

令和 4 年 6 月 30 日現在

機関番号：12608

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2021

課題番号：20K20957

研究課題名(和文)電界共役流体ジェットとエレクトロスピンングを融合した積層配向ナノファイバの形成

研究課題名(英文)Formation of aligned nanofibers by combining ECF jet flow and electrospinning

研究代表者

金 俊完 (KIM, Joon-wan)

東京工業大学・科学技術創成研究院・准教授

研究者番号：40401517

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：細胞工学で必要とする人工的な細胞外マトリックス(ECM)の形成を実現するために、(1)コレクタ電極として電解質溶液を用い、(2)この電解質溶液の位置を電界共役流体(ECF)ジェットで制御する新たなエレクトロスピンング手法を提案している。その基礎研究として、可動式の鋭角形状のコレクタを用いて、整列したナノファイバ膜を形成することを提案している。より正確に制御するために、鋭角コレクタに加えて補助電極を配置することも提案している。提案された方法を可能にするエレクトロスピンングシステムを開発し、形成されたナノファイバの配向精度を実験的に確認することでその有効性を検証している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、鋭角形状のコレクタと、補助電極の組み合わせにより、コレクタ間距離がセンチメートルオーダーに増加した場合でも配向精度の高い均一な整列ナノファイバの膜を形成することができている。この手法は従来手法より大面積のECMのための足場を製造する手法として期待できる。また、可動式コレクタを用いることで、マイクロ流路中に多様な方向に配向された積層ナノファイバが形成できる。本研究は、これまでにない基礎的研究であるとともに実用化に向けての大きな研究計画であり、多様な細胞外マトリックス(ECM)とその応用分野でのブレークスルーが期待される。

研究成果の概要(英文)：Cells are often cultured into scaffolds capable of supporting three-dimensional tissue formation for medical purposes. Many researchers have developed scaffolds mimicking the extracellular matrix (ECM) of the native tissue by using nanofibers formed by electrospinning. In general, nanofibers by electrospinning have the characteristic of random orientation, so it is not adequate to culture the cells aligned in a specific direction. To overcome this limitation, we propose to form an aligned nanofiber membrane using a sharp-angled collector pair and its parallel movement. Using this method, we successfully achieved more uniform and aligned nanofiber membranes than the previous one formed by the parallel plate collector. For more precise control of orientation, we also propose to place auxiliary electrodes in addition to the sharp-angled collector. We develop an electrospinning system that enables the proposed method and verifies its effectiveness experimentally.

研究分野：マイクロメカトロニクス

キーワード：電界共役流体 エレクトロスピンング

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

生物は多数の細胞から構成されているが、組織として正しく形を保つためには、細胞の外側で細胞を取り巻いて存在する超分子複合体が必要である。このような働きをする物質の総称を「細胞外マトリックス(ECM)」と定義し、分子が会合した不溶性の線維構造であることが明らかにされている。一例として、皮膚の ECM は単純に細胞外の空間を充填する役割だけではなく、(a) 骨格的役割、(b) 細胞接着における足場の役割、(c) 細胞増殖因子などの保持・提供する役割をすると報告されている。また、ECM は、血管、神経、支持細胞、分泌された因子などからのシグナルが幹細胞の行動を調節できるように場を提供する。このような背景から細胞工学ではその研究目的に適合した ECM の形成・制御が必須不可欠であり、(i) 多様な太さや形状の繊維が形成できる、(ii) 細胞や細胞外の種々の物質に結合できる、(iii) 生体液中では溶けない、(iv) 繊維の配列を揃えるなどの要求条件から、エレクトロスピンニングによるナノファイバが注目を浴びている。エレクトロスピンニングは、ポリマ溶液が入ったシリンジの針に高電圧を印加することで、針の先端において電荷の反発力がポリマ液滴の表面張力に打ち勝って電荷を帯びた噴流が発生し、ナノファイバとなりグラウンド側にランダムに集積される方法である。今までに、ナノファイバの配列を揃える方法として、電場と磁場の制御が報告されている。平衡にグラウンド電極を配置することで電極間にナノファイバを配向させることができるが、多方向に積層配向されたナノファイバ膜を形成することが困難である。磁場で制御する方法はポリマ溶液に磁性ナノ粒子を入れる必要があり、磁性材料との生体適合性が問題になることがある。また、チップ上に臓器の細胞を培養し、その機能を評価する生体機能チップ(Organ-on-a-chip)へ応用するためには、マイクロ流路に三次元的に形成される必要がある。

