

平成 21 年 6 月 12 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19360061

研究課題名（和文） 生体細胞と無機材料のマイクロ接合と接合界面の解明

研究課題名（英文） Study on Understanding of Micro Adhesion Mechanism at Interfacial Adhesion Layer Between Biological Cells and Solid Surface

研究代表者

古川 勇二（FURUKAWA YUJI）

東京農工大学・大学院技術経営研究科・教授

研究者番号：10087190

研究成果の概要：

本研究は、筋細胞を駆動源とする有機 無機ハイブリッドマイクロ機械システム的设计・製造論確立を目指し、生体細胞と無機材料の接合とその接合界面の解明を行うことを目的とする。ハイブリッドメカニカルマイクロシステムを構築するにあたって、重要な要素である細胞の接着力に着目し、加工した細胞シートの接着力を簡易に測定するシステムを構築した。測定した結果、細胞 細胞間の接着力が細胞 基板間の接着力よりも強いいため、基板からシートを剥離させることが可能であることが分かり、今後の接合界面の設計評価に有効であることが分かった。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	10,800,000	3,240,000	14,040,000
2008年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
総計	15,500,000	4,650,000	20,150,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：機械工学・生産工学・加工学

キーワード：ナノ・マイクロ加工

## 1. 研究開始当初の背景

申請者は、これまでマイクロ・ナノ加工技術を活用して MEMS 駆動源（マイクロポンプやバルブ）またマイクロバイオ燃料電池を研究開発してきた。その基本は、ガラスやシリコン基板上にリソグラフ加工するもので、結果として得られるマイクロ駆動源を生体内で利用する場合、生体親和性に欠ける場合が多い。エネルギーを供給しなければならぬため、生体系に別の影響をもたらす。などが問題となっている。これを克服するために、生体の運動機能を直接活用する研究が進められ、例えば細菌の鞭毛を利用した、いわゆる生体分子モーターが開発されている。これらはアデノシン三リン酸(ATP)の化学エネルギーを力学エネルギーに変換する高効率な素子であるが、発生力は数 pN と小さく、

マイクロ空間における汎用的な物質輸送や流体駆動に利用するには不十分である。

このような観点から既に申請者は、上記の2つの中間に位置する第三の方式として、生体の筋肉を直接駆動源とする研究を進めてきたが、生体筋肉を分離・培養し、無機材料部品と接合して駆動源化する上での基本原理が不明のため、今後の開発に困難をきたしている。

これらの技術を用いて、汎用的なデバイスを作製していくことを考えた場合、その指針となる設計論が必要である。既に、筋細胞1個あたりの発生力の計測、および高分子材料に対する骨芽細胞の剪断剥離力についての報告があるが、生体細胞と無機材料との接合に関する研究は従来全く見当たらない状況にある。

## 2. 研究の目的

本研究では、筋細胞を用いた有機 無機ハイブリッドマイクロ機械システムの設計・製造論確立のため、生体細胞と無機材料のマイクロ接合と接合界面の解明をおこなう。そのため、具体的に以下の項目を目的とする。

(1) 筋細胞と無機材料部品との接合強度の計測方法を確立する。

(2) ナノレベルでの無機材料表面性状が、筋細胞との接合状態に及ぼす影響を実験的に評価する。

(3) 筋細胞と無機材料接合面をナノオーダーで観察し、その接合界面の分子レベルにおける状態と細胞接着強度との関係を解明する。

(4) これらを総合して、筋細胞と無機材料部品間との適切な接合方法と予測される接合力を体系化し、バイオ MEMS の界面設計の基礎を構築する。

## 3. 研究の方法

細胞の接着力を測定する研究は多く行われており、水流や遠心力を利用した方法、マイクロサイズのピペットを利用した方法、AFMを使用した測定、さらには超音波による測定などが挙げられる。しかしながら、これらの方法は観察対象である基質条件や、観察条件に至るまでの培養期間における制限がある。そのため現状では、それぞれの結果を比較することが難しく工学的知見から利用することは難しい。そこで、これらの条件を全て包括した標準規格を目指した測定システムを提案した。細胞シート接着力計測システムの構築と細胞シート接着力評価の際に必要なシート回収のためのマイクロツールの開発をおこなった。

