配列化およびカプセル化技術の開発
3. 学会等名 2018年度 生物工学若手研究者の集い(若手会)夏のセミナー, 北見工業大学, 2018年6月30日~7月1日
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩館秀樹, 木村尚貴, 橋本里奈, 矢嶋祐也, 山田真澄, 鶴頭理恵, 関 実
2. 発表標題 ECM薄膜を組み込んだ細胞培養用マイクロ灌流デバイスの開発
3. 学会等名 2018年度 生物工学若手研究者の集い(若手会)夏のセミナー, 北見工業大学, 2018年6月30日~7月1日
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐伯琴音, 榎本紗希子, 矢嶋祐也, 鶴頭理恵, 山田真澄, 関 実
2. 発表標題 多層マイクロ流体デバイスを用いた細胞導入コラーゲンチューブの作製
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第37回研究会 産業技術総合研究所 つくばセンター 2018年5月21日-22日
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩館秀樹, 木村尚貴, 橋本里奈, 矢嶋祐也, 山田真澄, 鶴頭理恵, 関 実
2. 発表標題 ECM薄膜を統合した細胞培養用マイクロ流体デバイス
3. 学会等名 第25回 H A B 研究機構学術年会, 産業総合技術研究所つくばセンター 共用講堂, 2018年5月24~26日
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hajime Toyoda, Masumi Yamada, and Minoru Seki
2. 発表標題 Microfluidic device for multistep particle processing based on hydrodynamic carrier-fluid exchange
3. 学会等名 Third International Symposium on Multiscale Multiphase Process Engineering (MMPE2017), Toyama International Conference Center, Japan, May. 8-11, 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1 . 発表者名 Manami Sugimoto, Yoichi Kitagawa, Yuya Yajima, Rie Utoh, Masumi Yamada, and Minoru Seki
2 . 発表標題 Invasion Assay of Cancer Cells Using Hierarchically-patterned Hydrogel Sheets
3 . 学会等名 RSC Tokyo International Conference 2017 - Analytical Technology Towards Future Society - (JASIS 2017), Makuhari Messe, Chiba, Japan, Sep. 7-8, 2017 ( 国際学会 )
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 Yamada Masumi, Makoto Furuhashi, and Minoru Seki
2 . 発表標題 Deformability-based Capturing of Circulating Tumor Cells in Planar Microfluidic Channels
3 . 学会等名 The 23st Symposium of Young Asian Biochemical Engineers ' Community (YABEC 2017), Jin Jiang International Hotel Xi ' an, China, Oct. 18-20, 2017 ( 国際学会 )
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 Mayu Fukushi, Yuya Yajima, Rie Utoh, Masumi Yamada, Kazuya Furusawa and Minoru Seki
2 . 発表標題 Collagen Gelation on Phosphate Particle-embedding PDMS (PP-PDMS) Channel: An Efficient Approach to Vascular Tissue Engineering
3 . 学会等名 The 21st International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2017), Savannah International Trade & Convention Center, Savannah, GA, USA, Oct. 22-26, 2017 ( 国際学会 )
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 Manami Sugimoto, Yoichi Kitagawa, Yuya Yajima, Rie Utoh, Masumi Yamada, and Minoru Seki
2 . 発表標題 Control of Invasion Direction of Cancer Cells Using Hierarchically Patterned Hydrogel Sheets
3 . 学会等名 28th 2017 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science (MHS 2017), Nagoya University, Japan, Dec. 3-6, 2017 ( 国際学会 )
4 . 発表年 2017年

1. 発表者名 Hajime Toyoda, Masumi Yamada, and Minoru Seki
2. 発表標題 Highly Efficient Multistep Microfluidic Cell Processor for Rare Cell Analysis