### 2. 研究の目的

このような背景から、(1)コレクタ電極として電解質溶液を用い、(2)この電解質溶液の位置を電界共役流体(ECF)ジェットで制御する新たなエレクトロスピンニング手法を具現化し、人工的な ECM の形成に応用することを目的とする。本研究課題では、細胞工学に適合した ECM を形成できるエレクトロスピンニングシステムを実現する斬新なアイデアとして、(1)コレクタ電極を移動できる液体電極(電解質溶液)を用いることと(2)可動部なしで流れを発生させる ECF マイクロポンプで液体電極の位置を精密に制御することを融合している。液体電極を用いることで、マイクロサイズで問題になっている摩擦などの影響が少ない。また、マイクロ流路中に多様な方向に配向された積層ナノファイバが形成できる。本研究は、これまでにない基礎的研究であるとともに実用化に向けての大きな研究計画であり、多様な細胞外マトリックス(ECM)とその応用分野でのブレークスルーが期待される。

### 3. 研究の方法

#### < 電界共役流体(ECF)ジェットによる電解質溶液(コレクタ電極)の位置制御 >

電界共役流体(Electro-Conjugate Fluid: ECF)とは、その中に挿入された電極対に直流電圧を印加することで電極間に活発なジェット流を発生させる機能性流体である。この ECF ジェットを用いたポンプは、電気エネルギーを機械エネルギー(流体の流れ)に直接変換するダイナミックポンプ(ECF マイクロポンプ)であり、機械的な摺動部・可動部がなく、マイクロ液滴の精密な位置決めができる。三角柱 - スリット形電極対(TPSE)の製作は、申請者が考案した「UV フォトリソグラフィと厚膜レジストによる鋳型と電鍍」で製作するため、マイクロ流路を含めワンチップ上に製作することができる。

#### < 可動コレクタを用いたエレクトロスピンニング >

従来のエレクトロスピンニングでは電極対を固定コレクタ電極として用いるが、本研究課題ではグラインド電極を精密に移動させる必要があり、液体である「電解質溶液」をコレクタ電極として用いる工夫をしている。ECF は絶縁油の一種であり、油と水が非混合流体であることを利用し、ECF ジェットがピストンなどの隔離膜なしで電解質溶液を押し、その位置を精密に制御できる。ナノファイバを配列させたい位置に電解質溶液を移動させた後にエレクトロスピンニングを行うことで多様な位置に多様な配列のナノファイバ膜を形成できる。

### 4. 研究成果

#### (1) 両方向の流れを発生できる ECF マイクロポンプ

ECF を両方向に流動させる必要性から、一方向のみの流動を目的とした従来の三角柱 - スリット形電極対の電極配置を変更し、スリット電極を共有しながら二つの三角柱電極を対向させる新たな三角柱電極対向形 ECF マイクロポンプを提案している。また、このポンプでは、対向する三角柱電極への印加電圧をスイッチングすることで ECF ジェット流の向きを切り替えられることを示している。この ECF マイクロポンプをフォトリソグラフィおよび電鍍技術を用いて試作し、発生圧力および流量を実験的に評価することで両方向への流動が同等の性能を有することを明らかにしている。また、ステップ応答実験および周波数応答実験を行い、その動特性

を明確にしている。

#### (2) ECF マイクロポンプによる電解質溶液の位置制御

電解質溶液の位置制御を実現することを研究目的に、電解質溶液の代用品としての水溶液を、マイクロ流路内で形成する ECF との界面を用いて制御することを提案している。試作したデバイスでは、ECF が水溶液との界面を維持しながら水溶液を往復運動させ、精密にその界面の位置を制御できることを明らかにしている。また、アクティブ On/Off バルブを採用した ECF 駆動形マイクロポンプを提案し、水溶液を高精度かつ高効率に制御できることを示し、提案したマイクロポンプを用いた溶液の位置制御の有効性を実証している。

#### (3) エレクトロスピンニング法を用いた積層配向ナノファイバ

生体組織の培養の足場として用いられるより高度な細胞外マトリクス(ECM)の構造である積層配向構造をナノファイバで模倣する際に 1 種類の積層構造ごとにデバイスを 1 つ作製する必要があったナノファイバ形成手法を静電場制御と可動コレクタを用いることで様々な配向角度の積層配向ナノファイバを形成でき、1 つのデバイスのみで様々な積層構造を作製することができるシステムを提案し、デバイスを試作している。