## 4. 研究成果

培養基板および基板の微細形状が筋細胞シートに与える影響の評価実験および、筋細胞シート接着力計測システム開発のための基礎実験をおこない、下記の結果を得た。

(1) 筋芽細胞を、ラット骨格筋より摘出し、プラスチック、シリコンウェハー、ガラス、カーボンなどさまざまな基板上で培養した。その結果、いずれの基板においても、適切な条件下において、筋芽細胞が収縮能を持つ筋管細胞へと分化することを確認した。また、培養基板に、微細形状をパターンングすることにより、微細形状に沿って、細胞の配向することを確認した。さらに、F-actin をファロイジンで蛍光染色することにより、細胞骨格の配向も確認した。

(2) 細胞シートを培養した基板から、力学的負荷により引き剥がすことができるのかどうか確認をおこなった。ピンセットで細胞

シート引き剥がし試験をおこなったところ、細胞 細胞間の接着力が、細胞 基板間の接着力よりも強いため、基板からシートを剥離させることが可能であることが分かった。また、細胞シート剥離のために、パラフィンやシアノアクリレート系の接着剤による細胞シートとフォーストランデューサの接着方法の検討をおこなった。

(3) バルクレベルでの細胞の接着力の計測方法を確立し、評価方法について検討を行った。特に、引き剥がす角度のとの依存性も評価するため、水平方向から鉛直方向まで、さまざまな角度から細胞シート引き剥がし試験がおこなえるシステムを微小フォーストランデューサを用いて構築した。

(4) 細胞シートを把持するための器具の設計試作を行い、構造的に単純で重量、サイズともに非常に小さいアンカー構造体を作成し、実験により評価を行い、把持及び計測に成功した。

## 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 5 件)

Y. Akiyama, K. Iwabuchi, Y. Furukawa, and K. Morishima, "Long-term and room temperature operable bio-actuator powered by insect dorsal vessel tissue", Lab Chip, 9, p.140-144, 2009, 査読有

佐久間淳, 他 3 名, "低密度多孔質材の負荷経路依存性評価のための等 2 軸予ひずみ条件における圧縮試験", 日本機械学会論文集, 74 巻, p.982-987, 2008, 査読有

秋山佳丈, 寺田玲子, 岩淵喜久男, 古川勇二, 森島圭祐, "昆虫背脈管を用いた長期間室温で駆動するバイオアクチュエータの創製", 日本ロボット学会誌, Vol.26, No.6, p.667-673, 2008, 査読有

星野隆行, 森島圭祐, "メカノバイオニックツールの構築—骨格筋細胞による人工微小骨格の駆動実験—", 日本ロボット学会論文誌, Vol.26, No.6, p.651-657, 2008, 査読有

Y. Akiyama, K. Iwabuchi, Y. Furukawa, and K. Morishima, "Culture of Insect Cells Contracting Spontaneously toward an Environmentally Robust Hybrid Robotic System", Journal of Biotechnology, 133, p.261-266, 2008, 査読有

[学会発表](計 31 件)

佐久間淳, 他 3 名, "低密度多孔質材の動的圧縮変形挙動の評価", 日本機械学会関東支部講演会, 2009 年 3 月 6 日, 水

戸市

佐久間淳, 他 4 名, “軟組織に対する低侵襲計測のための押込特性評価”, 日本機械学会第 21 回バイオエンジニアリング講演会, 2009 年 1 月 23 日, 札幌市  
佐久間淳, 他 3 名, “筋駆動の構成モデル化と物性同定”, 日本機械学会第 21 回バイオエンジニアリング講演会, 2009 年 1 月 23 日, 札幌市

Takayuki Hoshino, Keisuke Morishima, “Cell-Driven Self-Assembly of Bio-Hybrid Device”, (細胞を駆動力としたバイオハイブリッド素子の自己組織的構築), The 4th LSW Symposium on Soft & Wet Matter, Symposium on Hierarchy in Soft and Wet Matter Learning from Function Emergence in Biological System-, 2009 年 1 月 9 日, 北海道大学, 北海道, 査読有

櫃本信, 伊原正, 森島圭祐, “高分子アクチュエータを用いた機械刺激による HUVEC の形態観察及び評価実験”, 第 9 回計測自動制御学会 (SICE) システムインテグレーション部門講演会, 2008 年 12 月 5 日, 長良川国際会議場, 岐阜  
黒田啓史, 星野隆行, 丸尾昭二, 森島圭祐, “マルチ光トラップによる筋細胞を用いたマイクロバイオアクチュエータの組立”, 第 9 回計測自動制御学会 (SICE) システムインテグレーション部門講演会, 2008 年 12 月 5 日, 長良川国際会議場, 岐阜

