

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 25 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24560968

研究課題名(和文) ナノセグメント固定化細胞培養基板の調製と幹細胞培養と分化制御

研究課題名(英文) Preparation of biomaterials grafted with nanosegments and regulation of culture and differentiation of stem cells

研究代表者

樋口 亜紺 (HIGUCHI, AKON)

独立行政法人理化学研究所・伊藤ナノ医工学研究室・研究員

研究者番号：30189766

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：幹細胞の未分化状態での保持、培養並びに適切な組織細胞への分化誘導は、幹細胞を用いる再生医療に必須である。様々な剛性/弾性を有する基板を作成し、その基板の上に細胞接着因子並びにオリゴペプチドを固定化させた基板を調製した。様々なナノセグメント固定化細胞培養基板において、ES細胞、iPS細胞、造血幹細胞並びに間葉系幹細胞を培養して、未分化状態で培養させる最適な基板の剛性/弾性並びに最適な細胞接着因子ペプチドあるいは細胞外マトリックス蛋白質を判明させた。さらに、適切な組織細胞(骨芽細胞)への分化効率の高い最適な基板の剛性/弾性並びに最適な細胞接着因子ペプチドとECMを判明させた。

研究成果の概要(英文)：It is important to keep pluripotency for stem cells (embryonic stem cells, induced pluripotent stem cells, mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells) during their culture and to induce optimal lineages of tissue cells in regenerative medicine using stem cells. We prepared biomaterials having different elasticity/stiffness where cell adhesion molecules and oligopeptides (nanosegments) were grafted. We have identified the specific cell adhesion peptides and extracellular matrices (ECMs), which keep pluripotency of stem cells cultured on the surface grafted with the peptide of ECMs. We have also identified the optimal elasticity and cell adhesion peptides, which guide the differentiation of osteoblasts from stem cells where the stem cells were cultured on the biomaterials grafted with the cell adhesion peptides or ECMs and having the specific elasticity/stiffness.

研究分野：バイオマテリアル

キーワード：幹細胞 バイオマテリアル 細胞培養 ハイドロゲル 細胞接着因子 再生医療 表面修飾

1. 研究開始当初の背景

ES (胚性幹) 細胞並びに間葉系幹細胞は、次世代の医療技術である再生医療において必須な細胞源であるが、幹細胞の未分化状態での保持、培養並びに適切な組織細胞への分化誘導は、いまだに困難を極めており、通常の細胞培養技術のみでは不十分である。¹⁾例えば、(a) 糖尿病患者への治療として期待されるインスリン産生細胞 (β 細胞)、(b) パーキンソン病への治療として期待されるドーパミン産生神経細胞 (TH 細胞)、への胚性幹細胞 (ES 細胞)、人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) 並びに間葉系幹細胞 (MSC) からの分化は、いまだ困難を極めている。さらに、ヒト iPS 細胞並びに ES 細胞の未分化状態 (多能性を有する状態) での増殖には、一般にマウス胎児性繊維芽細胞 (MEF 細胞、feeder layer) 上で iPS 細胞並びに ES 細胞を培養しており、マウス由来のウイルス等の感染の可能性を否定できない。従って、これらの幹細胞を臨床応用するためには、(c) MEF 細胞を用いない新規バイオマテリアル上でのヒト iPS 細胞並びに ES 細胞の未分化状態での培養法の確立が必須である。

ES 細胞、iPS 細胞、間葉系幹細胞を生体内と同様な環境で、未分化状態の維持並びに適切な組織細胞への分化誘導を行なう因子として、さまざまな因子により制御されていることが明らかとなってきた； (1) 成長因子に代表される水溶性因子、(2) 細胞-細胞間相互作用、(3) 細胞-バイオマテリアル (細胞外マトリックス) 相互作用、(4) 細胞培養部位 (バイオマテリアル) の物理的パラメータ (剛性、粘弾性等)。これまで、EGF、FGF-2 に代表されるような成長因子の幹細胞に与える効果が主に着目されてきたが、近年、幹細胞の培養を行なうバイオマテリアル (細胞培養基板) が幹細胞の分化誘導を制御していることが明らかとなってきた。例えば、Engler (Cell, 126, 677-89, 2006) らは、細胞培養基板の剛性 / 弾性 (stiffness) が間葉系幹細胞の分化方向を誘導することを報告している (図 1)。しかしながら、これらの研究は 2 次元基板のみに当てはまり、組織工学で用いられる 3 次元基板の場合には、他の因子の効果の方が有効であり当てはまらない場合が多い。また、これらの研究は物理的

