

つくば医工連携フォーラム 2022

Tsukuba Biomedical Engineering Forum 2022

予稿集 (Abstracts)

未来につなげる医工連携イノベーション

2022年1月21日(金) 9:30~17:30 (Jan. 21st, 2022)

オンライン開催 Online

主催：つくば医工連携フォーラム、つくばバイオマテリアル医工研究会

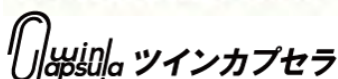
いばらき成長産業振興協議会、筑波大学つくば臨床医学研究開発機構(T-CReDO)

共催：国立研究開発法人物質・材料研究機構、国立研究開発法人産業技術総合研究所

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構、茨城県

後援：つくば市、つくばグローバル・イノベーション推進機構

NPO法人 医工連携推進機構、医療機器レギュラトリーサイエンス研究会



企業・団体広告(申込順)

/Advertisement (in order of application)



New 3D Culture Substrate

MatriMix

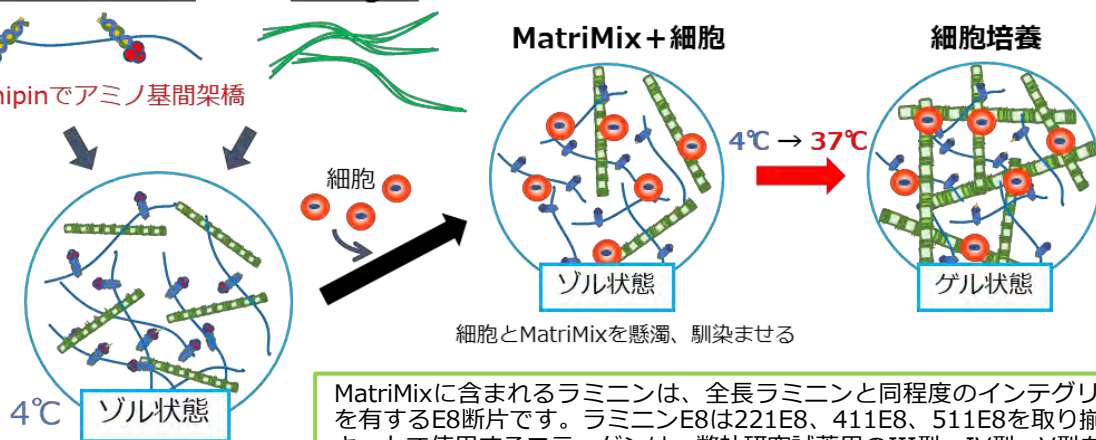
MatriMixを用いた三次元細胞培養

MatriMixは、コラーゲンとラミニンE8、ヒアルロン酸から構成される新たな三次元培養用基材です。コラーゲンとラミニンE8の種類や組み合わせ、濃度を変えることで、様々な細胞に適した細胞周囲の微細環境を提供して組織形成を促します。

Laminin E8/ Hyaluronan架橋物

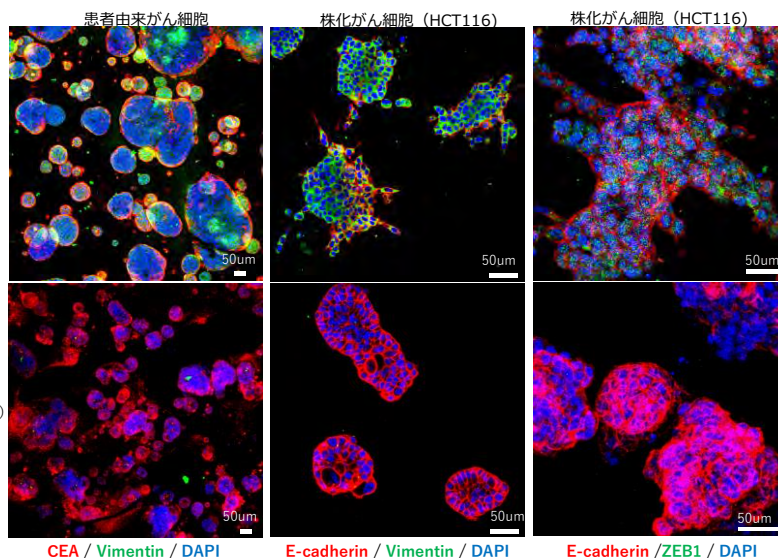
Genipinでアミノ基間架橋

Collagen



MatriMixに含まれるラミニンは、全長ラミニンと同程度のインテグリン結合活性を有するE8断片です。ラミニンE8は221E8、411E8、511E8を取り揃えています。キットで使用するコラーゲンは、弊社研究試薬用のIII型、IV型、V型を混合するカスタマイズも可能です。

■大腸がん細胞のオルガノイド形成誘導



患者由来大腸がん細胞、ヒト株化がん細胞を7日間、各基材で三次元培養した。

MatriMixで形成された患者由来オルガノイドは大腸がんマーカーであるCEA抗体染色陽性であるだけでなく、EMTマーカーであるVimentin抗体でも陽性観察された。また、MatriMixで形成されたオルガノイドは細胞間接着マーカーであるE-cadherin抗体で染色観察されると共に、集団で転移・浸潤する細胞で発現することが知られているZEB-1抗体染色でも陽性観察される。

その他、マウス発生期臓器由来細胞を用いたオルガノイド培養なども可能です。



株式会社ニッピ バイオマトリックス研究所 / バイオ・ケミカル事業部

〒120-8601 東京都足立区千住緑町 1-1-1 電話 0297-71-3045

問い合わせ先 MatriMix@nippi-inc.co.jp

サンプル依頼 <https://forms.gle/VQBjAxDstHP1j4j58> (QRコードからもアクセス可能)



TEIJIN

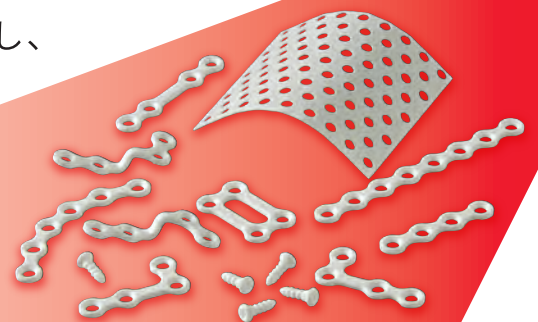
Human Chemistry, Human Solutions



Quality of Life

生きる喜びを支える技術

帝人メディカルテクノロジーは、
独自の高分子加工技術を駆使して製品を開発、販売し、
広域な医療分野に貢献します。



帝人メディカルテクノロジー株式会社

研究開発オーダーメイドソフトウェア開発

創業約40年の実績と信頼！

イメージ段階からお任せください！

- 実験・シミュレーション支援、研究成果のデータ処理・解析・可視化など
- 仕様が固まってもイメージ段階からご相談に応じます

保有技術、実績

- 患者位置合わせ、患者QA管理、DICOMデータ処理・コンバータ作成など
- お客様のご要望・対象システムの要件に合わせて最適な技術をご提案

DICOM-RT、DICOMへの弊社の取り組み

DICOMを活用したトータルなアプリケーション開発も、部分的なカスタマイズも、弊社にお任せください！

DICOM規格で新しいシステムを開発したい

DICOMデータをカスタマイズし可視化したい

DICOM通信の際にこんなことができないか

シミュレーションの計算結果をDICOM規格にコンバートして更に可視化や2次利用をしたい

各種医療機器データとDICOM/DICOM-RTとの相互コンバータを作成致します！

例) csv, PHITS, EGSnrc, etc.

DICOM-RT



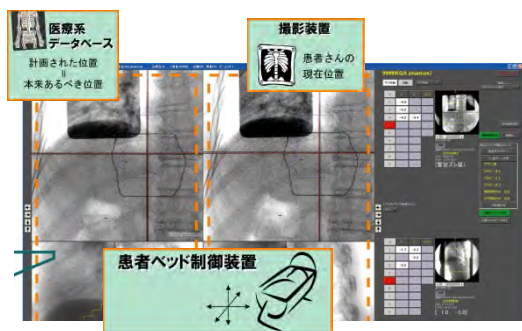
可視化も
お任せ下さい！

過去資産をDICOM規格にコンバートするご相談も承ります！

過去の医療画像等

DICOM-RT

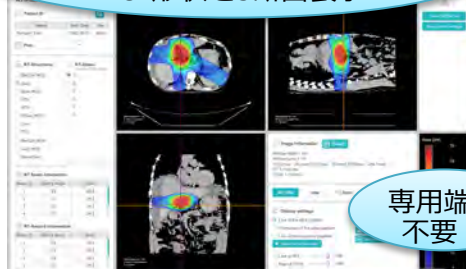
開発事例



患者位置合わせ

例) 放射線治療システム

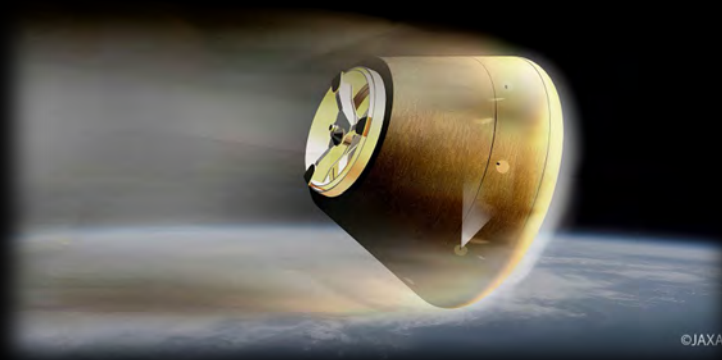
患者CT画像・線量分布・ROI形状を3断面表示



専用端末
不要！

放射線治療計画データをブラウザで閲覧

例) 放射線治療支援システム



国際宇宙ステーションから
宇宙実験サンプルの回収に成功した
JAXA の大気圏再突入回収カプセル

©JAXA

再突入カプセルの “超”断熱保冷技術を 地上へ 社会へ

株式会社ツインカプセラは
JAXA 認定ベンチャーとして
その超高性能断熱保冷・保温容器の
開発成果を社会実装し



高度な温度管理が鍵となる
様々な分野の課題解決に貢献します

共同実証実験
パートナー募集中

Uwina ツインカプセラ



305-0047 茨城県つくば市千現 2-1-6
株式会社ツインカプセラ
<https://twincapsula.co.jp/>

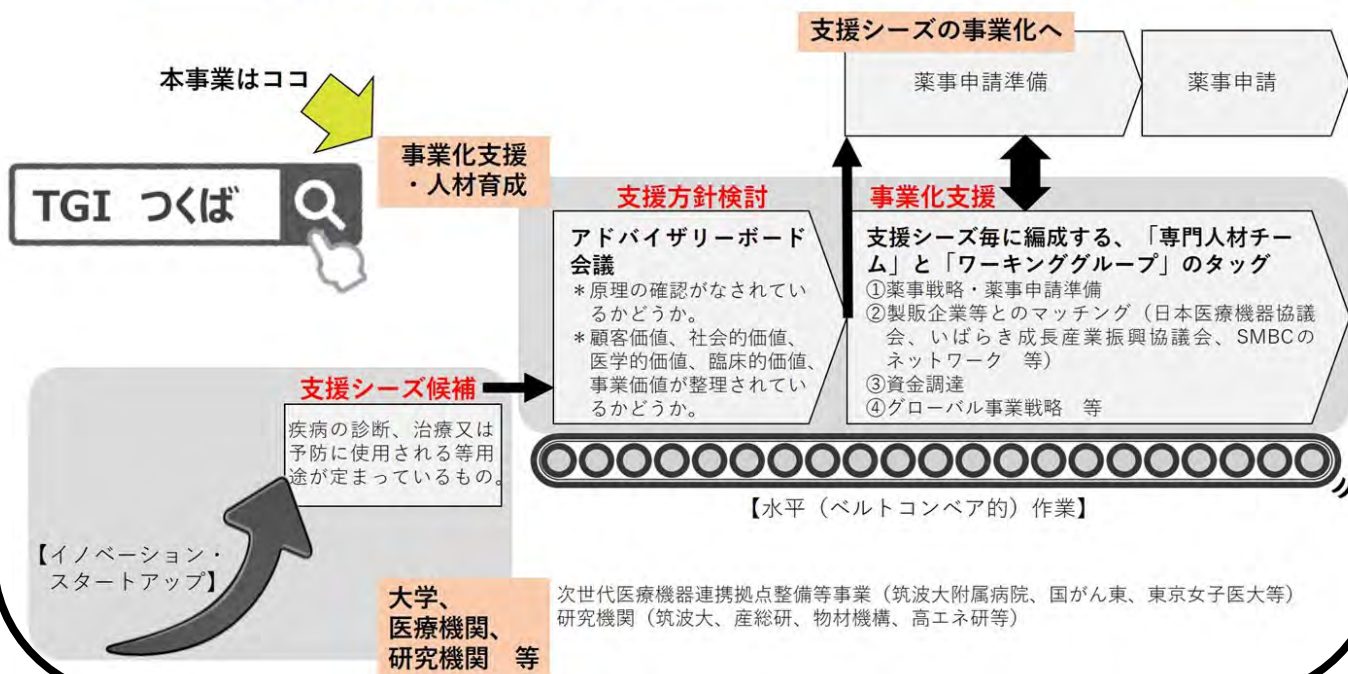


断熱保冷容器
製品イメージ

“医療機器事業化エコシステムの基盤・支援体制の整備” 一般社団法人つくばグローバル・イノベーション推進機構(TGI)

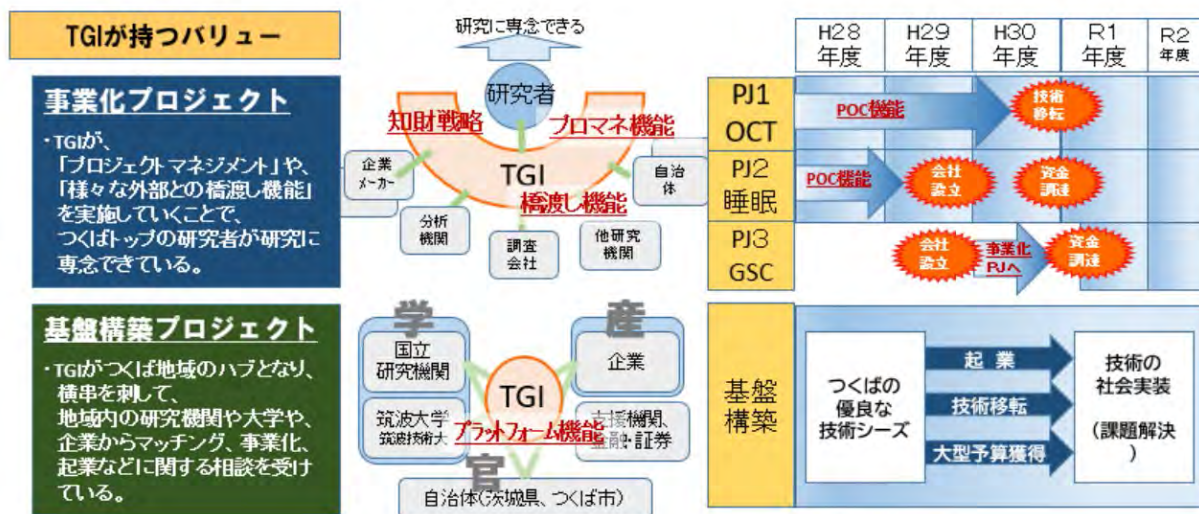
R3～ AMED医工連携イノベーション推進事業(地域連携拠点自立化推進事業)

本地域連携拠点の広域・グローバル事業化支援エコシステム



医療機器事業化支援 TGI支援機能追加

文部科学省補助事業(地域イノベーション・エコシステム形成プログラム) (医療・先端技術シーズを用いた超スマート社会の創生事業)