Atsushi Sakuma, 他 3 名, “Compression Behavior of Low-Density Porous Materials and its Constitutive Representation using Volume Fraction”, Asian Conference on Mechanics of Functional Materials and Structures, 2008 年 10 月 31 日, 島根  
佐久間淳, 他 4 名, “C 低密度多孔質材の圧縮過程における粘塑性挙動の評価”, 日本学会材料研究連合講演会, 2008 年 10 月 22 日, 京都市

Keisuke Morishima, Yoshitake Akiyama, Hiroshi Horiguchi, Tomoji Ishisaka, and Hiroshi Sato, “Minituarized Mechano-Bionic Systems with Muscle Powered Bioactuator”, The Proceedings of The second IEEE/RAS-EMBS International Conference on Biomedical Robotics and Biomechanics 2008 (BioRob 2008) 2008.10.19, Arizona, U.S.A

Yoshitake Akiyama, Kikuo Iwabuchi, Yuji Furukawa, and Keisuke Morishima, “Biological Contractile Regulation of Micropillar Actuator Driven by Insect Dorsal Vessel Tissue”, The Proceedings

of The second IEEE/RAS-EMBS International Conference on Biomedical Robotics and Biomechanics 2008 (BioRob 2008), 2008.10.19, Arizona, U.S.A

Takayuki Hoshino, Tomohiro Konno, Kazuhiko Ishihara, Keisuke Morishima, “A Nano-Needle Interface Self-Assembled by Using Cell Migration for Recording Intracellular Activity: Nano-Needle Durability”, The Proceedings of The second IEEE/RAS-EMBS International Conference on Biomedical Robotics and Biomechanics 2008 (BioRob 2008), 2008.10.19, Arizona, U.S.A

Takayuki Hoshino, Yuichi Hori, Tomohiro Konno, Kazuhiro Ishihara, and Keisuke Morishima, “Cell Driven Nano Locomotion”, The Proceedings of Micro TAS 2008 Conference (Micro TAS 2008), 2008.10.12, California, U.S.A

Yoshitake Akiyama, Kikuo Iwabuchi, Yuji Furukawa, and Keisuke Morishima, “Fabrication and Evaluation of Temperature-Tolerant Bioactuator Driven by Insect Heart Cells”, The Proceedings of Micro TAS 2008 Conference (Micro TAS 2008), 2008.10.12, California, U.S.A

櫃本信, 伊藤正, 森島圭祐, “IPMC を用いた小型細胞伸縮ソールの開発”, 第 26 回日本ロボット学会学術講演会, 2008 年 9 月 10 日, 神戸

星野隆行, 金野智浩, 石原一彦, 森島圭祐, “移動運動により細胞内に導入されるナノインターフェース”, 第 26 回日本ロボット学会学術講演会, 2008 年 9 月 9 日, 神戸

秋山佳丈, 岩淵喜久男, 古川勇二, 森島圭祐, “昆虫背脈管組織を用いた自律移動型マイクロロボットの実証”, 第 26 回日本ロボット学会学術講演会, 2008 年 9 月 9 日, 神戸

堀口裕史, 秋山佳丈, 森島圭祐, “心筋細胞を駆動源とするマイクロアクチュエータの創成 - 心筋細胞ゲルの作製とその薬剤応答 -”, 第 26 回日本ロボット学会学術講演会, 2008 年 9 月 9 日, 神戸

佐久間唯, 秋山佳丈, 岩淵喜久男, 秋山義勝, 大和雅之, 岡野光夫, 森島圭祐, “昆虫細胞シート構築に向けた温度応答性培養表面の作製とその評価”, 第 26 回日本ロボット学会学術講演会, 2008 年 9 月 9 日, 神戸