平行二直線流路デバイスによる実験結果より、流路に対して直交した角度の配向ナノファイバを特定領域のみに形成することは可能であることを示している。また、可動コレクタの露出部分の形状を四角形状から鋭角形状に変更することでナノファイバを集束させることができることを明らかにしている。

この予備実験結果を反映し、積層配向ナノファイバを形成するデバイスとして円環流路デバイスを提案している。円環流路デバイスによる実験結果より、円環流路デバイスにおける円環流路壁の内側部分に任意の配向角度の配向ナノファイバを形成することができることを示している。この実験結果より、円環流路デバイスによって任意の配向角度を持つ積層配向ナノファイバを円環流路壁の内側部分に形成することができることを明らかにしている。

#### (4) 可動コレクタを用いたエレクトロスピンニング法によるナノファイバの整列

配向精度の高い均一な整列ナノファイバの膜の形成を目的として、(i)鋭角形状のコレクタと、(ii)ノズルから噴出されるジェットの軌道に沿って配置する補助電極の組み合わせを利用した紡糸手法を提案している。提案した手法を可能とするエレクトロスピンニング装置を開発し、形成されたナノファイバを実験的に確認することでその有効性を検証している。提案したデバイスを用いて配向精度が高い均一な整列ナノファイバの膜を紡糸可能であることを示している。

また、リング電極や偏向電極を用いることでより局所的な電場を形成し、ファイバが堆積する位置、配向を制御する方法を提案している。上記の電極が整列ナノファイバの膜の形成に有効であることを、静電場シミュレーションや平板コレクタを用いた実験により示すとともに条件設定を行っている。鋭角形状のコレクタと上記の補助電極の組み合わせを利用した手法により、コレクタ単体で生じていた弛むナノファイバを軽減できることを示している。また、コレクタ間距離が増加した場合において架橋するファイバの量を増加することができることを明らかにしている。

#### (5) 人工的な ECM の形成への知見

本課題での COMSOL Multiphysics によるシミュレーションは静電場のみのシミュレーションとなっており、クーロン力や粘性力等の影響を考慮していないシミュレーションとなっている。そのため、個々の粒子間に働く力に着目したシミュレーションを行うことで、より最適な電極形状、電極配置を決定できることを示している。

SEM 画像に観察される、配向精度の低いナノファイバは残留電荷の蓄積の影響が大きいと考察している。従って、さらに配向精度を高めるためにはファイバに蓄積した残留電荷を除去するようなシステムを構築する必要があることを明らかにしている。

ナノファイバの紡糸のみに焦点を当てており、紡糸したナノファイバが実際に ECM として活用できるかを明確にしていない。そこで、紡糸したナノファイバを用いて細胞培養を行うことで配向精度が細胞に与える影響を検証する必要があることを示している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Matsubara Tatsuya, Yoshida Kazuhiro, Kim Joon-wan	4. 巻 30
2. 論文標題 Active microvalve driven by electro-conjugate fluid jet flow with a hydraulic power source on a chip	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Micromechanics and Microengineering	6. 最初と最後の頁 105013 ~ 105013
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1088/1361-6439/aba227	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 Han Dong, Yamada Yoshiho, Yokota Shinichi, Kim Joon-wan	4. 巻 21
2. 論文標題 Multilayer Fabrication of Micromolding and Electroforming with the Planarization of Grinding for High-Aspect-Ratio Microelectrodes in Electro-conjugate Fluid (ECF) Micropumps	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Precision Engineering and Manufacturing	6. 最初と最後の頁 927 ~ 936
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12541-019-00299-3	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 Choi Jong Seob, Smith Alec S. T., Williams Nisa P., Matsubara Tatsuya, Choi Minji, Kim Joon Wan, Kim Hyung Jin, Choi Seungkeun, Kim Deok Ho	4. 巻 30
2. 論文標題 Nanopatterned Nafion Microelectrode Arrays for In Vitro Cardiac Electrophysiology	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Advanced Functional Materials	6. 最初と最後の頁 1910660 ~ 1910660
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/adfm.201910660	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0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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	吉田 和弘  (Yoshida Kazuhiro)  (00220632)	東京工業大学・科学技術創成研究院・教授    (12608)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------