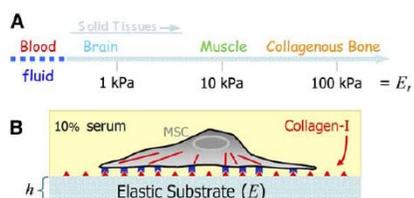


Fig. 1 細胞培養基板の剛性/弾性は幹細胞分化の方向を誘導する。

因子のみを考慮しており、生化学的因子と物理効果の相乗効果の研究はこれまで行なわれてこなかった。フィブロネクチン、コラーゲン、ビトロネクチン、ラミニン等、細胞外マトリックス (ECM) を細胞培養基板にコーティングした場合、それぞれの ECM に応じて、幹細胞は固有の組織細胞へと分化する傾向があることが明らかとなってきた。例えば、コラーゲンは、幹細胞を骨芽細胞、軟骨細胞への分化を促進させている。ビトロネクチンは、骨芽細胞への分化を促進させる。さらに、ラミニンは筋肉細胞、平滑筋への幹細胞の分化を促進させ、フィブロネクチンは脂肪細胞への分化を促進させることが明らかとなってきた。しかしながら、最適な剛性 / 弾性を有する基板上における ECM の幹細胞分化 (骨芽細胞、インスリン産生細胞、ドーパミン産生細胞) に対する効果の検討はこれまで行なわれてこなかった。

ヒト iPS 細胞並びに ES 細胞の未分化状態 (多能性を有する状態) での増殖には、一般にマウス胎児性繊維芽細胞 (MEF 細胞、feeder layer) 上で培養するのが一般的である。近年、MEF 細胞を用いずに、ECM を固定化させた細胞培養基板上における未分化状態でのヒト iPS 細胞並びに ES 細胞の培養が報告されてきているが、十分な結果は得られていない。¹⁾特に、最適な剛性 / 弾性を有する基板上において、ヒト iPS 細胞並びに ES 細胞の増殖における ECM に対する効果の検討はこれまで行なわれてこなかった。

2. 研究の目的

幹細胞の未分化状態での保持、培養並びに適切な組織細胞への分化誘導は、幹細胞を用いる次世代の医療技術である再生医療に必須である。幹細胞の運命 (未分化状態の保持、特異的組織細胞への分化) の制御は、幹細胞培養基板の物理的特性 (剛性 / 弾性 (stiffness)) 並びに生物化学的特性 (細胞接着部位ペプチドの種類並びに表面密度) に大いに依存することが示唆されているが、これらの研究は個別に行なわれてきており、系統的な研究はなされてこなかった。そこで、本研究では、様々な剛性 / 弾性を有する基板を作成し、その基板上に細胞接着因子ペプチド (RGDS, CS-1, DEGA, IKVAV, PDSGR, YIGSR 等) を固定化させた基板を調製した。また、様々な剛性 / 弾性を有する基板上に細胞外マトリックス蛋白質 (フィブロネクチン、コラーゲン、ビトロネクチン、ラミニン、マトリゲル) を固定化させた基板を調製した。これら様々なナノセグメント固定化細胞培養基板上において、ES 細胞、iPS 細胞、造血幹細胞 (HSC) 並びに間葉系幹細胞を培養して、(1) 未分化状態で培養させる最適な基板の剛性 / 弾性並びに最適な細胞接着因子ペプチ