上杉薫, 秋山佳丈, 星野隆行, 古川勇二, 森島圭祐, “細胞シート接着力測定シス

- テムの開発”, 第 26 回日本ロボット学会学術講演会, 2008 年 9 月 9 日, 神戸  
 富山優太, 星野隆行, 秋山佳丈, 岩淵喜久男, 森島圭祐, “ 空气中駆動を目指した昆虫背脈管組織を駆動源とするバイオアクチュエータに関する研究”, 第 26 回日本ロボット学会学術講演会, 2008 年 9 月 9 日, 神戸
- 21 小暮典沙, 秋山佳丈, 星野隆行, 森島圭祐, “ 骨格筋を用いたバイオマイクロポンプの作製”, 第 26 回日本ロボット学会学術講演会, 2008 年 9 月 9 日, 神戸
- 22 秋山佳丈, 岩淵喜久男, 古川勇二, 森島圭祐, “ 背脈管組織の自律的収縮を利用した独立移動型マイクロデバイスの実証”, 日本比較生理生化学会, 第 30 回大会予稿集, 2008 年 7 月 12 日, 北海道大学, 北海道
- 23 星野隆行, 森島圭祐, “ 細胞の移動運動によって構築するナノデバイス”, “ Construction of nano scale device by using cell migration force”, 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 2008(ROBOMECH2008)2008 年 6 月 5 日, 長野
- 24 星野隆行, 堀祐一, 森島圭祐, “ 細胞の移動性を利用したマイクロセルフアセンブリに関する研究”, “ Study on Micro Self Assembly using Cell Migration”, 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 2008(ROBOMECH2008)2008 年 6 月 5 日, 長野
- 25 秋山佳丈, 坂田昌哉, 岩淵喜久男, 森島圭祐, “ 昆虫背脈管組織を用いたチューブ型マイクロポンプの創製に関する研究”, “ Study on creation of tube-type micropump using insect dorsal vessel tissue”, 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 2008(ROBOMECH2008)2008 年 6 月 5 日, 長野
- 26 堀口裕史, 秋山佳丈, 森島圭祐, “ 心筋細胞を用いたマイクロバイオアクチュエータの駆動源の開発”, “ Development of micro driving source for Micro Bio-actuator using cardiomyocyte”, 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 2008(ROBOMECH2008)2008 年 6 月 5 日, 長野
- 27 佐久間唯, 秋山佳丈, 岩淵喜久男, 秋山義勝, 大和雅之, 岡野光夫, 森島圭祐, “ バイオアクチュエータの創成に向けた昆虫細胞の再構築に関する研究”, “ Study on Reconstruction of Insect Cell for Bio-Actuator”, 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 2008(ROBOMECH2008)2008 年 6 月 5 日, 長野
- 野
- 28 櫃本信, 伊原正, 森島圭祐, “ イオン導電性高分子 - 貴金属接合体 (IPMC)を用いた小さな細胞伸縮システムの開発”, “ Development of Miniaturized Cell Stretching System using Ionic Polymer-Metal Composite (IPMC)”, 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 2008(ROBOMECH2008)2008 年 6 月 5 日, 長野
- 29 秋山佳丈, 岩淵喜久男, 古川勇二, 森島圭祐, “ 昆虫背脈管組織を用いたバイオアクチュエータの温度依存性の評価”, “ Evaluation of temperature influence on a bioactuator using insect dorsal vessel tissue”, 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 2008(ROBOMECH2008)2008 年 6 月 5 日, 長野
- 30 星野隆行, 金野智浩, 石原一彦, 森島圭祐, “ 集束イオンビームにより作製したナノピラーの細胞自己刺入と細胞内活動計測デバイスへの応用”, 第 17 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会, 2008 年 5 月 20 日, 福岡
- 31 秋山佳丈, 岩淵喜久男, 古川勇二, 森島圭祐, “ マイクロ流体デバイスへの応用を目指した長期間室温で自律拍動する昆虫心臓組織の制御法検討”第 17 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会, 2008 年 5 月 20 日, 福岡
6. 研究組織
- (1)研究代表者  
 古川 勇二 (FURUKAWA YUJI)  
 東京農工大学・大学院技術経営研究科・教授  
 研究者番号: 10087190
- (2)研究分担者  
 森島 圭祐 (MORISHIMA KEISUKE)  
 東京農工大学・大学院共生科学技術研究院・准教授  
 研究者番号: 60359114  
 佐久間 淳 (SAKUMA ATSUSHI)  
 東京農工大学・大学院共生科学技術研究院・准教授  
 研究者番号: 60274180  
 廣田 輝直 (HIROTA TERUNAO)  
 東京農工大学・大学院共生科学技術研究院・講師  
 研究者番号: 60372421
- (3)連携研究者  
 なし