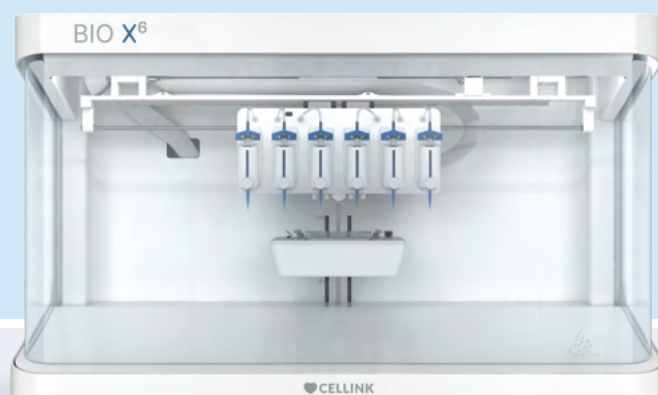
バイオ3Dプリンタ BIO X シリーズ

CELLINK 
A BICO COMPANY

-バイオプリンティングの限界を超える-
あらゆるライフサイエンス研究開発のために生まれた業界スタンダード

BIO X シリーズの利点

- 最高の汎用性を生む交換式プリントヘッド
- 優れた温度調節機構であらゆるマテリアルに対応
- 独自のクリーンチャンバー技術で滅菌環境を実現
- 自動キャリブレーションによるストレスフリーの作業
- ウェルプレートへの連続プリントや同軸プリンティング (coaxial printing) など、多様なアプリケーション機能を実装



CELLINK株式会社

japan@cellink.com

京都市上京区河原町通今出川下る梶井町448-5

クリエイションコア京都御車302

nano-SHAp

[焼成ハイドロキシアパタイトナノ粒子]

世界で唯一の技術から生まれたハイドロキシアパタイトナノ粒子

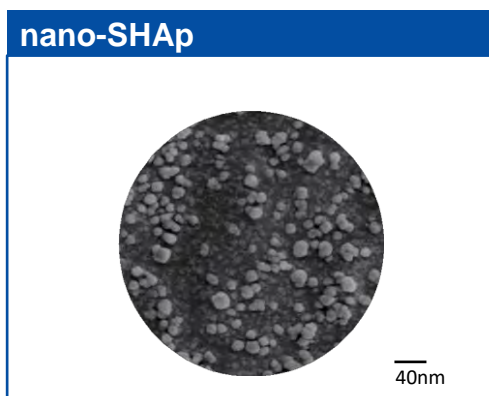
nano-SHAp は、ハイドロキシアパタイトが有する優れた特徴*をそのままに、世界で唯一の技術により開発されたナノ粒子です。(*高い生体親和性、タンパク質・脂質・糖類などに対する高い吸着性)

【nano-SHAp の優れた特長】

- ナノスケールの焼成体
- 各種目的に合わせ選択可能な粒径・形状

焼成法による違い

ハイドロキシアパタイトは焼成により結晶性は向上しますが、一般的な焼成法では下記写真のように、原料粒子同士が融着し、元々の形状から著しく変化した大きな塊になってしまいます。ソフセラ独自の技術でアモルファスHApを焼成すると、原料粒子同士が融着せず、そのままの形状、大きさを保ったナノ粒子が生成します。しかも、結晶性は従来の焼成法と比べても遜色ありません。



提供実績例(試薬・サンプルとしての提供)

品名	形状	平均粒径	容量
nano-SHAp	球状	40nm	1g～
	ロッド状	150nm	1g～

仕様、量などご要望は下記へご連絡ください

【使用上のご注意】

- 本製品は試薬として開発・製造されたものです。試験研究用以外には使用しないでください。
- 特殊用途に使用される場合は、貴社にてその安全性を事前にご確認のうえご使用ください。
- 試薬やサンプルは人体への埋植用途には使用しないでください。
- 取り扱い上の詳細は、製品データシートをご参照ください。



<https://sofsera.co.jp>

株式会社ソフセラ R&Dセンター

〒567-0085

大阪府茨木市彩都あさぎ7-7-20

彩都バイオイノベーションセンター102

TEL:072-641-8669 FAX:072-646-8667

info@sofsera.co.jp

1台で何役も。進化する顕微鏡。

Overlay

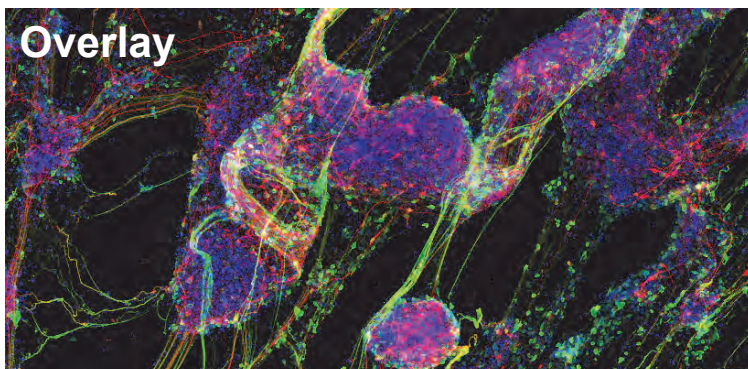
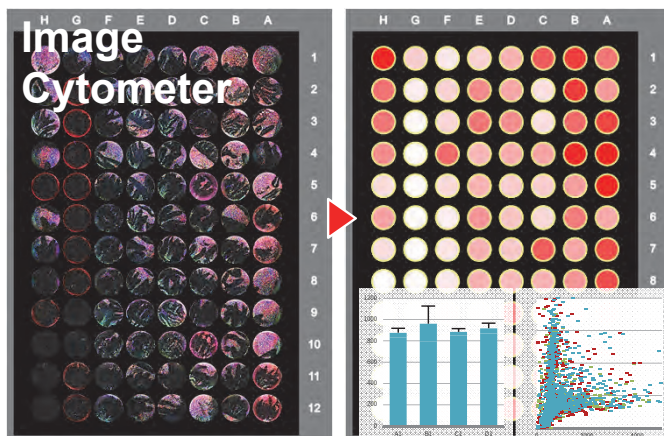


Image
Cytometer



Optical Sectioning

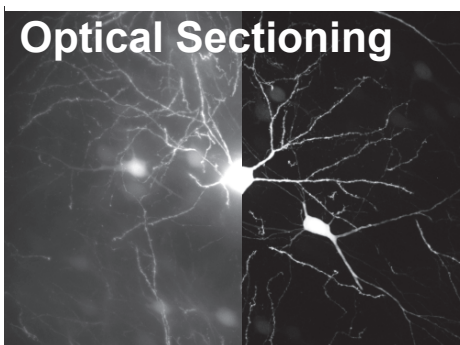
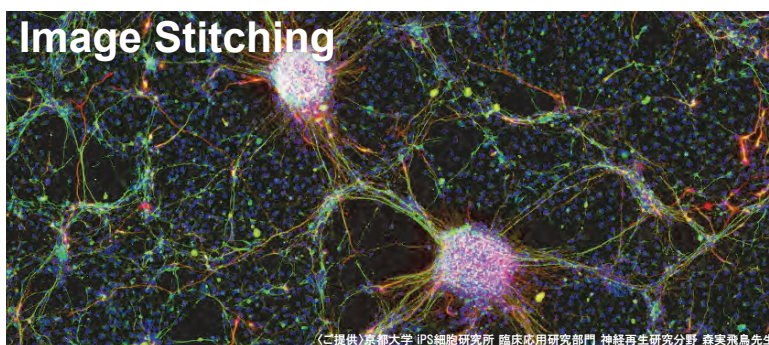
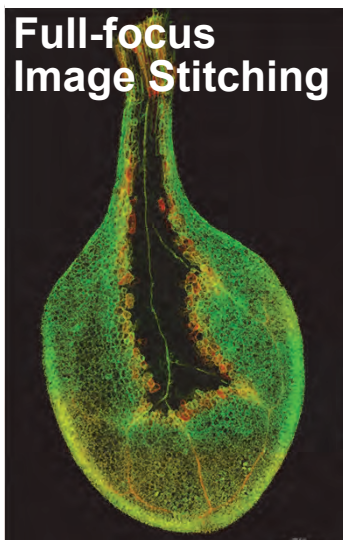


Image Stitching

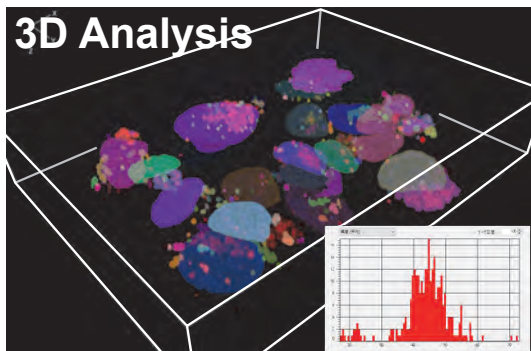


（ご提供）京都大学 iPS細胞研究所 臨床応用研究部門 神経再生研究分野 森実飛鳥先生

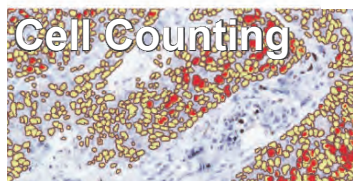
Full-focus
Image Stitching



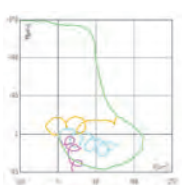
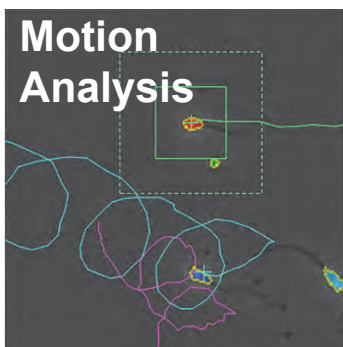
3D Analysis



Cell Counting



Motion
Analysis



データ撮りの
ご依頼は
こちらまで

www.keymsp.jp/BZ



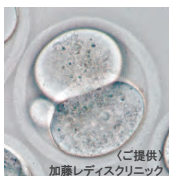
株式会社 キーエンス

本社・研究所／マイクロスコプ事業部
〒533-8555 大阪市東淀川区東中島1-3-14 Tel 06-6379-1141

顕微鏡
お客様相談窓口

フリーダイヤル 0120-739-007

Copyright© 2018 KEYENCE CORPORATION. All rights reserved.



（ご提供）
加藤レディクリニック

つくば医工連携フォーラム2022

未来につなげる医工連携イノベーション

Tsukuba Biomedical Engineering Forum 2022

予稿集(Abstracts)

2022年1月21日(金) 9:30~17:30 (Jan. 21st, 2022)

オンライン開催 Online

主催：つくば医工連携フォーラム、つくばバイオマテリアル医工研究会

いばらき成長産業振興協議会、筑波大学つくば臨床医学研究開発機構(T-CReDO)

共催：国立研究開発法人物質・材料研究機構、国立研究開発法人産業技術総合研究所

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構、茨城県

後援：つくば市、つくばグローバル・イノベーション推進機構

NPO法人 医工連携推進機構、医療機器レギュラトリーサイエンス研究会

目次

開催にあたって

大会概要

大会組織

口頭発表要領

Guidelines for Oral Presentations

ポスター発表要領

Guidelines for Poster Presentations

企業・団体プレゼンテーション要領

タイムテーブル

Timetable

プログラム

特別講演セッション/Plenary Lecture Session

招待講演セッション 1(産業技術総合研究所)/Invited Lecture Session 1 (AIST Session)

招待講演セッション 2(物質・材料研究機構)/Invited Lecture Session 2 (NIMS Session)

招待講演セッション 3(農業・食品産業技術総合研究機構)/Invited Lecture Session 3 (NARO Session)

招待講演セッション 4(筑波大学つくば臨床医学研究開発機構)/Invited Lecture Session 4 (T-CReDO Session)

臨床ニーズ紹介セッション/Clinical Needs Introduction Session

一般口頭発表/General Oral Presentation Session

若手口頭発表 1/Young Researcher Oral Presentation Session 1

若手口頭発表 2/Young Researcher Oral Presentation Session 2

若手口頭発表 3/Young Researcher Oral Presentation Session 3

若手口頭発表 4/Young Researcher Oral Presentation Session 4

若手口頭発表 5/Young Researcher Oral Presentation Session 5

若手口頭発表 6/Young Researcher Oral Presentation Session 6

企業展示/ポスター発表セッション/Exhibition and Poster Presentation Session

つくば医工連携フォーラム 2022 の開催にあたって

未来につなげる医工連携イノベーション

このたびは、「つくば医工連携フォーラム 2022」にご参加いただき、まことにありがとうございます。つくば医工連携フォーラムは、産業技術総合研究所、農業・食品産業技術総合研究機構、筑波大学附属病院、物質・材料研究機構が持ち回りで担当し、2009 年から 2020 年まで毎年開催されてきました。現在もなおコロナ禍の最中ではありますが、国内外の学会や研究会でオンライン開催形式が定着してきた状況を鑑み、本フォーラムをオンラインで開催するに至りました。

今大会のメインテーマは「未来につなげる医工連携イノベーション」です。世界各地で新型コロナウイルスが猛威をふるい、国内でも外出自粛やリモートワークの推奨など私たちの生活様式は一変しました。これらは、医工連携イノベーションを推進する上でも大きな試練となりました。一方で、PCR 装置や ECMO（体外式膜型人工肺）などが新聞やインターネットで何度も取り上げられ、医療機器に対する認識が社会に広く浸透しました。このような状況にあつて、本フォーラムのメインテーマには、「人々の命と健康を守る新たなイノベーションを生み出すには、医工連携を絶やすことなく、未来へとつなげていくべき」という決意が込められています。幸い、つくば地区とその周辺には、多くの医療機関、大学・公的研究機関、企業、そしてこれらの連携をサポートするシステムが集結しており、医療イノベーションを生み出す豊かな土壌が育っています。その土壌を絶やさないためにも、今回のフォーラムをぜひ成功させることを願ってやみません。

特別講演では、筑波大学医学医療系感染症内科学教授の鈴木広道先生に「つくばでの COVID-19 体外診断薬開発・評価における産学連携の成果と新たなイノベーションに向けた模索について」、国立感染症研究所寄生動物部室長の案浦健先生に「マラリア研究と医工連携イノベーション：オルガネラ制御を中心とした肝内型マラリア原虫の休眠・増殖分子基盤」と題するご講演をいただきます。臨床ニーズ紹介のコーナーは、医療現場のニーズを知る機会が少ない研究者・技術者にとっては、ヒントを得る貴重な機会になるでしょう。各研究機関の特色を生かした招待講演セッションも行います。また、一般、ポスドク、学生の皆様による口頭およびポスターによる研究発表が行われます。特に、ポスドク、学生の皆様は、「つくば医工連携フォーラム 2022 研究奨励賞」の選考対象になりますので、奮って発表していただきたいと思います。医工連携イノベーションの推進にとって、企業・団体の参画は不可欠ですので、口頭形式と展示形式を併用したプレゼンテーションも実施いたします。

医工連携イノベーションの推進の担い手である皆様、医工連携イノベーションに関心をもつ方々に多数ご参加いただき、活発な議論が展開されることを期待しております。

2022 年 1 月 21 日

つくば医工連携フォーラム 2022

大会長 陳 国平

国立研究開発法人物質・材料研究機構

機能性材料研究拠点

大会概要

大会名	つくば医工連携フォーラム2022
開催日時	2022年1月21日(金)、9:30～17:30
会場	オンライン
大会長	陳 国平 (物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点 生体組織再生グループリーダー)
メインテーマ	未来につなげる医工連携イノベーション
主催	つくば医工連携フォーラム つくばバイオマテリアル医工学研究会 いばらき成長産業振興協議会 筑波大学つくば臨床医学研究開発機構(T-CReDO)
共催	国立研究開発法人物質・材料研究機構 国立研究開発法人産業技術総合研究所 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 茨城県
後援	つくば市 つくばグローバル・イノベーション推進機構 NPO法人 医工連携推進機構 医療機器レギュラトリーサイエンス研究会
運営事務局	物質・材料研究機構機能性材料研究拠点 生体組織再生材料グループ内 〒305-0044 茨城県つくば市並木1-1 E-mail: meforum2022@nims.go.jp