ドあるいは細胞外マトリックス蛋白質 (ECM) を判明させること、並びに、(2)適切な組織細胞 (骨芽細胞、ドーパミン産生細胞、インスリン産生細胞) への分化効率の高い最適な基板の剛性 /弾性並びに最適な細胞接着因子ペプチドあるいは ECM を判明させることを、本研究の目的とした。

3. 研究の方法

本申請研究は、(a) 様々な剛性 /弾性 (stiffness) を有する細胞培養基板の調製を行った。細胞培養基板の剛性 /弾性 (stiffness) は、原子間力顕微鏡により計測した。(b) 様々な剛性 /弾性 (stiffness) を有する細胞培養基板上に間葉系幹細胞 (MSC) を培養し、骨芽細胞、インスリン産生細胞 (β 細胞) 並びにドーパミン産生神経細胞 (TH 細胞) への分化実験を行い、各分化細胞に対する最適な細胞培養基板の剛性 /弾性を評価した。(c) 様々な剛性 /弾性を有する細胞培養基板表面に、細胞外マトリックス (ECM, フィブロネクチン、コラーゲン、ビトロネクチン、ラミニン、マトリゲル) 並びに細胞接着因子ペプチド (RGDS, CS-1, DEGA, IKVAV, PDSGR, YIGSR 等) をカルボジイミド法を用いて固定化させた (図 2)。

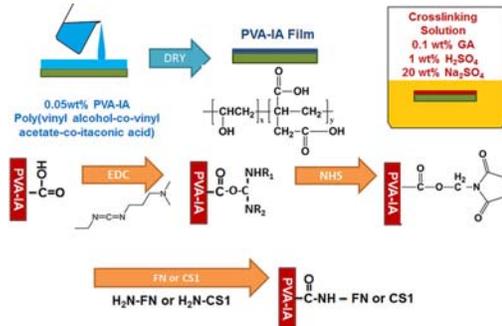


Fig. 2 Preparation of PVA-IA dishes grafted with FN and CS1. (A) Reaction scheme for PVA-IA dishes grafted with FN and CS1. (B) Macroscopic image of PVA-IA-6-CS1. (C) SEM image of a cross-section of PVA-IA-6-CS1. The bar represents 10 μ m.

細胞外マトリックス並びに細胞接着因子ペプチド固定化表面濃度は、マイクロ BCA 分析並びに XPS 測定により評価した。反応時間並びに反応濃度を制御することにより、細胞外マトリックス並びに細胞接着因子ペプチドの細胞培養基板表面濃度を様々な値に制御させた。(d) 細胞外マトリックス並びに細胞接着因子ペプチド固定化細胞培養基板 (ナノセグメント固定化細胞培養基板) 上に間葉系幹細胞 (MSC)、ヒト iPS 細胞並びに ES 細胞を培養し、骨芽細胞、インスリン産生細胞 (β 細胞) 並びにドーパミン産生神経細胞 (TH 細胞) への分化実験を行い、各分化細胞に対する最適なナノセグメント (細胞外

マトリックス並びに細胞接着因子ペプチド) の種類並びに表面濃度を評価した。さらに、(e) ナノセグメント固定化細胞培養基板上にヒト iPS 細胞並びにヒト ES 細胞の培養を行い、多分化状態に何継体まで培養可能か評価した。多分化能の評価は、未分化細胞表面マーカーの発現度並びにテラトーマ形成能で評価を行った。

4. 研究成果

幹細胞の運命の制御は、幹細胞培養基板の物理的特性 (剛性/弾性) 並びに生物化学的特性 (細胞接着部位ペプチドの種類並びに表面密度) に依存するが、これらの研究は個別に行なわれてきており、系統的な研究はなされてこなかった。本研究では、様々な剛性/弾性を有する基板を作成し、その基板上に細胞接着因子ペプチドあるいは細胞外マトリックス蛋白質 (ECM) を固定化させた基板を調製した。これら固定化細胞培養基板上において、ES 細胞、iPS 細胞、造血幹細胞並びに間葉系幹細胞を培養して、未分化状態を維持する最適な基板、あるいは、適切な組織細胞 (骨芽細胞、インスリン産生細胞等) への分化効率の高い最適な基板の剛性/弾性並びに最適な細胞接着因子ペプチドあるいは ECM を判明させることを本研究の目的とした。