3. 学会等名 Lab-on-a-Chip & Microfluidics, Point-of-Care Diagnostics & Global Health Asia 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 福土万由, 矢嶋祐也, 古澤和也, 鶴頭理恵, 山田真澄, 関 実
2. 発表標題 リン酸塩 PDMS流路を用いたコラーゲンチューブの形成とその応用
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第35回研究会 東京工業大学 大岡山キャンパス 2017年5月22~23日
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 福土万由, 矢嶋祐也, 古澤和也, 鶴頭理恵, 山田真澄, 関 実
2. 発表標題 流路内堆積法によるコラーゲンベース血管組織の作製
3. 学会等名 生物工学若手研究者の集い 夏のセミナー2017 ツネイシしまなみビレッジ 2017年7月22~23日
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山田真澄, 関 実
2. 発表標題 磁気泳動とマイクロ流路層流系を利用した細胞の分離・選抜
3. 学会等名 日本磁気学会 第214回研究会 / 第42回強磁場応用専門研究会 中央大学駿河台記念館330号室 2017年8月3日 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 福土万由, 矢嶋祐也, 古澤和也, 鶴頭理恵, 山田真澄, 関 実
2. 発表標題 コラーゲンチューブの流路内形成による血管様組織の作製
3. 学会等名 化学工学会東京大会 早稲田大学西早稲田キャンパス 2017年8月9~10日
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 古畑誠, 山田真澄, 関 実
2. 発表標題 薄層平板型マイクロ流路における血中循環がん細胞の捕捉挙動の観察
3. 学会等名 日本混相流学会 混相流シンポジウム2017 電気通信大学 2017年8月19日~21日
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山田真澄, 関 実
2. 発表標題 格子状微小流路を利用する微粒子・細胞の分離選抜システム
3. 学会等名 日本分析化学会第66年会 東京理科大学葛飾キャンパス 2017年9月9~12日
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 古畑誠, 山田真澄, 関 実
2. 発表標題 平板型マイクロ流路を用いた血中循環がん細胞の捕捉挙動の解析
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第36回研究会 桐生市市民文化会館 スカイホール 2017年10月4~5日
4. 発表年 2017年



1. 発表者名 堀 有音, 渡部有紀, 矢嶋祐也, 山田真澄, 鶴頭理恵, 関 実
2. 発表標題 マトリックス内に生細胞を包埋可能なポンジ状ハイドロゲル培養系の開発
3. 学会等名 シンポジウム: 細胞アッセイ技術の現状と将来 アステラス製薬株式会社つくば研究センター 2018年1月19日
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堀 有音, 渡部有紀, 矢嶋祐也, 山田真澄, 鶴頭理恵, 関 実
2. 発表標題 共連続水性2相分散系を利用した細胞包埋スポンジ状ハイドロゲルの作製
3. 学会等名 化学工学会 第83年会 関西大学 千里山キャンパス 2018年3月13~15日
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 福土万由, 矢嶋祐也, 古澤和也, 鶴頭理恵, 山田真澄, 関 実
2. 発表標題 流路内コラーゲンゲル堆積法によるチューブ状生体組織の作製
3. 学会等名 化学工学会 第83年会 関西大学 千里山キャンパス 2018年3月13~15日
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山中啓吾, 森田明寛, 山田真澄, 鶴頭理恵, 関 実
2. 発表標題 断片化コラーゲンマイクロファイバーの高効率作製法の開発とその応用
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第39回研究会, 金沢大学宝町・鶴間キャンパス, 2019年5月27~28日
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森田明寛, 鶴頭理恵, 矢嶋祐也, 山田真澄, 関 実
2. 発表標題 コラーゲン微粒子複合化による初代肝細胞のシート状3次元培養系
3. 学会等名 第26回HAB研究機構学術年会, 昭和大学 上條記念館, 2019年6月20 ~ 22日
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tinglin Mu, Hajime Toyoda, Masumi Yamada, Rie Utoh, Minoru Seki
2. 発表標題 Development of Highly Efficient Cell Staining System via Multistep Carrier-Medium Exchange
3. 学会等名 The 14th Asian Congress on Biotechnology (ACB2019), Tamsui Township near Taipei city, Taiwan, July 1-4, 2019. (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山中啓吾, 森田明寛, 山田真澄, 鶴頭理恵, 関 実
2. 発表標題 断片化コラーゲンマイクロファイバーを用いる3次元細胞培養系の開発
3. 学会等名 日本生物工学会 2019年度生物工学若手研究者の集い(若手会)夏のセミナー, 琵琶湖国定公園 近江白浜 政府登録旅館 白浜荘, 2019年7月20 ~ 21日
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 神 尚孝, 山本純平, 山田真澄, 飯島和樹, 片山晃治, 関 実