大会組織（各組織50音順）

	役職	氏名	所属機関・部署
名誉会員			
1	名誉会員	立石 哲也	国立研究開発法人産業技術総合研究所 名誉リサーチャー 医工連携推進機構 国立研究開発法人 物質・材料研究機構
2	名誉会員	本間 一弘	国立研究開発法人産業技術総合研究所 名誉リサーチャー 株式会社三菱総合研究所ヘルスケア・ウェルネス事業本部
筑波大学つくば臨床医学研究開発機構（T-CReDO）			
3	副会長 （幹事）	荒川 義弘	国立大学法人筑波大学 つくば臨床医学研究開発機構（T-CReDO）
4	幹事	小柳 智義	国立大学法人筑波大学 つくば臨床医学研究開発機構（T-CReDO）
5	幹事	鶴嶋 英夫	国立大学法人筑波大学 つくば臨床医学研究開発機構（T-CReDO）
6	幹事	橋本 幸一	国立大学法人筑波大学 つくば臨床医学研究開発機構（T-CReDO）
7	幹事	山田 雅信	国立大学法人筑波大学 つくば臨床医学研究開発機構（T-CReDO）
産業技術総合研究所			
8	幹事	小関 義彦	国立研究開発法人産業技術総合研究所 健康工学研究部門 セラノスティックデバイス研究グループ
9	幹事	小峰 秀彦	国立研究開発法人産業技術総合研究所 自動車ヒューマンファクター研究センター 生理機能研究チーム
10	幹事	鎮西 清行	国立研究開発法人産業技術総合研究所 健康工学研究部門
11	幹事	丸山 修	国立研究開発法人 産業技術総合研究所 健康工学研究部門
つくばバイオマテリアル・医工学研究会			
12	幹事	川添 直輝	国立研究開発法人物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点 生体組織再生材料グループ
13	幹事	兵藤 行志	国立研究開発法人産業技術総合研究所 環境安全本部 環境安全部 ライフサイエンス実験管理室
14	幹事	山根 隆志	国立研究開発法人産業技術総合研究所 名誉リサーチャー 医療機器レギュラトリーサイエンス研究会
物質・材料研究機構			
15	幹事	荏原 充宏	国立研究開発法人物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点 スマートポリマーグループ
16	幹事	川上 亘作	国立研究開発法人物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点 医療応用ソフトマターグループ
17	幹事	田口 哲志	国立研究開発法人物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点 バイオポリマーグループ
18	大会長 （幹事）	陳 国平	国立研究開発法人物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点 生体組織再生材料グループ
19	監査	吉富 徹	国立研究開発法人物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点 生体組織再生材料グループ
農業・食品産業技術総合研究機構			
20	幹事	亀田 恒徳	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門 絹糸昆虫高度利用研究領域 新素材開発グループ
21	幹事	神戸 裕介	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門 絹糸昆虫高度利用研究領域 新素材開発グループ
22	幹事	寺本 英敏	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門 絹糸昆虫高度利用研究領域 新素材開発グループ
茨城県			
23	幹事	浅野 健治	茨城県産業戦略部技術振興局技術革新課
24	幹事	大森 貴弘	茨城県産業戦略部技術振興局技術革新課
つくば研究支援センター			
25	幹事	山口 康彦	株式会社つくば研究支援センター いばらき成長産業振興協議会
26	幹事	湯原 幸子	株式会社つくば研究支援センター 地域支援部

口頭発表要領

口頭発表セッションは、Zoom（※）を使用して実施いたします。Zoomに接続するための通信環境は、発表者ご自身でご用意ください。また、Zoomはあらかじめ最新バージョンに更新しておいてください。Zoomのインストール方法や操作方法については、<https://zoom.us/>をご参照ください。

※ Zoom 及び Zoom（ロゴ）は、Zoom Video Communications, Inc.の米国及びその他の国における登録商標または商標です。

発表方法

- ① Zoom ミーティングへのアクセス URL は、開催 1 週間までにメールにてご案内いたします。フォーラムホームページにもご案内いたします。
- ② プレゼンテーションは下記の会場で実施いたします。発表者は、セッション開始時刻の 10 分前までに入場してください。

セッション名	会場名	セッション時間	発表・質疑応答時間
一般口頭発表セッション	A 会場	16：20～17：20	発表 8 分/質疑応答 2 分 (合計 10 分)
若手口頭発表セッション 1	B 会場	10：40～11：40	発表 6 分/質疑応答 2 分 (合計 8 分)
若手口頭発表セッション 2	B 会場	15：10～16：06	発表 6 分/質疑応答 2 分 (合計 8 分)
若手口頭発表セッション 3	B 会場	16：06～17：02	発表 6 分/質疑応答 2 分 (合計 8 分)
若手口頭発表セッション 4	C 会場	10：40～11：40	発表 6 分/質疑応答 2 分 (合計 8 分)
若手口頭発表セッション 5	C 会場	15：10～16：06	発表 6 分/質疑応答 2 分 (合計 8 分)
若手口頭発表セッション 6	C 会場	16：06～17：02	発表 6 分/質疑応答 2 分 (合計 8 分)

- ③ 入場後は、発表者ご自身の表示名を次のように変更してください。
演題番号：発表者名（所属）（例：E-D-01：物材 太郎（物材機構））
- ④ 発表の順番となりましたら、発表者は発表スライドを画面共有し、発表者ご自身の PC のマイク、カメラを ON にしてご発表ください（時間厳守）。

Guidelines for Oral Presentations at TBME 2022

The oral presentation session will be held online using the video conference system Zoom (*). Please ensure that you have installed the latest version of Zoom application software on PC.

* "Zoom" and the "Zoom logo" are trademarks or registered trademarks of Zoom Video Communications, Inc.

Guideline for presenters

1. The Zoom link will be informed by email *one week before the forum*. The Zoom link information is also available on the Forum homepage.
2. The oral presentation sessions are allocated as shown in the following table. Please enter the meeting zoom *at least 10 minutes before the session start time*.

Session	Meeting room	Session time	Presentation and Q&A time
General Oral Presentation Session	A	16 : 20-17 : 20	8 min for presentation and 2 min for Q&A
Young Researcher Oral Presentation Session 1	B	10 : 40-11 : 40	6 min for presentation and 2 min for Q&A
Young Researcher Oral Presentation Session 2	B	15 : 10-16 : 06	6 min for presentation and 2 min for Q&A
Young Researcher Oral Presentation Session 3	B	16 : 06-17 : 02	6 min for presentation and 2 min for Q&A
Young Researcher Oral Presentation Session 4	C	10 : 40-11 : 40	6 min for presentation and 2 min for Q&A
Young Researcher Oral Presentation Session 5	C	15 : 10-16 : 06	6 min for presentation and 2 min for Q&A
Young Researcher Oral Presentation Session 6	C	16 : 06-17 : 02	6 min for presentation and 2 min for Q&A

3. After entering the Zoom meeting, please change your display name as follows: "Presentation number: Presenter's name"
(For example O-C-13, Taro Butsuzai).
4. When it's your turn, show your presentation slides using "Share Screen" function of Zoom, turn on the microphone and camera on your PC and then make your presentation. *Please be punctual and carefully follow the time allocation.*

つくば医工連携フォーラム 2022

ポスター発表要領

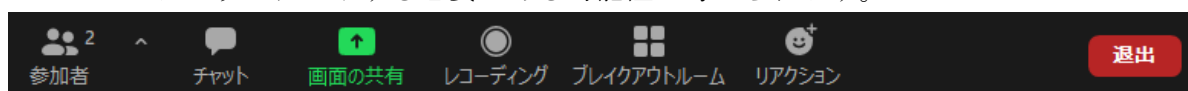
ポスターセッションは、Zoom（※1）のブレイクアウトルーム機能（※2）を使用して実施します。ブレイクアウトルーム機能を利用するためには、Zoom のクライアントソフトウェアがご自身の PC にインストールされている必要があります。また、Zoom はあらかじめ最新バージョンに更新しておいてください。

※1 Zoom および Zoom（ロゴ）は、Zoom Video Communications, Inc.の登録商標または商標です。

※2「Zoom のブレイクアウトルーム機能」とは、1つのミーティング内に、ブレイクアウトルームとよばれる複数の小部屋を設置する機能です。

発表要領

- ① ポスターセッションは **14:10 から 15:10 まで D 会場**で実施します。Zoom ミーティングへのアクセス URL は、**開催 1 週間前までに**メールでご案内いたします。フォーラムホームページにもご案内いたします。
- ② D 会場にアクセス後、画面下側の「ブレイクアウトルーム」をクリックします。ブレイクアウトルームのメニューが表示されない場合は、Zoom のクライアントソフトウェアがご自身の PC にインストールされていないか、インストールされている Zoom を最新バージョンにアップデートする必要がある可能性が考えられます。



- ③ 「演題番号」が表示されましたら、ご自身の演題番号（例：P-D-01）の右側に表示された「参加」をクリックし、入室してください。発表者は、**発表・質疑開始時刻(偶数の演題番号 14:10、奇数の演題番号 14:40)**までに入室してください。入室後は、ご自身の表示名を次のように変更してください。

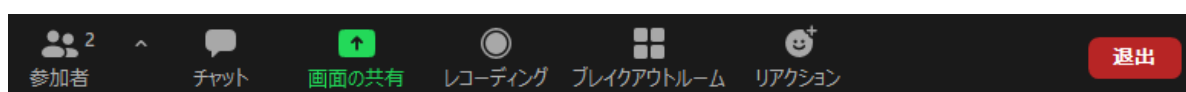
演題番号：発表者名（例:P-D-01：物材 太郎）

ブレイクアウトルーム- 進行中		×
▼ E-D-01_ニッピ株式会社様		参加
▼ E-D-02_ペンギンシステム株式会社様		参加
▼ E-D-03_株式会社ツインカプセラ様		参加
▼ E-D-04_つくばグローバル・イノベーション推進機構様		参加
▼ E-D-05_CELLINK株式会社様		参加
▼ E-D-06_株式会社ソフセラ様		参加
▼ P-D-01		参加
▼ P-D-02		参加
▼ P-D-03		参加

- ④ 入室後、「画面の共有」をクリックし、ポスターファイルを表示してください。
- ⑤ ポスターセッションには座長はいません。演題番号の奇数の方は 14 時 10 分～14 時 40 分、偶数の方は 14 時 40 分～15 時 10 分に発表・質疑応答を行ってください。
- ⑥ 発表・質疑が終了しましたら、画面の共有を終了し、画面右下の「ルームを退出する」をクリックしてください。

聴講要領

- ① D会場にアクセス後、画面下側の「ブレイクアウトルーム」をクリックします。ブレイクアウトルームのメニューが表示されない場合は、Zoom のクライアントソフトウェアがご自身の PC にインストールされていないか、インストールされている Zoom を最新バージョンにアップデートする必要がある可能性が考えられます。



- ② 「演題番号」が表示されましたら、聴講したい企業・団体とポスターの右側に表示されている「参加」をクリックし、入室して下さい。入室後、ご自身の PC のマイクを ON にして質疑応答してください。



- ③ 他の演題番号のルームに移動したい場合は、画面右下の「ルームを退出する」をクリックし、次に聴講したい企業・団体展示とポスターの右側に表示されている「参加」をクリックし、入室してください。あるいは、画面右下の「ルームを退出する」、続いて「ブレイクアウトルームを退出する」をクリックし、次に聴講したい企業・団体展示とポスターの右に表示されている「参加」をクリックし、入室してください。
- ④ ポスター発表セッションを退出したい場合は、「ミーティングを退出する」を選択してください。

Guidelines for Poster Presentations at TBME 2022

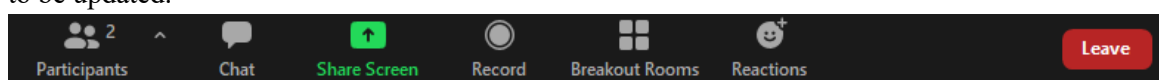
The poster presentation session will be held online via the breakout rooms feature of Zoom (*1, 2). Please ensure that you have installed the latest version of Zoom application software on PC.

*1 "Zoom" and the "Zoom logo" are trademarks or registered trademarks of Zoom Video Communications, Inc.

*2 Breakout rooms are sessions that are split off from the main Zoom meeting. They allow the participants to meet in smaller groups, and are completely isolated in terms of audio and video from the main session.

Guideline for presenters

1. The poster presentation session will be held in *Meeting Room D* from 14:10 to 15:10 (JST). The Zoom link will be informed by email *one week before the forum*. The Zoom link information is also available on the Forum homepage.
2. After entering Meeting Room D, click "Breakout Rooms" at the bottom of the Zoom screen. If the "breakout rooms" menu does not appear, the Zoom client software is not installed on PC or needs to be updated.



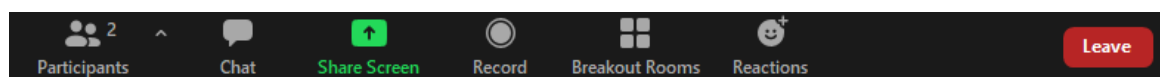
3. When the "Breakout Room" window appears, click on the "Join" button next to your presentation number to enter the poster room assigned for your poster presentation, and then please change your display name as follows:
"Presentation number: Presenter's name"
(For example, P-D-01: Taro Butsuzai)



4. After entering the poster number room, click "Share Screen" to display your poster file.
5. The poster presentation session will be held during 14:10-15:10 (JST). *The odd number posters will be presented at the core time 14:10-14:40 and the even number posters at the core time 14:40-15:10.* There will be no chairperson for the poster session. When it's time for your presentation, share your presentation file in presenter mode and have a discussion with attendees.
6. After you finish your presentation and discussion, please stop the sharing screen and press "Leave Room" at the bottom right of the screen and select "Leave Meeting".

Guideline for attendees

1. After entering Meeting Room D, click "Breakout Rooms" at the bottom of the Zoom screen. If the "breakout rooms" menu does not appear, the Zoom client software is not installed on PC or needs to be updated.



2. When the "Breakout Room" window appears, click on the "Join" button at the right side of the "exhibition and poster presentation No." to enter the poster room where you want to visit. After entering the room, turn on the microphone on your PC and then discuss with the presenter.



3. If you want to move to another poster, click the "Leave Room" button at the bottom right of the screen and click the "Join" button at the right side of the "exhibition and poster presentation No." to enter next room. Or click the "Leave Room" button at the bottom right of the screen, click "Leave Breakout Room" to return to the screen and then click the "Join" button at the right side of the "exhibition and poster presentation No." to enter next room.
4. Please click "Leave Meeting" to exit the poster room when you want to leave poster presentation room.

企業・団体プレゼンテーション要領

企業・団体プレゼンテーションは、口頭プレゼンテーション及びポスター展示の両方の形式で実施いたします。口頭プレゼンテーション及びポスター展示ともに、オンラインツール Zoom（※1）を使用して実施いたします。

※1 Zoom 及び Zoom（ロゴ）は、Zoom Video Communications, Inc.の米国及びその他の国における登録商標または商標です。

口頭プレゼンテーション

(1) 発表時間と発表順

企業・団体の発表担当者様（以下、発表者と表記）にオンラインでご登壇いただき、一社・団体につき **10 分以内(時間厳守でお願いいたします)**で製品・技術・サービスに関する口頭プレゼンテーションを行っていただきます。本プレゼンセッションでは発表のみとし、質疑応答は「企業・団体展示（ポスター発表）」で実施いたします。発表順は申込順となっており、メールでご案内いたします。

(2) 発表方法

- ① Zoom を使用して実施いたします。発表にはご自身のPC を使用してください。通信環境は、あらかじめ発表者様側でご準備ください。オンラインプレゼンテーションを行うためには、Zoom のクライアントソフトウェア（無料）がご自身の PC にインストールされている必要があります。Zoom はあらかじめ最新バージョンに更新いただきますようお願いいたします。Zoom のインストール方法や操作方法については <https://zoom.us/> をご参照ください。
- ② Zoom ミーティングへのアクセス URL は、**開催 1 週間までに**メールにてご案内いたします。
- ③ 口頭プレゼンテーションは **A 会場**で実施いたします。**セッション開始時刻(13:10)の10分前までに**入場をお願いいたします。
- ④ 入場後は、発表者ご自身の表示名を次のように変更してください。 プレゼン番号：発表者名（所属）（例：E-D-01：物材 太郎（物材機構））
- ⑤ プレゼンの順番となりましたら、座長がご紹介します。発表者は発表スライドを画面共有し、発表者ご自身のPC のマイク、カメラをON にしてご発表ください。スライドの様式、枚数は任意ですが、**発表時間が 10 分以内**となるように作成してください。

企業・団体展示(ポスター発表)

企業・団体様ごとに個別オンラインブースを設け、貴社・貴団体の製品・技術・サービスなどに関する情報を展示し、参加者と情報交換していただきます。本セッションは、口頭プレゼンテーションに引き続いて実施されます。質疑応答など訪問者との双方向型コミュニケーションを通じて、参加者に製品・技術・サービスなどをより深く知ってもらいます。なお、本企業・団体展示セッションは、研究ポスター発表セッションと同時並行で実施いたします。