ポリビニルアルコール・イタコン酸 (PVA-IA) 架橋ゲルを調製した。様々な剛性 /弾性 (stiffness) を有する細胞培養基板の調製は、架橋反応時間 (15分、30分、1時間、2時間、4時間、8時間、12時間、24時間48時間) を制御することにより行った。調製された PVA-IA細胞培養基板の剛性 /弾性は、原子間力顕微鏡を用いて計測した。

造血幹細胞(HSC)を架橋ゲル上で培養を行ったところ、フィブロネクチン細胞結合部位

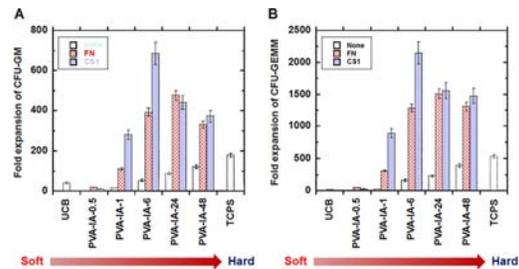


Fig. 3 CFU fold expansion (CFU-GM and CFU-GEMM colonies) observed in freshly isolated HSPCs purified from UCB using the Ficoll-Paque method followed by MACS (UCB), or using HSCs following *ex vivo* expansion in PVA-IA (left, white), PVA-IA-FN (middle column, red), PVA-IA-CS1 (left column, blue), and TCPS dishes at a seeding density of 450 HSCs/dish after 14 days.

である CS-1 を固定化させた比較的弾性の低いゲルにおいて、造血幹細胞の増殖が増大することを見出した。本研究の成果より、造血幹細胞増殖における培養基板の最適な弾性率を始めて世界に報告した(図3)。さらに、胚性幹細胞(WA09)並びに人工多能性幹細胞(iPS)を様々な弾性を有する架橋ゲル上で培養したところ、最適な弾性を有する架橋ゲル上で数十継体もの間多分化能を維持することが明らかとなった(図4)。

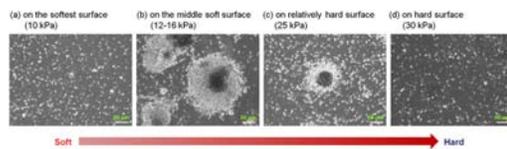


Fig. 4 H9 hESC culture on hydrogels grafted with specific nanosegments after a five-day culture. (a) hESC morphology on the soft hydrogel with a 10 kPa storage modulus, (b) hESC morphology on the middle soft hydrogel with a 12-16 kPa storage modulus, (c) hESC morphology on a relatively hard hydrogel with a 25 kPa storage modulus, and (d) hESC morphology on a hard hydrogel with a 30 kPa storage modulus.

これらの成果は、Chmical Reviews (Impact factor=45.6), Progress in Polymer Science (Impact factor=26.9), Biomaterials (Impact factor=8.3), J. Mater Chem B (Impact factor=6.6), ACS Appl. Mater. Interfaces (Impact factor=5.9), Scientific Reports (Impact factor=5.1), J. Membrane Sci. (Impact factor=4.9)等に発表した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 23 件)