2. 発表標題 簡便なスケールアップを可能にするマイクロ流体スリット構造を用いた粒子分離
3. 学会等名 化学工学会横浜大会, 横浜国立大学, 2019年8月8 ~ 9日
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐伯琴音, 榎本紗希子, 矢嶋祐也, 鶴頭理恵, 山田真澄, 関 実
2. 発表標題 コラーゲンチューブ培養法による肝細胞微小線形オルガノイドの作製
3. 学会等名 第71回日本生物工学会大会, 岡山大学津島キャンパス, 2019年9月16~18日
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Misaki Kato, Mayu Fukushi, Masumi Yamada, Rie Utoh, and Minoru Seki
2. 発表標題 Microengineering of Collagen Hydrogels Integrated into Microfluidic Devices for Perfusion Culture of Mammalian Cells
3. 学会等名 18th Asian Pacific Confederation of Chemical Engineering congress (APCCHE2019), Sapporo Convention Center, Sapporo, Japan Sep. 23-27, 2019. (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naotaka Jin, Jumpei Yamamoto, Masumi Yamada, Kazuki Iijima, Koji Katayama and Minoru Seki
2. 発表標題 Vertical Slit-fractionation: High-throughput Particle/cell Separation
3. 学会等名 The 23rd International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2019), Congress Center Basel, Basel, Switzerland, Oct. 27-31, 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Misaki Kato, Mayu Fukushi, Masumi Yamada, Rie Utoh, and Minoru Seki
2. 発表標題 Composite PDMS-based in situ Patterning of Collagen Microgels for Perfusion Cell Culture Microsystems
3. 学会等名 The 23rd International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2019), Congress Center Basel, Basel, Switzerland, Oct. 27 - 31, 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤美咲, 堀 有音, 山田真澄, 鶴頭理恵, 関 実
2. 発表標題 ゲル化剤含有マイクロピラー構造を用いた細胞包埋コラーゲンゲルの微細加工
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第40回研究会, アクトシティ浜松, 2019年11月19日~21日
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐伯琴音, 榎本紗希子, 矢嶋祐也, 鶴頭理恵, 山田真澄, 関 実
2. 発表標題 マイクロノズル統合型流体デバイスを用いた細胞導入コラーゲンチューブの作製
3. 学会等名 第36回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, アクトシティ浜松, 2019年11月19~21日
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Keigo Yamanaka, Sakiko Enomoto, Akihiro Morita, Aruto Horii, Rie Utoh, Masumi Yamada, and Minoru Seki
2. 発表標題 Polyion-Induced Production of Fragmented Collagen Microfibers for 3D Cell Cultivation
3. 学会等名 2nd Growing Polymer Symposium in KANTO (GPS-K 2019), Tokyo University of Science Katushika Campus, Tokyo, Japan, Nov. 30, 2019. (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akihiro Morita, Rie Utoh, Masumi Yamada, and Minoru Seki
2. 発表標題 Effects of Collagen Microparticles on Formation of Three Dimensional Composite Tissue Models of Primary Hepatocytes
3. 学会等名 The 30th 2019 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science (MHS 2019), Nagoya, Japan, Dec. 1-4 2019. (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 コラーゲンチューブの作製方法	発明者 山田, 関, 佐伯, 鷓頭, 榎本, 矢嶋	権利者 千葉大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-093710	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	山田 真澄  (Yamada Masumi)  (30546784)	千葉大学・大学院工学研究院・准教授    (12501)	