- ① Zoom のブレイクアウトルーム機能（※2「ブレイクアウトルームとは」参照）を使用して、個別オンラインブースを設けます。ブレイクアウトルーム機能を使用するためには、Zoom のクライアントソフトウェアがご自身の PC にインストールされている必要があります。Zoom はあらかじめ最新バージョンに更新いただきますようお願いいたします。
- ② 企業・団体展示（ポスター発表）は **D 会場** で実施いたします。Zoom ミーティングへのアクセス URL は、**開催 1 週間まで** にメールでご案内いたします。
- ③ D 会場にアクセス後、画面下側の「ブレイクアウトルーム」を押します。ブレイクアウトルームのメニューが表示されない場合は、Zoom のクライアントソフトウェアがご自身の PC にインストールされていないか、インストールされている Zoom が最新バージョンでない可能性があります。ご確認の上、ご対応いただきますようお願いいたします。



- ④ 続いて、「ブース番号_貴社・貴団体名」が表示されていますので、「参加」をクリックして入室してください。**セッション開始時刻(14:10)の30 分前から**入室が可能ですので、準備にご利用ください。



- ⑤ 入室後は、発表者ご自身の表示名を次のように変更してください。ブース番号：発表者名（所属）（例：E-D-01：物材 太郎（物材機構））入室後は、「画面の共有」を押し、

展示資料を表示してください。展示資料は、口頭プレゼンテーションでご使用になったスライドでも別途作成されるポスター、パンフレットなど任意です。

- ⑥ 本セッションには座長はいません。開始時刻(14:10)になりましたら、ブ参加者との情報交換や質疑応答を行ってください。
- ⑦ 終了時刻(15:10)になりましたら、画面の共有を終了し、画面右下の「ルームを退出する」を押し、「ミーティングを退出する」を選択してください。

※2 「Zoom のブレイクアウトルーム機能」とは、1つのミーティング内に、ブレイクアウトルームとよばれる複数の小部屋を設置する機能です。

タイムテーブル

	A会場(Online)	B会場(Online)	C会場(Online)	D会場(Online)
9:00				
	9:30～9:40 開会挨拶、役員挨拶			
10:00	9:40～10:40 特別講演 (30分×2件)			
11:00	10:40～11:10 招待講演セッション1 (産業技術総合研究所セッション)	10:40～11:40 若手口頭発表セッション1 (8分/件×7件)	10:40～11:40 若手口頭発表セッション4 (8分/件×7件)	
	11:10～11:40 招待講演セッション2 (物質・材料研究機構セッション)			
12:00	11:40～12:10 臨床ニーズ紹介セッション (T-CReDO)			
13:00	12:10～13:10 昼食休憩			
14:00	13:10～14:10 企業・団体口頭プレゼンテーション (5～10分/社)			
15:00				14:10～15:10 研究ポスター発表/ 企業・団体展示
16:00	15:20～15:50 招待講演セッション3 (農業・食品産業技術総合研究機構 セッション)	15:10～16:06 若手口頭発表セッション2 (8分/件×7件)	15:10～16:06 若手口頭発表セッション5 (8分/件×7件)	
	15:50～16:20 招待講演セッション4 (筑波大学つくば臨床医学研究開発機構 (T-CReDO) セッション)			
17:00	16:20～17:20 一般口頭発表 (10分/件×6件)	16:06～17:02 若手口頭発表セッション3 (8分/件×7件)	16:06～17:02 若手口頭発表セッション6 (8分/件×7件)	
	17:20～17:30 閉会挨拶			
18:00	17:30～19:00 オンライン懇親会			
19:00				

Timetable (JST)

	Room A (Online)	Room B (Online)	Room C (Online)	Room D (Online)
9:00				
	9:30-9:40 Opening Remarks/VIP greeting			
10:00	9:40-10:40 Plenary Lecture (30min×2)			
11:00	10:40-11:10 Invited Lecture Session 1 (AIST Session)	10:40-11:40 Young Researcher Oral Presentation Session 1 (8 min × 7)	10:40-11:40 Young Researcher Oral Presentation Session 4 (8 min × 7)	
	11:10-11:40 Invited Lecture Session 2 (NIMS Session)			
	11:40-12:10 Clinical Needs Introduction Session (T-CReDO)			
12:00				
	12:10-13:10 Lunch break			
13:00				
	13:10-14:10 Corporate PR Session (5~10min × 6)			
14:00				
				14:10-15:10 Poster Presentation Session/ Exhibition Session
15:00				
	15:20-15:50 Invited Lecture Session 3 (NARO Session)	15:10-16:06 Young Researcher Oral Presentation Session 2 (8 min × 7)	15:10-16:06 Young Researcher Oral Presentation Session 5 (8 min × 7)	
16:00	15:50-16:20 Invited Lecture Session 4 (T-CReDO Session)			
	16:20-17:20 General Oral Presentation Session (10 min × 6)	16:06-17:02 Young Researcher Oral Presentation Session 3 (8 min × 7)	16:06-17:02 Young Researcher Oral Presentation Session 6 (8 min × 7)	
17:00				
	17:20 -17:30 Closing Remarks			
18:00	17:30-19:00 Online gathering party			
19:00				

プログラム/Program

A 会場(Meeting Room A)

9:30~9:40(JST)

開会挨拶 陳 国平 (つくば医工連携フォーラム 2022 大会長)

Opening Remarks Guoping Chen (Chair of TBME 2022)

役員挨拶 : 花方 信孝 (物質・材料研究機構理事)

Greetings of NIMS Executive Vice President Hanagata Nobutaka (Executive Vice President, NIMS)

9:40~10:40(JST)

特別講演セッション

Plenary Lecture Session

座長 : 陳 国平 (物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点)

Chair: Guoping Chen (Research Center for Functional Materials, NIMS)

PL-01 つくばでの COVID-19 体外診断薬開発・評価における産学連携の成果と新たなイノベーションに向けた模索について

○鈴木 広道

筑波大学 医学医療系 臨床医学域 感染症内科学

PL-02 マラリア研究と医工連携イノベーション：オルガネラ制御を中心とした肝内型マラリア原虫の休眠・増殖分子基盤

国立感染症研究所・寄生動物部・第3室

○案浦 健

10:40~11:10(JST)

招待講演セッション 1(産業技術総合研究所セッション)

Invited Lecture Session 1 (AIST Session)

座長 : 鎮西 清行 (産業技術総合研究所 健康医工学研究部門)

Chair: Kiyoyuki Chinzei (Health and Medical Research Institute, AIST)

IL-01 医工連携によるユニバーサルメディカルアクセスの実現

○丸山 修

産業技術総合研究所 健康医工学研究部門 (次世代治療・診断技術研究ラボ)

IL-02 次世代手術支援ロボット ANSUR ; 構想から事業化まで

○安藤 岳洋

朝日サージカルロボティクス株式会社

11:10~11:40(JST)

招待講演セッション 2(物質・材料研究機構セッション)

Invited Lecture Session 2 (NIMS Session)

座長：陳 国平（物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点）

Chair: Guoping Chen (Research Center for Functional Materials, NIMS)

IL-03 流動性足場設計に基づく細胞機能・運命操作技術の開発

○宇都 甲一郎、荏原 充宏

物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点

IL-04 四級アンモニウム基を有するポリカチオンを利用した蛍光組織マーキング剤の開発

○吉富 徹¹、小松 義希²、松井 裕史²、古屋 欽司³、池田 貴文²、星 葵⁴、寺崎 梓⁴、川添 直輝¹、陳 国平¹

¹物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点、²筑波大学 消化器内科、³筑波大学 消化器外科、⁴筑波大学 乳腺・甲状腺・内分泌外科

IL-05 術後合併症の予防に向けた生体組織接着性粒子の創出

○西口 昭広¹、伊藤 椎真^{1,2}、佐々木 文郷³、前田 英仁³、樺山 雅之³、井戸 章雄³、田口 哲志^{1,2}

¹物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点、²筑波大学大学院 数理物質科学研究群、³鹿児島大学大学院 消化器疾患・生活習慣病学

11:40~12:10(JST)

臨床ニーズ紹介セッション

Clinical Needs Introduction Session

座長：野口 裕史（筑波大学つくば臨床医学研究開発機構）

Chair: Hiroshi Noguchi (Tsukuba Clinical Research and Development Organization (T-CReDO))

CN-01: 腹部術後患者の一過性イレウスに対して改善するためのデバイス

CN-02: 経鼻胃管を意識障害時に容易に入れる/盲目的にベッドサイドで十二指腸まで誘導する工夫

CN-03: 記載しやすく評価しやすい頭痛日記アプリの開発

CN-04: 大腸憩室出血に対する内視鏡的止血術に使用する専用の止血装置の開発

CN-05: 短時間でも見逃しを防げる経鼻内視鏡

CN-06: 腹腔鏡下直腸手術専用のクランプ鉗子

CN-07: バイタルモニタリングシステムの誤アラートの軽減

CN-08: インスリン製剤等の自己注入器の針をワンタッチで交換できるデバイス

CN-09: ストーマに簡便かつ適切に装着できるストーマ装具（面板・アクセサリ）

- CN-10: 胃管や尿バルーン等を自己抜去されにくくするデバイス
CN-11: 皮膚トラブルに対応可能なギプス
CN-12: 気管切開管理児童の在宅医療での安全（チューブ抜け）を担保する
CN-13: 新生児にとって快適で、医療従事者には観察がしやすい保育器内環境（照明）の提供
CN-14: 新生児の頭蓋内圧亢進を客観的に評価するデバイス
CN-15: 水頭症に対するシャント手術後のシャント機能のモニタリングデバイス
CN-16: 高齢者（特に認知障害者）の服薬管理

13:10～14:10(JST)

企業口頭プレゼンテーション

Corporate PR Session

座長：田口 哲志（物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点）

Chair: Tetsushi Taguchi (Research Center for Functional Materials, NIMS)

- PR-01: 株式会社ニッピ
PR-02: ペンギンシステム株式会社
PR-03: 株式会社ツインカプセラ
PR-04: 一般社団法人つくばグローバル・イノベーション推進機構
PR-05: CELLINK 株式会社
PR-06: 株式会社ソフセラ

15:20～15:50(JST)

招待講演セッション 3(農業・食品産業技術総合研究機構セッション)

Invited Lecture Session 3 (NARO Session)

座長：神戸 裕介（農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門）

Chair: Yusuke Kambe (Institute of Agrobiological Sciences, NARO)

- IL-06 農研機構におけるシルクバイオマテリアル研究
○神戸 裕介
農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門
- IL-07 医療材料としてのシルクフィブロイン
○新留 琢郎¹、徐 薇¹、佐々木 誠²
¹熊本大学大学院 先端科学研究部、²株式会社チャーリーラボ

15:50~16:20

招待講演セッション 4

(筑波大学つくば臨床医学研究開発機構 セッション)

Invited Lecture Session 4 (T-CReDO Session)

座長：小柳 智義（筑波大学つくば臨床医学研究開発機構）

Chair: Tomoyoshi Koyanagi (Tsukuba Clinical Research and Development Organization (T-CReDO))

IL-08 “つくば”から始める医工連携の変革案

安田 研一

フリーランス コンサルタント

16:20~17:20 (JST)

一般口頭発表セッション

General Oral Presentation Session

座長：田口 哲志（物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点）

Chair: Tetsushi Taguchi (Research Center for Functional Materials, NIMS)

発表時間：一般口頭発表時間 10 分（発表 8 分、質疑応答 2 分）

Presentation time: 10 min (8 min for presentation and 2 min for Q & A)

O-A-01 バイオマテリアル利用を指向したシルクフィブロインの炎症性に関する研究

○中澤 靖元¹、山本 絢音¹、久保 穂菜美¹、太良 修平²、中澤 千香子³

¹東京農工大学 大学院工学府生命工学専攻、²日本医科大学 循環器内科、³防衛大学校 応用化学科

O-A-02 がんセラノスティクスに向けた Bi(III)/Eu(III) 置換水酸アパタイトナノ結晶の作製

○中川 泰宏、松本 健太、生駒 俊之

東京工業大学 物質理工学院・材料系

O-A-03 末梢静脈穿刺を容易にする駆血方法の評価 -血管断面積の比較

○山下 樹里¹、小関 義彦¹、倉本 直樹²、渡邊 順子²、葭仲 潔¹、高野 順³

¹産業技術総合研究所 健康医工学研究部門、²静岡県立大学 看護学部、

³株式会社テクノサイエンス

O-A-04 Mammary tumor organoid culture in alginate for drug screening

¹Hongxu Lu, ¹Guocheng Fang, ²David Gallego-Ortega

¹Institute for Biomedical Materials and Devices; ²School of Biomedical Engineering, University of Technology Sydney.

O-A-05 Engineering Carbene Crosslinked Dendrimer Bioadhesives for Future Clinic

¹Himansu Sekhar Nanda, ²Terry W J Steele

¹Biomedical Engineering and Technology Lab, Mechanical Engineering Discipline, PDPM-Indian Institute of Information Technology, Design and Manufacturing;

²School of Materials Science and Engineering, Nanyang Technological University.

O-A-06 ECM scaffolds mimicking extracellular matrices of endochondral ossification for the regulation of mesenchymal stem cell differentiation

^{1,2}Yazhou Chen, ^{1,2}Kyubae Lee, ¹Naoki Kawazoe, ³Yingnan Yang, ^{1,2}Guoping Chen

¹Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science;

²Department of Materials Science and Engineering, Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba; ³Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba.

17:20~17:30(JST)

閉会挨拶(Closing Remarks)

17:30~19:00(JST)

オンライン懇親会(Online gathering party)

B 会場(Meeting Room B)

10:40~11:40 (JST)

若手口頭発表セッション 1

Young Researcher Oral Presentation Session 1

座長：荏原 充宏（物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点）

Chair: Mitsuhiro Ebara (Research Center for Functional Materials, NIMS)

発表時間：若手口頭発表時間 8 分（発表 6 分、質疑応答 2 分）

Presentation time: 8 min (6 min for presentation and 2 min for Q & A)

O-B-01 異方性制御水酸アパタイト粒子に吸着した血清タンパク質のプロテオーム解析

○大沼 恵里香¹、伊藤 颯人²、佐々木 慎²、神澤 信行³、紀藤 圭治²、相澤 守¹

¹明治大学 理工学部、²明治大学 農学部、³上智大学 理工学部

O-B-02 Ti-HAp/TiO₂ ハイブリッドナノ粒子の機能性評価

○丸山 大起、古藺 勉

近畿大学大学院 生物理工学研究科

O-B-03 酸性アミノ酸残基導入デンドロン脂質の組み込みによる リポソームの安定化と細胞取込の促進

○仲谷 祐哉、北山 雄己哉、弓場 英司、原田 敦史

大阪府立大学大学院 工学研究科

O-B-04 抗感染性カテーテルに応用可能な抗菌性を有する 亜鉛置換アパタイトナノ粒子複合材料の開発

○片岡 美波、東 慶直、古菌 勉

近畿大学大学院 生物理工学研究科

O-B-05 コラーゲンフィブリルの一軸配列技術の開発とアパタイト析出

○柴 亜東^{1,2}、周 燕妮¹、宮田 真理³、多賀谷 基博¹

¹長岡技科大院工、²JSPS 特別研究員 DC、³長岡工専物工

O-B-06 銀・金ナノ粒子のケラチン薄膜および羊毛繊維に対する吸着

○山田 健人、森 英樹、原 正之

大阪府立大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻

O-B-07 T字型両親媒性ポリペプチドを用いたペプチドフラットロッドの作製

○板垣 亮^{1,3}、伊藤 嘉浩^{1,2}、上田 一樹^{1,2}

¹理化学研究所 開拓研究本部、²理化学研究所 創発物性科学研究センター、

³日本学術振興会

15:10~16:06 (JST)

若手口頭発表セッション 2

Young Researcher Oral Presentation Session 2

座長：川上 亘作（物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点）

Chair: Kohsaku Kawakami (Research Center for Functional Materials, NIMS)

発表時間：若手口頭発表時間 8 分（発表 6 分、質疑応答 2 分）

Presentation time: 8 min (6 min for presentation and 2 min for Q & A)