- 1) P. Wang, A. Higuchi*, et al., Pluripotency maintenance of amniotic fluid-derived stem cells cultured on biomaterials with different elasticities and grafted with ECM-derived oligopeptides, *J. Mater. Chem. B.*, 査読有, 3 (2015); DOI:10.1039/c5tb00447k.
- 2) A. Higuchi*, Q.-D. Ling, et al., Reprogramming into induced pluripotent stem cells with aid of small and large molecules without use of genetic materials, *Lab. Invest.*, 査読有, 95, 26-42 (2015). doi:10.1038/labinvest.2014.132
- 3) S. S. Kumar, A. Higuchi* et al., Recent Developments in β -Cell Differentiation of Pluripotent Stem Cells Induced by Small and Large Molecules, *Int. J. Mol. Sci.* 査読有, 2014, 15(12), 23418-23447. doi:10.3390/ijms151223418
- 4) A. Higuchi*, Q.-D. Ling, et al., External stimulus-responsive biomaterials designed for the culture and differentiation of ES, iPS, and adult stem cells, *Prog. Polym. Sci.*, 査読有, 39(9) (2014) 1585-1613. doi:10.1016/j.progpolymsci.2014.05.001
- 5) Shih YJ, Chang Y, Higuchi A, Hemocompatibility of Polyampholyte Copolymers with Well-defined Charge-bias in Human Blood, *Langmuir*, 査読有, 2014, 30(22) 6489-6496. doi: 10.1021/la5015779
- 6) Yu BY, Chang Y, Higuchi A, et al., Surface zwitterionization of titanium for a general bio-inert control of plasma proteins, blood cells, tissue cells, and bacteria, *Langmuir*, 査読有, 2014, 30(25) 7502-7512. doi: 10.1021/la500917s
- 7) Fukawatase Y, Toyoda M, Higuchi A, Umezawa A et al., Ataxia telangiectasia derived iPS cells show preserved x-ray sensitivity and decreased chromosomal instability, *Sci. Rep.*, 査読有, 4 (2014) 5421. doi:10.1038/srep05421
- 8) Jhong JF, Higuchi A, Chang Y, Introducing mixed-charge copolymers as wound dressing biomaterials, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 査読有, 6(12) (2014) 9858-9870. doi: 10.1021/am502382n
- 9) D.-C. Chen, A. Higuchi*, et al., Purification of human adipose-derived stem cells from fat tissues using PLGA/silk screen hybrid membranes, *Biomaterials*, 査読有, 35 (2014) 4278-4287. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.02.004
- 10) A. Higuchi*, Q.-D. Ling, et al., Design of polymeric materials for culturing human pluripotent stem cells: Progress toward feeder-free and xeno-free culturing, *Prog Polym. Sci.*, 査読有, 39(7) (2014) 1348-1374. doi:10.1016/j.progpolymsci.2014.01.002
- 11) T. Kao, A. Higuchi*, et al., Suppression of cancer-initiating cells and selection of adipose-derived stem cells cultured on biomaterials having specific nanosegments, *J. Biomed Mater Res B*, 査読有, 102(3) (2014) 463-476. doi: 10.1002/jbm.b.33024
- 12) A. Venault, Y. Chang, H.S. Yang, P.Y. Lin, Y.J. Shih, A. Higuchi, Surface self-assembled zwitterionization of poly(vinylidene fluoride) microfiltration membranes via hydrophobic-driven coating for improved blood compatibility, *J. Membrane Sci.*, 査読有, 454, 253-263 (2014). doi:10.1016/j.memsci.2013.11.050
- 13) A. Higuchi*, F.-L. Lin, et al., Preparation of induced pluripotent stem cells on dishes grafted on oligopeptide under feeder-free conditions, *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, 査読有, 45 (2014) 295-301.