O-B-08 a 面を多く露出した水酸アパタイトセラミックス上で 培養した破骨細胞の活性とその材料吸収性

○鈴木 来¹、大沼 恵里香¹、亀田 優佳¹、吉村 英恭^{1,2}、本田 みちよ^{1,2}、相澤 守^{1,2}

¹明治大学大学院 理工学研究科、²明治大学 明治大学 生命機能マテリアル国際インスティテュート

O-B-09 細胞表面修飾を応用したリポソームへの表層改質と操作制御

○佐藤 佑哉¹、寺村 裕治²

¹東京大学大学院 工学系研究科、²産業技術総合研究所 細胞分子工学研究部門

O-B-10 クエン酸含有ハイドロキシアパタイトナノ粒子透明膜の創製と 骨芽細胞培養特性の評価

○劉 自振¹、片岡 卓也¹、川越 大輔²、多賀谷 基博¹

¹長岡技術科学大学大学院 工学研究科、²小山工業高等専門学校 物質工学科

O-B-11 骨誘導能と抗菌性とを併せ持つ亜鉛イオン修飾水酸アパタイト 多孔質セラミックスの作製とその評価

○円城 涼美¹、上田 綾乃¹、中野 和明²、長屋 昌樹²、長嶋 比呂志^{2,3}、
相澤 守^{1,4}

¹明治大学大学院 理工学研究科、²明治大学 バイオリソース国際インスティテュート ³明治大学農学部生命科学科、⁴明治大学 生命機能マテリアル国際インスティテュート

O-B-12 iPS 細胞の他施設利用のための輸送振動ストレスの影響

○伊藤友哉¹、酒井徹平¹、蟹江慧¹、加藤 竜司^{1,2}

¹名古屋大学大学院 創薬科学研究科、²名古屋大学 ナノライフシステム研究所

O-B-13 皮膚組織再生誘導に向けたヘパリン修飾シルクフィブロイン材料の創製

○濱 理佳子、中澤 靖元

東京農工大学大学院 生命工学専攻

O-B-14 培養マウス神経幹細胞/前駆細胞における亜鉛輸送体の発現解析

○森村 雅也、森 英樹、原 正之

大阪府立大学 理学系研究科 生物科学専攻

16:06~17:02 (JST)

若手口頭発表セッション 3

Young Researcher Oral Presentation Session 3

座長：宇都 甲一郎（物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点）

Chair: Koichiro Uto (Research Center for Functional Materials, NIMS)

発表時間：若手口頭発表時間 8 分（発表 6 分、質疑応答 2 分）

Presentation time: 8 min (6 min for presentation and 2 min for Q & A)

O-B-15 抗 CD3 抗体を担持したリン酸三カルシウム微小球の生物学的評価

○新田 藍子¹、中川 大輝¹、永尾 優季¹、鄭 允迪¹、野瀬 雅人²、永井 重徳^{3,4}、
相澤 守^{1,2,4}

¹明治大学大学院 理工学研究科、²明治大学 理工学部、³東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科、⁴明治大学 生命機能マテリアル国際インスティテュート

O-B-16 疎水化タラゼラチンとポリエチレングリコール系架橋剤からなる新規組織接着剤の開発

○柳原 隆宏¹、巻 直樹¹、皆木 健治¹、岡村 純子¹、関根 康晴¹、菅井 和人¹、
河村 知幸¹、小林 尚寛¹、後藤 行延¹、市村 秀夫¹、渡邊 志春²、田口 哲志²、
佐藤 幸夫¹

¹筑波大学 人間総合科学研究科 呼吸器外科学、²物質・材料研究機構 機能性材料
研究拠点バイオ機能分野

O-B-17 癒着防止シートの開発を目的とした細胞接着特性解明

○霜古田 一優¹、蟹江 慧¹、杉山 亜矢斗¹、原 光生²、宇都 甲一郎³、荏原 充宏³、
緒方 藍歌⁴、成田 裕司⁴、加藤 竜司^{1,5}

¹名古屋大学 大学院創薬科学研究科、²名古屋大学 大学院工学研究科、³物質・材
料研究機構、⁴名古屋大学 大学院医学系研究科、⁵名古屋大学 ナノライフシステム
研究所

O-B-18 光線力学療法を目指したメチレンブルー吸着ハイドロキシアパタイト ナノ粒子の
創製と光化学反応性の評価

○山田 伊織^{1,3}、佐光 貞樹²、多賀谷 基博¹

¹長岡技術科学大学大学院 工学研究科、²物質・材料研究機構 統合型材料開発・情
報基盤部門、³JSPS 特別研究員 DC

O-B-19 ウェアラブル血液浄化システムの実現に向けた遠心紡糸法による高吸水フィルター
作製

○和田 祐輝^{1,2}、菊池 明彦¹、荏原 充宏^{1,2,3}

¹東京理科大学先進工、²機能性材料研究拠点、³筑波大学数理物質

O-B-20 単一細胞の糖鎖と RNA を同時解析する技術(scGR-seq)の開発

○小高 陽樹¹、箕嶋 文¹、尾崎 遼²、舘野 浩章¹

¹産業技術総合研究所 細胞分子工学研究部門、²筑波大学 医学医療系

O-B-21 高精度なウェル内蛍光輝度定量自動化手法の人工糸球体モデルへの応用

○土肥 浩太郎¹、木村 啓志²、南学 正臣³、松永 行子¹、藤井 輝夫⁴

¹東京大学生産技術研究所、²東海大学 工学部機械工学科、³東京大学医学部附属
病院 腎臓内分泌内科、⁴東京大学

Meeting Room C(C 会場)

10 : 40-11 : 40 (JST)

Young Researcher Oral Presentation Session 4

若手口頭発表セッション 4

Chair: Xia Li (Research Center for Functional Materials, NIMS)

座長：李 霞（物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点）

Presentation time: 8 min (6 min for presentation and 2 min for Q & A)

発表時間：若手口頭発表時間 8 分（発表 6 分、質疑応答 2 分）

O-C-01 Versatile mitogenic and differentiation-inducible biomaterials attained by immobilization of adhesive growth factors

¹Xueli Ren, ²Seiichi Tada, ^{1,2}Yoshihiro Ito

¹Nano Medical Engineering Laboratory, RIKEN, ²Emergent Bioengineering Materials Research Team, RIKEN

O-C-02 Cell-Surface Engineering with Functional Peptides to Enhance Cell Interaction for Stroke Therapy

¹Isha Goel, ¹Makoto Noiri, ²Yuka Yamauchi, ²Koichi Kato ^{3,4}Yuji Teramura

¹Department of Bioengineering, The University of Tokyo; ²Department of Biomaterials, Hiroshima University, Hiroshima; ³National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Tsukuba; ⁴Department of Immunology, Genetics and Pathology (IGP), Uppsala University.

O-C-03 ϵ -Poly-L-Lysine / Guanine-Quadruplexes CpG Oligodeoxynucleotide Complexes for Vaccine Adjuvant Applications

¹Dandan Zhao, ¹Anh Thi Tram Tu, ¹Chiaki Yoshikawa, ^{1,2}Tomohiko Yamazaki

¹Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science, Tsukuba; ²Graduate School of Life Science, Hokkaido University.

O-C-04 Apoptotic cell-inspired nanoparticle for anti-inflammation therapy

¹Liu Yihua, ^{1,2,3}Ebara Mitsuhiro

¹Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science (NIMS); ²Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba; ³Graduate School of Advanced Engineering, Tokyo University of Science.

O-C-05 Hybrid Bicelles for Transdermal Drug Delivery Application

¹Kon Son, ^{1,2}Yoshiro Ito, ^{1,2}Motoki Ueda

¹RIKEN Center for Emergent Matter Science (CEMS); ²RIKEN Cluster for Pioneering Research (CPR).

O-C-06 Exploring the Potential Utility of Azido-Incorporated Silk Fibroin as a Drug Carrier Material

^{1,2}Tian Y., ¹Tsuboi H., ^{1,2}Teramoto H.

¹Institute of Agrobiological Sciences/NARO, ²T-LSI/Univ. of Tsukuba.

O-C-07 Enhanced biomechanical performance of additively manufactured Ti-6Al-4V bone plates

¹Saurabh Kumar Gupta, ¹Nagur Shahidsha, ¹Sumit Bahl, ¹Dhaval Kedaria, ²Sarat Singamneni, ³Prasad K.D.V. Yarlagadda, ¹Satyam Suwas, ¹Kaushik Chatterjee

¹Department of Materials Engineering, Indian Institute of Science, Bangalore; ²Department of Mechanical Engineering, Auckland University of Technology, Auckland; ³School of Chemistry, Physics and Mechanical Engineering, Science and Engineering Faculty, Queensland University of Technology, Brisbane.

15 : 10-16 : 06 (JST)

Young Researcher Oral Presentation Session 5

若手口頭発表セッション 5

Chair: Toru Yoshitomi (Research Center for Functional Materials, NIMS)

座長：吉富 徹 (物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点)

Presentation time: 8 min (6 min for presentation and 2 min for Q & A)

発表時間：若手口頭発表時間 8 分 (発表 6 分、質疑応答 2 分)

O-C-08 Reprogramming of Human Amniotic Fluid Stem Cells into Universal Induced Pluripotent Stem Cells

¹Yun-Ting Lin, ¹Jhe-Yu Hsu, ^{1,2}Akon Higuchi

¹Department of Chemical and Materials Engineering, National Central University,
; ²Riken Cluster for Pioneering Research, RIKEN.

O-C-09 Morphological response of cells to geometrical confinement and mechanical stimuli

Kun Fang^{1,2}, Stefan Muller^{3,4}, Motoki Ueda^{1,4}, Takashi Ushida³, Toshiyuki Ikoma², Yoshihiro Ito^{1,2,4}

¹Nano Medical Engineering Laboratory, RIKEN Cluster for Pioneering Research; ²Graduate School of Material Science and Engineering, Tokyo Institute of Technology; ³Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo; ⁴ Emergent Bioengineering Materials Research Team, RIKEN Center for Emergent Matter Science.

O-C-10 GVHD treatment using MSCs cultured on ECM-coating surface

¹H.-T. Lee, ^{1,2}A. Higuchi

¹Department of Chemical and Materials Engineering, National Central University, Taoyuan;

²Riken Cluster for Pioneering Research, RIKEN, Wako, Saitama.

- O-C-11 Design and Fabrication of Osteoconductive Hybrid Scaffolds for Bone Augmentation through Fuse Filament Fabrication
¹Mohammad Aftab Alam Ansari, ²Prashant Kumar Jain, ¹Himansu Sekhar Nanda
¹Biomedical Engineering and Technology Lab, Mechanical engineering discipline, PDPM Indian Institute of Information Technology, Design & Manufacturing Jabalpur; ² FFF Laboratory, Mechanical engineering discipline, PDPM Indian Institute of Information Technology, Design & Manufacturing Jabalpur.
- O-C-12 Culture and Differentiation of Human Pluripotent Stem Cells into Mesenchymal Stem cells on Oligopeptide-grafted Hydrogels
¹Chang Yu-Tang, ¹Wang Chun-Ko, ^{1,2}Akon Higuchi
¹Department of Chemical and Materials Engineering, National Central University; ² Riken Cluster for Pioneering Research, RIKEN.
- O-C-13 Black Phosphorus-Gelatin Composite Scaffolds for Photothermal therapy and Adipose Tissue Regeneration
^{1,2}Linawati, Sutrisno, ^{1,2}Huajian, Chen, ¹Toru Yoshitomi, ¹Kawazoe, Naoki, ^{1,2}Guoping, Chen
¹Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science;
²Department of Materials Science and Engineering, Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba.
- O-C-14 Comparative analysis of degradation behavior of synthetic porous scaffolds using computer methods of biomedical engineering
¹Rishi Kumara, ²Mohd. Zahid Ansari, ¹Himansu Sekhar Nanda
¹Biomedical Engineering and Technology Lab, Mechanical engineering discipline, PDPM Indian Institute of Information Technology, Design & Manufacturing;
²MEMS and Microfluidics Lab, Mechanical Engineering Discipline, PDPM Indian Institute of Information Technology, Design & Manufacturing.

16 : 06-17 : 02 (JST)

Young Researcher Oral Presentation Session 6

若手口頭発表セッション 6

Chair: Akihiro Nishiguchi (Research Center for Functional Materials, NIMS)

座長：西口 昭広（物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点）

Presentation time: 8 min (6 min for presentation and 2 min for Q & A)

発表時間：若手口頭発表時間 8 分（発表 6 分、質疑応答 2 分）

- O- C-15 Preparation of composite scaffolds of folic acid-functionalized gold nanoparticles and gelatin for targeting photothermal therapy

- ^{1,2}Huajian Chen, ¹Xiuhui Wang, ¹Naoki Kawazoe, ^{1,2}Guoping Chen
¹Tissue Regeneration Materials Group, Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science; ² Department of Materials Science and Engineering, Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba.
- O-C-16 Manganese-based Tumor Microenvironment-Responsive Radiotherapy
^{1,2}Xuping Yu, ²Xiupeng Wang, ¹Atsushi Yamazaki
¹Graduate School of Creative Science and Engineering, Waseda University; ²National Institute of Advanced Industrial Science and Technology.
- O-C-17 Determining the Trigger of Breast Cancer Inactivation State on the Fluidic Substrate: Bulk vs Near-surface Mobility?
¹Najmina, M., ^{1,2,3}Ebara, M., ²Uto, K.
¹Graduate School of Science and Technology, University of Tsukuba; ²Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science; ³Graduate School of Science and Industrial Technology, Tokyo University of Science.
- O-C-18 Integration of Modular ³D Tissue-in-a-Cube with Fluidic Devices for a BBB-on-a-Chip Model
¹Isabel Koh, ²Toshiki Kurosawa, ²Daiki Sako, ¹Waki Sekine, ²Yoshiyuki Kubo, ²Yoshiharu Deguchi, ^{1,3}Masaya Hagiwara
¹Cluster for Pioneering Research, RIKEN; ²Faculty of Pharma Sciences, Teikyo University; ³Osaka Prefecture University.
- O-C-19 Peristalsis-mimicking culture of human colon tumor organoids on a microfluidic chip
^{1,2}Guocheng Fang, ¹Hongxu Lu, ^{1,3}Dayong Jin
¹Institute for Biomedical Materials and Devices, School of Mathematical and Physical Sciences, University of Technology Sydney; ²School of Electrical and Electronics Engineering, Nanyang Technological University; ³UTS-SUSTech Joint Research Centre for Biomedical Materials and Devices, Department of Biomedical Engineering, Southern University of Science and Technology.
- O-C-20 Silver based Nanocomplexes as Multipurpose Nanomedicine for Antibacterial and Anticancer Therapeutics
Shagufta Haque, Bonda Ramarao, Sudip Mukherjee, Chitta Ranjan Patra
Department of Applied Biology, CSIR-Indian Institute of Chemical Technology.
- O-C-21 Stent Deformation Analysis of Magnesium and its Alloys using Finite Element Method
^{1,2}Vicky Subhash Telang, ²Puneet Tandon, ¹Himansu Sekhar Nanda

¹Biomedical Engineering and Technology Lab, Mechanical Engineering Discipline, PDPM Indian Institute of Information Technology, Design and Manufacturing; ²deLOGIC Lab, Mechanical Engineering Discipline, PDPM Indian Institute of Information Technology, Design and Manufacturing.

Meeting Room D(D 会場)

14:10~15:10(JST)

企業展示/ポスター発表セッション

Exhibition and Poster Presentation Session

企業展示リスト (Exhibition List)(申込順)

E-D-01: 株式会社ニッピ

E-D-02: ペンギンシステム株式会社

E-D-03: 株式会社ツインカプセラ

E-D-04: 一般社団法人つくばグローバル・イノベーション推進機構

E-D-05: CELLINK 株式会社

E-D-06: 株式会社ソフセラ

ポスター発表リスト (Poster Presentation List)

P-D-01 転移性骨腫瘍の治療を目指したビスホスホネート担持ナノカーボン複合体の開発

○中村 真紀¹、上田 勝也²、山本 由美子¹、青木 薫³、張 民芳⁴、齋藤 直人⁵、湯田坂 雅子^{1,6}

¹産業技術総合研究所 ナノ材料研究部門、²信州大学大学院 総合医理工学研究科、³信州大学 医学部保健学科、⁴産業技術総合研究所 ナノチューブ実用化研究センター、⁵信州大学先鋭領域融合研究群 バイオメディカル研究所、⁶名城大学 理工学部

P-D-02 レーザ熱加工によるマルテンサイト系ステンレス鋼の耐食性向上

○真中 智世¹、堤 祐介²、蘆田 茉希³、陳 鵬³、片山 英樹²、塙 隆夫^{3,4}

¹東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科、²物質・材料研究機構 構造材料研究拠点、³東京医科歯科大学 生体材料工学研究所、⁴神戸大学 未来医工学研究開発センター

P-D-03 組織接着性粒子を用いた早期消化管がん除去後の穿孔閉鎖能評価

○伊藤 椎真^{1,2}、西口 昭広²、佐々木 文郷³、前田 英仁³、樺山 雅之³、井戸 章雄³、田口 哲志^{1,2}

¹筑波大学大学院 数理物質、²物質・材料研究機構、³鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科

- P-D-04** 肺組織欠損部のシーリングを可能にする疎水化タラゼラチンシートの開発
 ○市丸 裕晃^{1,2}、水野 陽介^{1,2}、陳 曦²、西口 昭広²、田口 哲志^{1,2}
¹筑波大学大学院 数理物質科学研究群、²物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点
- P-D-05** 新規生体接着剤タラゼラチンはフィブリンより高い神経接着強度と同等の生体親和性を示した. Alaska pollock gelatin sealant shows higher bonding strength and equal biocompatibility for the resected nerve compared to the fibrin sealant.
 ○増田 秀輔¹、鈴木 拓¹、木村 洋朗¹、松村 昇¹、佐藤 和毅²、岩本 卓士¹
¹慶應義塾大学 整形外科、²慶應義塾大学医学部 スポーツ医学総合センター
- P-D-06** がんの放射線治療のための標的指向性リン酸ハフニウムナノ粒子の作製
 ○石栄 智貴、中川 泰宏、生駒 俊之
 東京工業大学 物質理工学院材料系
- P-D-07** 光熱治療へむけた星形 Au-Ag ナノ粒子の形態と光応答性の評価
 ○會田 雄大、中川 泰宏、生駒 俊之
 東京工業大学 物質理工学院材料系
- P-D-08** Diels-Alder 反応による温度応答性薬物放出制御ポリマーの設計
 ○藤澤 七海^{1,2}、Chen Lili¹、松本 孔貴³、竹内 正之^{1,2}、荻原 充宏^{1,2,4}
¹物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点、²筑波大学大学院 数理物質科学研究群、³筑波大学 医学医療系 臨床医学域・放射線腫瘍学（陽子線医学利用研究センター）、⁴東京理科大学大学院 先進工学研究科
- P-D-09** IoT 医療デバイスを目指した電気駆動型形状記憶ポリマーの開発
 ○中村 和沙^{1,2}、菊池 明彦¹、荻原 充宏^{1,2,3}、宇都 甲一郎²
¹東京理科大学大学院 先進工学研究科、²物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点、³筑波大学大学院 数理物質科学研究群
- P-D-10** インドキシル硫酸吸着除去のための“Grafting from”法による タンパク質—スマートポリマー複合体の設計
 ○吉原 栄理佳^{1,2}、佐々木 信^{1,2}、Ahmed Nabil²、飯島 道弘³、荻原 充宏^{1,2,4}
¹筑波大学大学院 数理物質科学研究群、²物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点、³小山工業高等専門学校 物質工学科、⁴東京理科大学大学院 先進工学研究科
- P-D-11** 悪性グリオーマの治療を目的とした温熱/化学療法併用スマートナノファイバーメッシュの作製
 ○大江 笑北^{1,2}、藤澤 七海^{1,2}、松本 孔貴³、荻原 充宏^{1,2}
¹筑波大学大学院 数理物質科学研究群、²物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点、³筑波大学 医学医療系 臨床医学域 放射線腫瘍学

- P-D-12 腎不全患者の過剰電解質の除去を目指した吸着ナノファイバーメッシュの設計
○高橋 可保^{1,2}、荏原 充宏^{1,2,3}
¹物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点、²筑波大学大学院 数理物質化学研究群、³東京理科大学大学院 先進工学研究科
- P-D-13 血中尿素の除去を目指したウレアーゼ固定化ナノファイバーの開発
○佐々木 信^{1,2}、Yihua Liu¹、荏原 充^{1,2,3}
¹物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点、²筑波大学大学院 数理物質科学研究群、³東京理科大学大学院 先進工学研究科
- P-D-14 A Simplified In vitro Blood Vessel Disease Model for Investigation of Angiogenic Effect of MSCs with CAD and PAD
○文 湊湖¹、伊藤 弓弦²
¹筑波大学大学院 生命環境科学研究科 生命産業科学専攻、²筑波大学大学院 生命環境系
- P-D-15 肝特異的な機能発現を目指した自立浮遊スフェロイド培養系の構築
○露久保 淳^{1,2}、須丸 公雄²、森下 加奈²、金森 俊幸^{1,2}
¹筑波大学大学院 グローバル教育院、²産業技術総合研究所 細胞分子工学研究部門
- P-D-16 IV型コラーゲンを利用した平滑筋細胞の収縮型形質転換機構の解析
○樋室 亮也、森田 亜希、木原 隆典
北九州市立大学大学院 国際環境工学研究科
- P-D-17 光刺激で微生物を活発化しバイオ水素生成促進の検討
○森長 熙¹、刘 知远²、楊 英男³
¹筑波大学 生物資源学類、²筑波大学 生命環境学群
- P-D-18 シリコン固定型光触媒担持ビーズの開発
○矢野 南珠¹、Sharma Aditya²、楊 英男³
¹筑波大学 生物資源学類、²筑波大学 生命産業科学、³筑波大学 生命環境学群
- P-D-19 Characteristics of Hydroxyapatite Microparticles Bound with Virus Capture Polymer
Yuhan Liu, Yasuhiro Nakagawa, Toshiyuki Ikoma
Department of Materials Science and Engineering, Tokyo Institute of Technology.
- P-D-20 Temperature-Dependent Structure Transition of Sarcosine-Based Bola-Type Amphiphilic Polypeptide
^{1,2,3}Mohamed S. Elafify, ²Nermeen A. Elkasabgy, ²Sinar Sayed, ^{1,4}Yoshihiro Ito, ^{1,4}Motoki Ueda
¹RIKEN Cluster for Pioneering Research (CPR); ²Department of Pharmaceutics and Industrial Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Cairo University; ³Department of Pharmaceutics

and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Menoufia University; ⁴RIKEN Center for Emergent Matter Science (CEMS).

- P-D-21 Micropattern-controlled chirality of focal adhesions regulates the cytoskeletal arrangement and gene transfection of mesenchymal stem cells
^{1,2}Yongtao Wang, ^{1,2}Yingjun Yang, ¹Toru Yoshitomi, ¹Naoki Kawazoe, ^{1,2}Guoping Chen
¹Research Center for Functional Materials/National Institute for Materials Science;
²Department of Materials Science and Engineering/University of Tsukuba.
- P-D-22 Collagen scaffolds with interconnected pore structures for cartilage tissue engineering
^{1,2}Yan Xie, ¹Naoki Kawazoe, ¹Yoshitomi Toru, ^{1,2}Guoping Chen
¹Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science;
²Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba.
- P-D-23 Nanoparticle Mediated Delivery of Crispr/Cas9 for Macrophage Polarization
Prem Singh Anant, Chinmaya Mahapatra
Department of Biotechnology, National Institute of Technology Raipur.
- P-D-24 Structurally-discovered KLF4 variants accelerate and stabilize reprogramming to pluripotency
^{1,2}Borisova, E., ²Nishimura, K., ¹An, Y., ^{1,2}Takami, M., ^{1,2}Li, J., ¹Song, D., ¹Matsuo-Takasaki, M., ¹Luijckx, D., ²Aizawa, ^{3,4}S., Kuno, A., ⁵Sugihara, E., ⁵Sato, T., ⁶Yumoto, F., ⁷Terada, T., ²Hisatake, K., ¹Hayashi, Y.
¹iPS cell advanced characterization and development team/RIKEN; ²Laboratory of Gene Regulation, Faculty of Medicine/University of Tsukuba; ³Department of Anatomy and Embryology, Faculty of Medicine/University of Tsukuba; ⁴School of Integrative and Global Majors/University of Tsukuba; ⁵Research and Development Center for Precision Medicine/University of Tsukuba; ⁶The Institute of Materials Structure Science, High Energy Accelerator Research Organization in Tsukuba; ⁷Department of Biotechnology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences/The University of Tokyo.
- P-D-25 Mechanomics Biomarker for Cancer Cells Unidentifiable through Morphology and Elastic Modulus
¹Zhang, H., ²Wang, H., ³Kano, J., ³Nakagawa, T., ³Noguchi, M.
¹Research Center for Advanced Material Characterization/National Institute for Materials Science; ²Research Center for Functional Materials/ National Institute for Materials Science, ³Department of Diagnostic Pathology/University of Tsukuba.
- P-D-26 Exploring the effect of viscosity on osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells on micropatterned surfaces

^{1,2}Jing Zheng, ^{1,2}Yongtao Wang, ¹Naoki Kawazoe, ^{1,2}Guoping Chen

¹Tissue Regeneration Materials Group, Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science, Tsukuba; ²Department of Materials Science and Engineering, Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba.

P-D-27 Green and sustainable photocatalytic disinfection by highly reusable immobilized TiO₂-based composite

^{1,2}Liu, N., ¹Yu, D.F., ²Yang, Y.N.

¹Department of Biomedical Engineering, Chengde Medical University; ²Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba.

P-D-28 Light stimulation strategy for promoting bio-hydrogen production in a hybrid-Fe bioreactor
Liu Zhiyuan, Zhu Yunxin, Yang Yingnan

Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba.

P-D-29 Enhanced bio-methane production via illuminated iron modified OLMZ fixed bioreactor during ammonium-rich anaerobic digestion

Sun Mingyuan, Liu Zhiyuan, Zhu Yunxin, Chen Yujia, Yang Yingnan

Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba.

P-D-30 Effective photocatalytic inactivation of novel Ag/Ag₂O/BiPO₄/Bi₂WO₆ composites for Escherichia coli: Mechanism and Applicability

Ming Jie, Sun Xiang, Yang Yingnan

Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba.

P-D-31 Growing of Bi₂WO₆ Crystal with Assistance of Graphene Oxide for Strongly Enhanced Visible-light Photocatalytic Water Disinfection

Ma Qiansu, Ming Jie, Liu Zhiyuan, Yang Yingnan

Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba.

P-D-32 Light-induced biomethane conversion from ammonium-rich feedstock Optimization and applicability

Zhu Yunxin, Liu Zhiyuan, Yang Yingnan

Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba.

P-D-33 Development of a solar-controllable reactor for high-efficiency photocatalytic wastewater treatment under real sunlight

C. Zhang, Y. Yang

Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba.

- P-D-34 Effect of oxygen vacancy and its quantity on H₂ evolution by using
P/Ag/Ag₂O/Ag₃PO₄/TiO₂ under solar light
Sun Xiang, Ming Jie, Yang Yingnan
Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba.
- P-D-35 Fabrication of Ag/Ag₂O/BiPO₄/Bi₂WO₆/g-C₃N₄ Z-scheme photocatalyst
Zhang Hongjian, Sun Xiang, Ming Jie, Yang Yingnan
Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba.
- P-D-36 Impact of Homogeneous Operation on Biomethane Production in Illuminated Anaerobic
Reactor
Chen Yujia, Yang Yingnan
University of Tsukuba, Degree Programs in Life and Earth Sciences.

特別講演セッション
/Plenary Lecture Session

つくばでの COVID-19

体外診断薬開発・評価における産学連携の成果 と新たなイノベーションに向けた模索について

筑波大学 医学医療系 臨床医学域 感染症内科学 教授
鈴木広道

感染症領域において、人の手を介さない全自動装置を用いた高感度、迅速かつ多項目同時病原体検出の重要性は認識されていたが、これらの発展は欧米諸国で大きく先行し、わが国では、長らく停滞してきた。

COVID-19 の流行で、病原体である SARS-CoV-2 検出に対して、医療機関のみならず、様々な現場において、検査の必要性が急速に高まり、行政の保険点数のみならず様々な補助に後押しされ、高感度病原体検査が我が国で急速に普及した。

今回、COVID-19 の中国での報告から、2022 年 1 月に至るまでの、わが国での体外診断用医薬品を中心とした SARS-CoV-2 検出試薬の承認・普及の経緯と、つくばにおける体外診断薬開発・評価における産学連携の成果について報告する。

今後の新たなイノベーションに向けた模索について、拝聴頂ける方々との将来的な共同研究への糸口になることを期待しております。

マラリア研究と医工連携イノベーション： オルガネラ制御を中心とした肝内型マラリア原虫の休眠・増殖分子基盤

国立感染症研究所・寄生動物部・第3室・室長

案浦 健

(Email: annoura@niid.go.jp)

感染症は、病気を引き起こす微生物（病原体）が体内に侵入し、定着することで症状を呈する病気のことであり、その病原体の種類・大きさによりウイルス、細菌、真菌、寄生虫などに分類される。2020年以降の新型コロナウイルス感染症の感染拡大により、全世界のほとんどの人が多大なる悪影響を受けており、病としての感染症の難しさのみならず、その制御には社会や経済などに影響するため、一般的に感染症の重要性が再認識される事態となった。

マラリアは、結核・エイズなどと共に世界中に蔓延する感染症の一つであり、赤道付近の熱帯・亜熱帯地域などを中心に広く流行し、様々な対策がなされているが制圧には至っていない。マラリアは、ハマダラカによって媒介される病原体である寄生虫（マラリア原虫）の感染に起因する疾患であり、年間の罹患者は2億人以上、死亡者は40万人以上にもおよぶ。特に、薬剤耐性の問題、ワクチン開発が難しいこと、また最近是人獣共通サルマラリアの感染が世界中から報告されるなど、マラリア対策はなかなか一筋縄ではいかない。さらに悪いことに昨今のコロナ禍の影響から、WHOは今後マラリアによる死亡者数と感染者数の増加を予想しており、非常に留意すべき疾患としてマラリアは位置づけられる。

このマラリアに対する治療薬やワクチンの開発は、様々な問題から特に困難を強いられる。その要因の一つとしてマラリア原虫が真核生物であることが挙げられ、複雑な生活環や巧妙な免疫回避機構を持つため、比較的シンプルな増殖を行うウイルスや細菌の場合よりも開発は難航している。

そこで本発表では、これらマラリアに関して概説するとともに、治療薬・ワクチン開発など現状について紹介させて頂き、最近のトピックとして重要な人獣共通感染症としてのサルマラリアや薬剤耐性に関する話題なども紹介させて頂く予定である。また、我々のグループで展開している研究内容についてもいくつか紹介させていただき、我々のチームとの連携に限らないマラリア研究への参画、様々な共同研究への可能性、特に医工連携イノベーションへの付与、「医工の橋渡しとなるような発表」を目標に講演させていただく予定である。

招待講演セッション1(産業技術総合研究所)
/Invited Lecture Session 1 (AIST Session)

産総研セッション：研究から社会実装へのロードマップ

¹産業技術総合研究所 生命工学研究領域 健康医工学研究部門
○鎮西 清行¹

つくば医工連携フォーラムでは、基礎的な研究と合わせて「つくば・茨城からの社会変革（イノベーション）」を重視してきました。その上で地元の企業の皆様にも参加いただき、企業との連合に意を砕いてきました。産総研の企画セッションでも、なるべく基礎的な話題と応用的な話題を組み合わせてきました。

基礎研究と社会実装を包括することは産総研の本来業務です。産総研では2020年から「ともに挑む。つぎを創る。」を「産総研ビジョン」として制定しています。

ともに挑む。つぎを創る。

未来をデザインし、社会と共に未来を創る。
互いを認め、共に挑戦する研究所を築く。



https://www.aist.go.jp/aist_j/information/aist_vision.html より

そのために産総研が日本全体のイノベーションエコシステムの中核になること、これに向けて産総研ブランドの確立を図ることを主眼とする「経営方針」を策定し、分野を横断する「融合ラボ」が設置されています。また社会実装の一手段として起業を一層活用することも打ち出されています。医療分野において著名な Biodesign の流れとも一致すると考えています。その一方、個々の研究者の日々の活動とキャリア形成との整合をうまく図らないと屍累々という結果が待っています。シーズを生む活動である基礎研究と、ニーズに立脚する起業活動との折り合いも考えていかねばなりません。

つくば医工連携フォーラム 2022 の産総研セッションでは、2040 年の将来ニーズから今取り組むべき基礎研究をバックキャストする産総研の融合ラボの取り組みと、研究者が事業家に転身した事例として、東大工学部の助教だった安藤先生が手術支援技術の分野で起業して M&A に至った（つくばではありませんが）柏の葉発の事例を紹介します。

医工連携によるユニバーサルメディカルアクセスの実現

¹ 国立研究開発法人産業技術総合研究所 健康医工学研究部門
(次世代治療・診断技術研究ラボ)