- doi:10.1016/j.jtice.2013.06.022
- 14) S. S. Kumar, A. Higuchi*, The combined influence of substrate elasticity and surface grafted molecules on the ex vivo expansion of hematopoietic stem and progenitor cells, *Biomaterials*, 査読有, 34 (2013) 7632-7644. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.07.002
 - 15) A. Venault, Y. Chang, A. Higuchi, J. Huang, Biofouling-resistance control of expanded poly(tetrafluoroethylene) membrane via atmospheric plasma-induced surface PEGylation, *J. Membrane Sci.*, 査読有, 439 (2013) 48-57. doi:10.1016/j.memsci.2013.03.041
 - 16) H. H. Lee, A. Higuchi*, et al., Drug-resistant colon cancer cells produce high carcinoembryonic antigen and might not be cancer-initiating cells, *Drug Design, Develop. Therapy*, 7 (2013) 491-502. doi: 10.2147/DDDT.S45890
 - 17) A. Higuchi*, Q.-D. Ling, Physical cues of biomaterials guide stem cell differentiation fate, *Chemical Reviews*, 査読有, 113 (2013) 3297-3328. doi: 10.1021/cr300426x
 - 18) C.-H. Wu, A. Higuchi*, The Isolation and Differentiation of Human Adipose-Derived Stem Cells Using Membrane Filtration, *Biomaterials*, 査読有, 33 (2012) 8228-8239. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.08.027
 - 19) A. Higuchi*, Q.-D. Ling, Biomimetic Cell Culture Proteins as Extracellular Matrices for Stem Cell Differentiation, *Chemical Reviews*, 査読有, 112 (2012) 4507-4540. doi: 10.1021/cr3000169
 - 20) S.H. Chen, Y. Chang*, A. Higuchi, et al., Hemocompatible Control of Sulfobetaine-Grafted Polypropylene Fibrous Membranes in Human Whole Blood via Plasma-Induced Surface Zwitterionization, *Langmuir*, 査読有, 28 (2012) 17733-17742. doi: 10.1021/la3036902
 - 21) A. Venault, Y. Chang, A. Higuchi, et al., PEGylation of anti-biofouling polysulfone membranes via liquid- and vapor-induced phase separation processing, *J. Membr. Sci.*, 査読有, 403 (2012) 47-57. DOI: 10.1016/j.memsci.2012.02.019
 - 22) L.-Y. Chen, A. Higuchi*, et al., Effect of the surface density of nanosegments immobilized on culture dishes on ex vivo expansion of hematopoietic stem and progenitor cells from umbilical cord blood, *Acta Biomaterialia*, 査読有, 8 (2012) 1749-1758. DOI: 10.1016/j.actbio.2012.01.002
 - 23) Y. Chang, A. Higuchi, Bioadhesive Control of Plasma Proteins and Blood Cells from Umbilical Cord Blood onto the Interface Grafted with Zwitterionic Polymer Brushes, *Langmuir*, 査読有, 28 (2012) 4309-4317. DOI: 10.1021/la203504h
- [学会発表] (計 22 件)
1. A. Higuchi, Feeder-free Culture and Reprogramming of Human iPSCs on Dishes Grafted with Cell Adhesion Peptides and Having Different Elasticity, Pan Pacific Symposium on Stem Cells and Cancer Research, 8th PPSSC, April 11-13, 2015, HsinChu, Taiwan (招待講演).
 2. A. Higuchi, Biomaterials for Stem Cell Culture: Effect of Physical Cues of Biomaterials on Proliferation and Differentiation of Stem Cells, International Union of Materials Research Societies International Conference in Asia 2014 (IUMRS-ICA 2014), August 24-30, Fukuoka, Japan, (招待講演)
 3. A. Higuchi, Physical Cues of Biomaterials Guide Stem Cell Fate of Proliferation and Differentiation, 2014 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society-America Meeting (TERMIS-AM 2014), December 13-16, 2014, Washington, DC, USA.
 4. A. Higuchi, Isolation and differentiation of human adipose-derived stem cells from fat tissues using PLGA/silk screen hybrid membranes, 2014 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society-Asia Pacific Meeting (TERMIS-AP 2014), September 24-26, 2014, Daegu, Republic of Korea.
 5. A. Higuchi, Physical Cues of Biomaterials on Proliferation and Differentiation of Stem Cells, 2014 International Symposium of Materials on Regenerative Medicine (ISOMRM 2014), August 27-29, 2014, Taoyuan, Taiwan (招待講演)
 6. A. Higuchi, Biomaterials for Stem Cell Culture and Purification: Effect of Physical Cues of Biomaterials on Proliferation of Stem Cells, National Institute for Materials Science (NIMS) Conference 2014, July 1-3, 2014, Tsukuba, Japan (招待講演)
 7. A. Higuchi, Physical Cues of Biomaterials Guide Stem Cell Fate of Proliferation and Differentiation, 11th Annual Meeting of International Society for Stem Cells (ISSCR), June 18-21, 2014, Banconver, Canada.
 8. A. Higuchi, The Isolation and Differentiation of Human Adipose-Derived Stem Cells Using Membrane Filtration Method, TERMIS-AM 2013 Conference, November 10-13, 2013, Atlanta, USA.
 9. A. Higuchi, The Isolation and Differentiation of Human Adipose-Derived Stem Cells Using Membrane Filtration, The 13th Pacific Polymer Conference, November 17-22, 2013, Kaohsiung, Taiwan (招待講演).

10. A. Higuchi and Li-Yu Chen, Purification and Differentiation of Human Adipose-Derived Stem Cells by Filtration Method through Hybrid Membranes, TERMIS-AP 2013 Annual Conference, October 23-26, 2013, Shanghai & Wuzhen, China.
 11. A. Higuchi, The Isolation and Differentiation of Human Adipose-Derived Stem Cells by Filtration Method through Porous Polymeric Membranes, 8th Annual Translational Stem Cell Research Conference, October 16-17, 2013, New York, USA
 12. A. Higuchi, The Isolation and Differentiation of Human Adipose-Derived Stem Cells Using Membrane Filtration through Porous Polyurethane Membranes, September 8-12, 2013, 246th ACS National Meeting, Indianapolis, IN, USA.
 13. A. Higuchi, Purification and Differentiation of Human Adipose-Derived Stem Cells through Porous Polymeric Membranes by Filtration Method, International Membrane Conference in Taiwan 2013 & 2013 The 5th Cross-strait Senior Conference on Membrane Science & Technology, August 9-10, 2013, Chungli, Taiwan. (招待講演).
 14. A. Higuchi, The isolation and differentiation of human adipose-derived stem cells using membrane filtration, 11th Annual Meeting of International Society for Stem Cells (ISSCR), June 12-15, 2013, Boston, MA, USA.
 15. A. Higuchi, C.H. Wu, The isolation and differentiation of human adipose-derived stem cells using membrane filtration through surface-modified polyurethane membrane, The 12th Asian BioCeramics Symposium (ABC-2012), National Cheng Kung University, Tainan, Taiwan, November 18-21, 2012.
 16. A. Higuchi, Xeno-free preparation of iPS cells on synthetic dishes grafted with vitronectin, The New York Stem Cell Foundation's Seven Annual Translational Stem Cell Research Conference, October 10-11, 2012, New York, USA.
 17. A. Higuchi, Effect of the surface density of nanosegments immobilized on culture dishes on ex vivo expansion of hematopoietic stem and progenitor cells from umbilical cord blood, Innovative Biotechnology for a green world and beyond (IBS2012), Daegu, Korea, September 16-21, 2012 (招待講演).
 18. A. Higuchi, Osteoblast differentiation of amniotic fluid-derived stem cells irradiated with visible light, 3rd TERMIS World Congress 2012, Vienna, Austria, September 5-8, 2012
 19. A. Higuchi, Effect of the Surface Density of Nanosegments Immobilized on Culture Dishes on Ex Vivo Expansion of Hematopoietic Stem and Progenitor Cells from Umbilical Cord Blood, ACS 244th National Meeting, August 19-23, 2012, Philadelphia, USA.
 20. A. Higuchi, Purification and Differentiation of Adipose-derived Stem Cells Separated by A Membrane Filtration Method from Adipose Tissue, The 7th Conference of Aseanian Membrane Society (AMS7), Busan, Korea, July 4-6, 2012
 21. A. Higuchi, Ex vivo expansion of hematopoietic stem and progenitor cells cultured on biomaterials having nanosegments from umbilical cord blood, IUPAC Macro 2012, June 24-29, Virginia, USA
 22. A. Higuchi, Effect of nanosegments on ex vivo expansion of hematopoietic stem and progenitor cells cultured on surface having several nanosegments, 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cells (ISSCR), June 13-16, 2012, Yokohama, Japan
- [図書] (計 0 件)
- [産業財産権]
- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)
- [その他]
- ホームページ等
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
- 樋口亜紺 (HIGUCHI, Akon)
- 理化学研究所・伊藤ナノ医工学研究室・客員研究員
- 研究者番号：30189766