○丸山 修¹

我が国の平均年齢は男性 80.98 歳、女性 87.14 歳（2016 年）で年々延び、男女ともに世界最高水準に達している。2040 年には 100 歳以上の人口が 30 万人を超えると予想され、人生 100 年時代の到来が世界に先駆けて間近に迫っている。一方、健康上のトラブルによって日常生活が制限されずに暮らせる期間である健康寿命は、男性 72.14 歳、女性 74.79 歳（2016 年）の観点からみると、平均寿命との差は 10 年近く開いている。さらに、2018 年における 65 歳以上の人口割合である高齢化率は 28.1%であるが、2040 年には 40%に達し、現役世代 1.5 人で 65 歳以上の世代 1 人を支えることになるかと予想される。このように超高齢社会に突入する本邦において、我が国の働き手の減少による経済力低下、地域間の医療格差の拡大、医療費の増加など様々な問題に直面することが懸念されている。

このような背景のなか、2014 年に内閣府健康医療戦略本部において、「健康・医療戦略および基本計画」が策定され、この基本計画を受けて向かうべき方向性を示すために、2018 年に未来イノベーションワーキンググループが発足した。その中で、2040 年の本邦における健康・医療の理想的な姿が議論され、その中で「ユニバーサルメディカルアクセスの実現」といった目指すべき理想イメージの具体例が提唱された。ユニバーサルメディカルアクセスとは、誰もがいつでも、どこでも、どんな状況でも不安なく質の高い医療・介護にアクセスできる・提供できる究極の医療アクセシビリティの事を指す。

産総研ではユニバーサルメディカルアクセス実現に向けて、まず、短期的な目標として、わが国の死因上位の疾病を治療・診断する研究として、研究領域の専門性を越えた融合研究により、3つのテーマ、すなわち

- 1) 生体適合性に優れた高機能な医用材料や治療デバイスの開発
 - 2) 医療現場のアンメットニーズに応える次世代治療・診断機器の開発
 - 3) どこでも医療アクセス実現に資する簡便・迅速・高精度な体外診断デバイスの開発
- を設定した。これらのテーマを3本の柱とし、診断や医用材料を活用した治療に関わる技術及び機器の開発や、医療介入から回復期リハビリテーションまで活動的な心身状態を維持向上させる技術開発を進めている。

また、ユニバーサルメディカルアクセス実現を目指した長期的な目標として、次の2テーマの推進が必要であると考え、スタートした。

- 4) 医療の高度化（難治性疾患の克服）
- 5) 医療の自動化・遠隔化（治療・診断のタスクシフト）

上記の短期目標と併せ、この2テーマについては、図1に示すように、それぞれ独立に進めるのではなく、双方が相互に関連しながら、互いに向上することで医工連携によるユニバーサルメディカルアクセスの実現に貢献できるものと考えている。

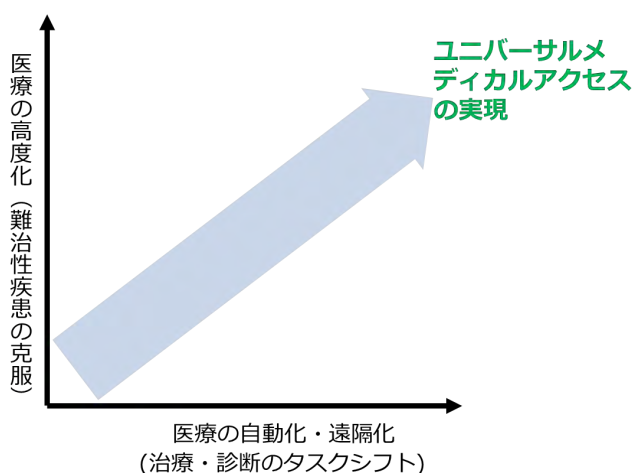


図1 ユニバーサルメディカルアクセス
実現を目指す長期的目標

招待講演セッション2(物質・材料研究機構) /Invited Lecture Session 2 (NIMS Session)

流動性足場設計に基づく細胞機能・運命操作技術の開発

物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点

○宇都 甲一郎、荏原 充宏

【緒言】近年、弾性やトポロジーなど細胞足場の構造力学的物性が発生、組織の再生、病気の発症などの生命現象と密接に関係していることが明らかにされつつある。それ故、生体内における複雑な細胞外環境を *in vitro* 系で実現できれば、細胞-材料間相互作用の分子・細胞生物学的な解明のみならず、より高度な細胞機能の制御・操作を可能にすることが期待される。本研究では、半結晶性高分子として知られるポリ(ϵ -カプロラクトン)(PCL)共重合体の結晶-非晶転移現象に着目し、「熔融液体」としての振る舞いを見せる流動性基材の作製およびその基材上での特異な細胞挙動について紹介する。

【実験】多価アルコールを開始剤とし、触媒としてオクチル酸スズを用いて窒素気流下で CL または D,L-ラクチド(DLLA)との開環共重合により分岐型の P(CL-co-DLLA)を合成した。得られたポリマーは、スピコート法によりガラス基板上に成膜化することで流動性基材を作製した。作製した基材上で細胞(マウス繊維芽細胞(NIH3T3)、ヒト肝癌細胞(HepG2)、ヒト間葉系幹細胞(hMSC)、マクロファージ(Raw-Blue)等)を用いた細胞培養実験を行い、基材の流動的性質が細胞機能(接着・形態・増殖・機能)に及ぼす影響について評価した。

【結果と考察】合成した分岐型 P(CL-co-DLLA)誘導体は、共重合体中の DLLA 組成により結晶性(融点)制御が可能である。レオロジー測定の結果、DLLA 組成が 40 mol% の P(CL-co-DLLA)は、培養条件下において損失弾性率が貯蔵弾性率をはるかに上回っており、「粘性液体」として振る舞う材料が得られることを明らかとした。この材料は、培地環境下においても比較的安定に存在することが確認されたため、流動的性質を有する培養基材として展開した。流動性培養基材上での細胞の振る舞いは、全く同じ材料から作製した固体基材と比較して顕著に異なり、多くの接着系細胞の接着伸展を抑制し、スフェロイド形成を促進させた(図 1)。この挙動は、化学修飾により達成される非接着性培養基材とは一線を画しており、分子量制御により流動性を変化させると接着形態や増殖等の細胞挙動が変化することが認められた。さらに、ヒト肺がん・乳腺がんを用いた培養系においては人為的な細胞老化の誘導やがん転移に関与する上皮間葉転換の抑制(図 1)、マクロファージの培養系においては炎症応答の抑制など、基材流動性(粘性)等の散逸的力学物性に基づく特異な細胞現象が確認され、細胞機能・運命操作を実現可能な培養基材であることが示唆された[1-3]。

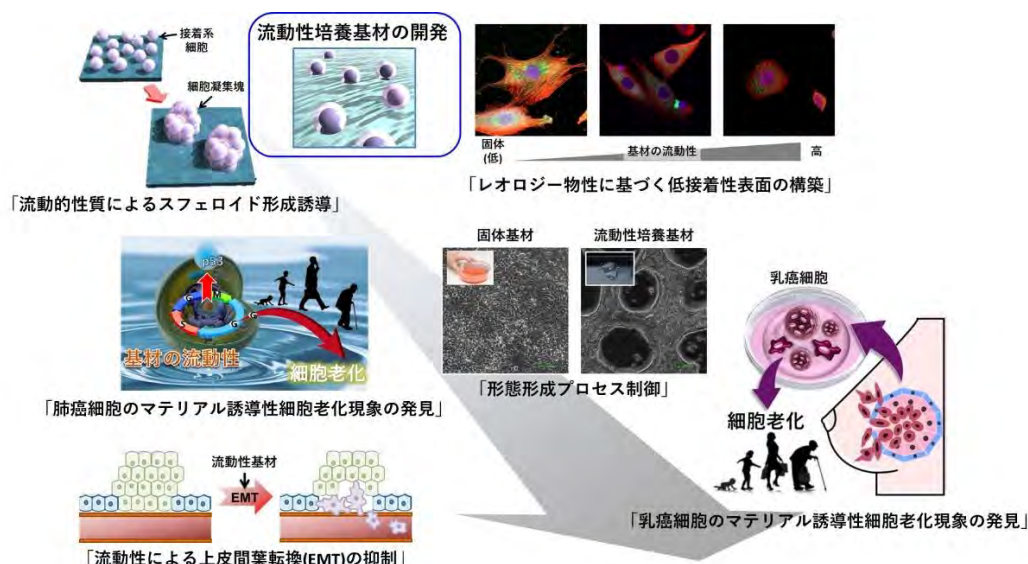


図 1. これまでの研究により見出された基材の流動的性質により起こる新奇な細胞現象

【参考文献】 [1] K. Uto, S.S. Mano, T. Aoyagi, M. Ebara, ACS Biomater. Sci. Eng. 201 6, 2, 226. [2] S.S. Mano, K. Uto, M. Ebara, Theranostics 2017, 7, 4648. [3] M. Najmina, K. Uto, M. Ebara, Polym. J. 2020, 52, 985.

四級アンモニウム基を有するポリカチオンを利用した蛍光組織マーキング剤の開発

¹物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点、²筑波大学 消化器内科、³筑波大学 消化器外科、⁴筑波大学 乳腺・甲状腺・内分泌外科

○吉富徹¹、小松義希²、松井裕史²、古屋欽司³

池田貴文²、星葵⁴、寺崎梓⁴、川添直輝¹、陳国平¹

消化管癌は、消化管の内側に存在しており、消化管の外側からは判別が不可能である。そこで、消化管癌の手術をする際、術前に内視鏡を用いてがん組織周囲に点墨（入れ墨）を行う。しかしながら、点墨は、組織との色の区別が困難であるだけでなく、組織内を拡散するため不明瞭なマーキングになることが多く、切除領域が広がってしまうことが問題となっている。特に、肛門に近い直腸の切除手術では、正常な組織をどれだけ残せるかによって術後の排便機能障害の程度が大きく変わってくるため、1cm でも多くの正常組織を残存させるために、ピンポイントマーキングマーキング技術が必要である。また通常、点墨の拡散を避けるため、投与翌日などに手術が行われることが多いものの、1週間程度の長期間のピンポイントマーキングが可能となれば、手術スケジュールを調整しやすくなるメリットがある。

そこで、我々は、図1に示す4級アンモニウム基を有するポリカチオン性ポリマーに蛍光色素ポルフィリンが結合した高分子材料を開発した（組織接着性ポルフィリン）。生体組織表面は負電荷を帯びており、この組織接着性ポルフィリンを組織に局所注射すると、多点静電的相互作用によって、長期間組織に接着する。導入したポルフィリンは、紫外光で励起することで、強い赤色の蛍光を発するため、容易に視認可能である。はじめに、組織接着性ポルフィリンの消化管組織内での組織接着性を調べるため、組織接着性ポルフィリンとコントロールとして低分子のヘマトポルフィリンをラット胃壁に局所注射した。低分子のヘマトポルフィリンは、投与一日後でさえ、投与部位において全く蛍光を検出できなかったのに対し、組織接着性ポルフィリンは、一週間以上組織をマーキングできることを確認した（図2）。またマーキングされた面積も、投与後一週間ほとんど拡散しなかったことから、組織接着性ポルフィリンによるピンポイントマーキングの可能性を示唆した。次に、内視鏡によるマーキングの際に、腹腔内に漏れだすことがあるため、本研究で開発した組織接着性ポルフィリンの腹腔内投与を行い、癒着および副作用の有無について調べた。投与された組織接着性ポルフィリンは、一週間後に腹腔内から消失し、癒着などの副作用をまったく引き起こさずに代謝されることを確認した。また腎臓や肝臓がダメージを受けた時に上昇する血液マーカー（尿素窒素、クレアチニン、及びトランスアミナーゼ活性）について調べたところ、正常マウスとの違いは全く見られなかった。これらの結果から、新規に開発した組織接着性ポルフィリンは、これまでにない安全で、長期ピンポイントマーキング可能な蛍光組織マーキング剤として期待できる。

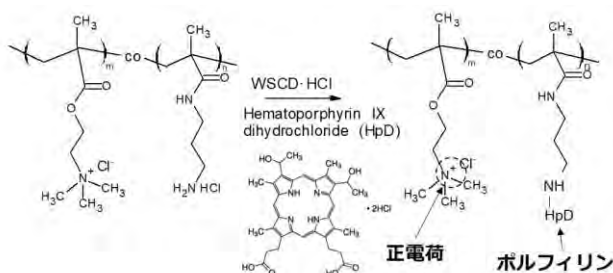


図1. 組織接着性ポルフィリンの合成スキーム。

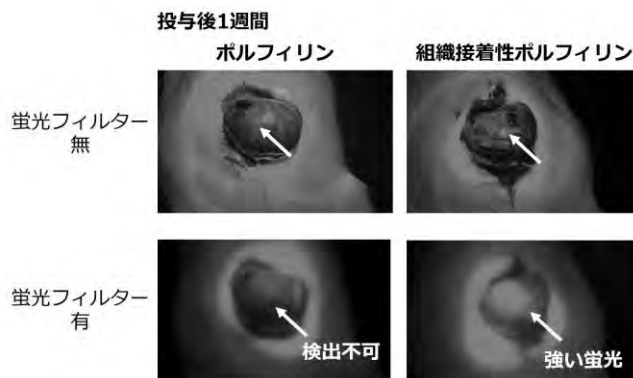


図2. ラット胃壁への局所注射一週間後に、365nmの光を照射した際の写真。白矢印は、局所注射部位を示す。低分子ポルフィリンでは、1日後でさえ蛍光シグナルが検出不可であった。一方、組織接着性ポルフィリンは、投与一週間経過後も、強い蛍光が観察できる。蛍光フィルター有の写真の中で、ポルフィリンの蛍光は白く表示される。

術後合併症の予防に向けた生体組織接着性粒子の創出

¹物質・材料研究機構機能性材料研究拠点, ²筑波大学大学院数理物質科学研究群, ³鹿児島大学大学院消化器疾患・生活習慣病学

○西口昭広¹, 伊藤椎真^{1,2}, 佐々木文郷³, 前田英仁³, 樺山雅之³, 井戸章雄³, 田口哲志^{1,2}

【緒言】内視鏡的粘膜下層剥離術（ESD）は、食道や胃、大腸などの消化器における早期消化管がんを内視鏡によって切除する低侵襲な治療法として注目を集めている。一方で、がん組織を含む粘膜下層剥離後、組織剥離部位で生じる収縮（瘢痕拘縮）による狭窄や出血、穿孔などの合併症が課題となっている。創部の保護を目的として、創傷被覆材が臨床で使用されているが、組織接着性が低い点、分解に伴う炎症が生じる点、創傷部への送達が難しい点などの課題がある。本研究では、消化器がん術後に起きる合併症を予防する多機能性粒子を創出することを目的とする（Figure 1） [1,2]。ゼラチンに疎水基を導入した疎水化ゼラチンからなるマイクロ粒子（hydrophobized microparticles, hMPs）を調製し、生体組織に対する接着性やミニブタ胃 ESD モデルにおける線維化抑制能、穿孔閉鎖能を評価した。

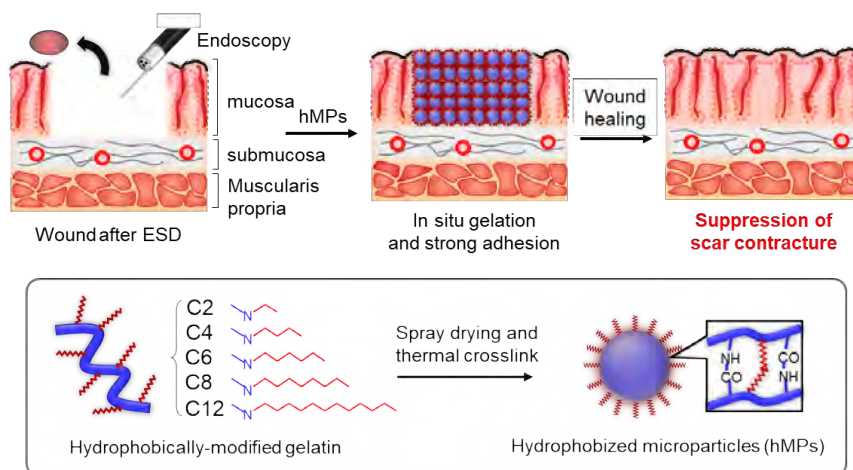


Figure 1. Schematic illustration of microparticle wound dressing of hydrophobically-modified gelatin.

【実験】ブタゼラチン（ $M_w=100$ kDa）あるいはタラゼラチン（ $M_w=40$ kDa）を脂肪族アルデヒド（C2~C12）と2-ピコリンボラン存在中で反応させ、疎水化ゼラチンを合成した。得られた疎水化ゼラチンをスプレードライ法あるいはコアセルベーション法で粒子化し、減圧下、 150°C で3時間熱架橋することで、hMPsを調製した。生体組織としてブタ胃組織を用い、炭素鎖長または導入率の異なる種々のhMPsの接着試験をASTM F-2258-05に従って評価した。また、ミニブタ胃ESDモデルを作製し、hMPsが創傷治癒に与える効果を組織学的評価によって検証した。さらに、ブタ十二指腸に欠損を作製したex vivo穿孔モデルを用いて、hMPsの穿孔閉鎖能の評価を行った。

【結果と考察】疎水化反応およびスプレードライ法によってhMPsが作製可能であった。導入する疎水基の鎖長によって疎水化率が制御可能であった。hMPsは、ブタ胃粘膜下層組織に対して強く接着し、未修飾粒子（Org）と比較して高い接着性を有していた。これは、粒子表面に露出した疎水基が細胞や細胞外マトリックス成分と相互作用したためであると考えられる。ミニブタ胃ESDモデルにおいては、潰瘍にhMPsを噴霧することで、創部が外部刺激から保護され、粘膜下層組織における線維化が抑制されることを見出した。さらに、ブタ十二指腸穿孔モデルに対する穿孔閉鎖効果を評価した結果、Org粒子と比較して2倍以上の高い耐圧強度を示した。内視鏡で送達可能な本材料は、消化管がん手術後の合併症を予防する医療材料としての応用が期待される。

- [1] A. Nishiguchi, F. Sasaki, H. Maeda, M. Kabayama, A. Ido, T. Taguchi, *Small*, **15**, 1901566 (2019).
- [2] S. Ito, A. Nishiguchi, F. Sasaki, H. Maeda, M. Kabayama, A. Ido, T. Taguchi, *Mater. Sci. Eng. C*, **123**, 111993 (2021).

招待講演セッション3(農業・食品産業技術総合研究機構)
/Invited Lecture Session 3 (NARO Session)

農研機構におけるシルクバイオマテリアル研究

農業・食品産業技術総合研究機構・生物機能利用研究部門
○神戸 裕介

カイコの繭の主成分であるシルクフィブロイン（SF）タンパクは、手術用縫合糸として臨床で用いられてきた実績があり、医療用、ライフサイエンス用素材として長年研究されている魅力的な素材である。

農業・食品産業技術総合研究機構（農研機構）では、カイコをはじめとする絹糸昆虫のタンパク産生能やそれらが産生するシルクの細胞親和性や力学特性を活用・改変することで、新たな医療用、ライフサイエンス用素材の創出に取り組んできた。

例えば、スポンジ構造へと加工した SF を足場材料として関節軟骨細胞を培養し、この細胞培養 SF スポンジをウサギ膝蓋骨軟骨全欠損モデルの軟骨欠損面に貼付すると、細胞培養 SF スポンジ由来の細胞が欠損面に移動することで軟骨再生が達成されることを見出した¹⁾。これには、組織再生の場を保護し得る SF スポンジの力学特性と SF 表面特異的な細胞の接着性²⁾や移動性³⁾が関与している可能性がある。また、遺伝子組換えカイコ技術⁴⁾によって細胞接着性 RGDS ペプチドや線維芽細胞増殖因子が融合した SF を作出し、機能性ペプチド・タンパクの活性を失うことなくスポンジ構造へと加工し、細胞足場材料として用いることにも成功している^{5,6)}。さらに、改変したアミノアシル tRNA 合成酵素を発現する遺伝子組換えカイコを用いることで、SF の特定のアミノ酸残基にアジド基を導入したクリック反応性 SF を作出し⁷⁾、SF フィルムをポリエチレングリコールで修飾することで細胞非接着性を付与することも可能となっている⁸⁾。

上記はシルクの特性を活用する、もしくは、特性を改変する取り組みである。一方で、世界に先駆けて確立した遺伝子組換えカイコ技術⁴⁾に基づき、大腸菌やチャイニーズハムスターオvary（CHO）細胞に代わる、組換えタンパク生産工場としてカイコを利用する研究も進んでいる。CHO-S 細胞によって産生されたヒトラミン 511E8 フラグメントタンパク（iMatrix-511、ニッピ製）を培養皿にコーティングもしくは培地に添加することで、ES/iPS 細胞のフィーダーフリー未分化維持培養が可能となるが⁹⁾、遺伝子組換えカイコによって産生された同タンパク（iMatrix-511 silk、ニッピ製）にも同様の効果があり、かつ、価格は 2 割程度安価になっている。なお、後者の試験研究用製品は、農研機構の特許技術を用いて開発された。

上記のごとく、農研機構では、特にカイコが産生するシルクの成形加工や機能解明・改変、また、カイコの機能解明・改変の知識や技術に基づいたバイオマテリアル研究開発を進めている。また、コイルドコイル構造を特徴とする、スズメバチが産生するホーネットシルク¹⁰⁾や天然繊維で最強と言われてきたクモ糸を凌ぐ力学特性を有するミノムシシルク¹¹⁾など、未知・未利用シルクに着目したバイオマテリアル研究も進めている。発表では、上記研究内容を時間の限り紹介する。

【参考文献】

- 1) Hirakata E, *et al.*, *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater*, 2016;104:1474-82.
- 2) Yamamoto K, *et al.*, *Biomaterials*, 2007;28:1838-46.
- 3) Otaka A, *et al.*, *Tissue Eng Part C Methods*, 2014;20:671-80.
- 4) Tamura T, *et al.*, *Nat Biotech*, 2000;18:81-4.
- 5) Kambe Y, *et al.*, *Biomaterials*, 2010;31:7503-11.
- 6) Kambe Y, *et al.*, *J Biomed Mater Res Part A*, 2016;104:80-91.
- 7) Teramoto H, *et al.*, *ACS Synth Biol*, 2018;7:801-6.
- 8) Teramoto H, *et al.*, *Molecules*, 2020;25:4106.
- 9) Miyazaki T, *et al.*, *Sci Rep*, 2017;7:41165.
- 10) Kambe Y, *et al.*, *Acta Biomater*, 2014;10:3590-8.
- 11) Yoshioka T, *et al.*, *Nat Commun*, 2019;10:1469.

医療材料としてのシルクフィブロイン

¹熊本大学・大学院先端科学研究部、²(株) チャーリーラボ
○新留 琢郎¹、徐 薇¹、佐々木 誠²

【緒言】

シルクフィブロインは繭糸の主要成分で、分子量約 37 万の繊維状タンパク質であり、分子の約 90%がグリシン、アラニン、セリンのような側鎖の小さいアミノ酸によって構成されている。シルクフィブロインはペプチド鎖が規則正しく並んだ結晶性の部分と不規則な非結晶性の部分から構成されており、これが高い引っ張り強度や伸展性に関わっている。古くから吸収性縫合糸としてもシルクは使われており、医療材料としての利用が期待されており、最近では再生医療のための足場材料などとしての開発が進んでいる¹⁾。本講演ではシルクフィブロインを生体適合性医療材料として冠動脈ステントに利用した例を紹介する。冠動脈ステントは心筋の動脈硬化を起こした血管を拡張し、血流を確保する医療機器である。現在は再狭窄を防ぐ薬剤をコートしたステンレスやコバルトクロム合金製のステントが使われている。しかし、これらステントは非吸収性のため、血液抗凝固剤を服用し続けなければならない、また、遅発性血栓症のリスクも残る。これらを解決するために、生体吸収性マグネシウム合金ステントの開発が期待され、その吸収速度をコントロールし、薬物を徐放し、さらに、生体適合性を付与する必要がある。これらを解決するために、シルクフィブロインを利用しようと着想した。

【実験】

冠動脈ステントとして、生体吸収性を有するマグネシウム合金製((株)日本医療機器技研製)を使用した。シルクは東京工業大学、朝倉哲郎教授から提供していただき、定法に従って精製し、フィブロインスポンジを得た。フィブロインはシロリムス(再狭窄を防ぐ薬物)と共にヘキサフルオロプロパノールに溶解し、超音波スプレー法でステント表面にコーティングした。マグネシウム合金の腐食は走査型電子顕微鏡観察および Mg イオンの放出、薬物放出は HPLC、細胞接着は光学顕微鏡観察により行った。

【結果と考察】

シルクフィブロインでコートしたステントを走査型電子顕微鏡で観察した結果、均一な表面となり(図1)、バルーンカテーテルで拡張しても、そのコーティング層は変形に追従し、クラックが入るなど異常は認められなかった。シルクフィブロイン層に添加したシロリムスも適度なスピードで放出され、マグネシウム合金の腐食速度もシルクフィブロインにより変化することはなかった。また、血管内皮細胞および血小板の接着を評価した結果、血管内皮細胞はシルクフィブロイン層へよく接着し、一方で、血小板の接着は少なかった。比較対象としてポリ乳酸(生体吸収性ポリマーとしてよく使われる)と比較しても高い生体適合性を持つことがわかった²⁾。

以上、柔軟で、高い薬物徐放能、さらには、高い生体適合性をもつシルクフィブロインは、冠動脈ステントの表面コーティング材以外にも、単独でフィルムやディスク、ロッド、糸などへ加工が可能である。創傷治癒のためのパッドや細胞足場材料としてはもちろん、さまざまな医療材料として利用できる可能性を秘めている。

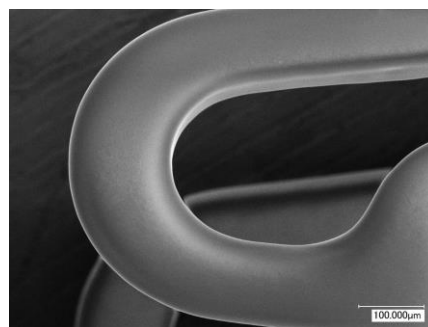


図1、シルクフィブロインでコートしたステントの表面

【文献】

1. W. Huang, S. Ling, C. Li, F. G. Omenetto, D. L. Kaplan, *Chem Soc Rev.*, **47**, 6486-6504, 2018.
2. W. Xu, K. Yagoshi, T. Asakura, M. Sasaki, T. Niidome, *ACS Appl. Bio Mater.*, **3**, 531-538, 2020.

招待講演セッション4(筑波大学つくば臨床医学研究開発
機構)/Invited Lecture Session 4 (T-CReDO
Session)

つくば医工連携フォーラム2020 セッション概要

機関名	筑波大学附属病院 つくば臨床医学研究開発機構
テーマ	"つくば"から始める医工連携の変革案
講演者様 お名前	安田 研一
ご所属	フリーランス
役職	元テルモ株式会社、元山口県産業技術センター・イノベーション推進センター 医療関連プロジェクトプロデューサー、一般社団法人日本医工ものづくりコモンズ 評議員、株式会社日本医工研究所 アクセラレーター、筑波大学つくば臨床医学研究開発機構 (T CReDO) リサーチスタジオ メンター、つくばグローバルイノベーション推進機構 (AMED 地域連携拠点自立化推進事業 事業化アドバイザー ほか
概要	<p>筑波大学セッションでは、本フォーラムの柱である「医工連携」に焦点をあて、特に医療機器開発における医工連携の現状と課題について取り上げます。国内大企業ならびに中小企業からの医療機器開発経験を有しており、更には、医療機関の医療従事者との連携および国立研究所の研究者との豊富な連携経験を有する医療機器開発コーディネーターである安田研一先生にご講演頂きます。</p> <p>筑波大学T-CReDOにおけるAMED次世代医療機器連携拠点整備等事業や橋渡し拠点人材育成事業 医療起業家育成プログラムResearch Studioでもメンターやアドバイザーとして関わって頂いている立場から、つくばにおける医工連携の在り方についてもご提案頂きます。</p>

つくば医工連携フォーラム 2022
シンポジウム④「“つくば”から始める医工連携の変革案」

フリーランス コンサルタント 安田 研一

【Abstract】

医工連携において広く行われている「ニーズ・シーズマッチング」は、医療従事者からニーズ課題（テーマ）が発信され、主にもものづくり企業がそれを聞いて解決策を提案するという「共創の場」であり、テーマの意義・魅力や企業の得意技術等を相互にわかり易く披露するために様々な工夫がなされている。それにも拘わらず、残念なことに実効性のある共創成果が生まれることは極めて稀である。

その要因を、「医療機器メーカーにあって医工連携にないもの」という観点から考えると、次のことに気づかされる。それは、どのように解決原理（作用メカニズム／動作原理）を発想し要素技術をどう拾い上げ結び付けるか、といった肝心な着想プロセスが、マッチングスタイルにおいてはエアポケット化してしまっていることだ。

医療機器開発は、世の中に存在する要素技術を如何に医療用アレンジ／コンバイン／インテグレートできるか、という側面を持っている。そして着想とは、アイデア、要素技術、コンセプトから、発散的思考と収束的思考を経て「最適な解決原理」を編み出すことである。これは特殊な能力であり、医療機器メーカーにおいてはコアコンピタンスであると同時に、実は最もワクワクするプロセスである。

医工連携においても着想プロセスを強化していくことがブレークスルーの一つの方向性と考えられ、これを別動隊（タスクフォース）が担って“処方”の形で解決原理をアウトプットし、候補となるものづくり企業に“白羽の矢”を立ててコンソーシアム化し、開発を伴走・フォローする、即ち、科学技術の知見が集積する“つくば”ならではの強みを活かし、マッチングスタイルから「処方＋白羽の矢」スタイルに変革することを提案したい。あわせて、国内総合医療機器メーカーでの研究開発・事業化や自治体での医療関連産業振興に携わった経験に基づく独自の視点より、医療機器開発の基本的な秘訣や医工連携における問題点についても言及する。

臨床ニーズ紹介セッション /Clinical Needs Introduction Session

つくば医工連携フォーラム2022 セッション概要

機関名	筑波大学附属病院 つくば臨床医学研究開発機構
テーマ	筑波大学臨床ニーズ発表会 & 筑波大学における医療機器開発支援の取り組み紹介
講演者様 お名前	野口 裕史
ご所属	筑波大学附属病院 つくば臨床医学研究開発機構
役職	整形外科 病院講師
概要	<p>これまで、2018年ならびに2020年の本フォーラムにて、筑波大学におけるニーズ探索活動について発表致しました。2019年度よりAMED次世代医療機器連携拠点整備等事業として本格的に活動していく中で、ニーズ調査、ニーズ・シーズマッチングの運営体制も整い、進捗も出ております。</p> <p>今回、上記マッチング活動の概要や事例をご紹介させて頂く共に、2020－2021年度に実施した医療従事者への医療ニーズ調査回答に基づいて、事務局で選抜したニーズリストを提示致します。時間の都合上、内数件のニーズのみご紹介致します。</p> <p>（個別のニーズに対するマッチングにつきましては、オンライン開催当日に実施予定はございません。事務局へご連絡頂ければ、後日改めて調整させて頂きます。予めご了承下さい。）</p>

筑波大学T-CReDO ニーズ一覧



No.	テーマ	
1	腹部術後患者の一過性イレウスに対して改善するためのデバイス	
2	経鼻胃管を意識障害時に容易に入れる/盲目的にベッドサイドで十二指腸まで誘導する工夫	
3	記載しやすく評価もしやすい頭痛日記	
4	大腸憩室出血に対する内視鏡的止血術に使用する専用の止血装置	
5	短時間でも見逃しを防げる経鼻内視鏡	
6	腹腔鏡下直腸手術専用のクランプ鉗子	■ 提案者に アイデアあり
7	バイタルモニタリングシステムの誤アラートの軽減	
8	インスリン製剤等の自己注入器の針をワンタッチで交換できるデバイス	
9	ストーマに簡便かつ適切に装着できるストーマ装具（面板・アクセサリ）	
10	胃管や尿バルーン等を自己抜去されにくくするデバイス	
11	皮膚トラブルに対応可能なギプス	
12	気管切開管理児童の在宅医療での安全（チューブ抜け）を担保する	
13	新生児にとって快適で、医療従事者には観察しやすい保育器内環境（照明）の提供	
14	新生児の頭蓋内圧亢進を客観的に評価するデバイス	
15	水頭症に対するシャント手術後のシャント機能のモニタリングデバイス	■ 提案者あり 連携企業あり
16	高齢者（特に認知障害者）の服薬管理	

2020年

2019年

ニーズNo,1



テーマ	腹部術後患者の一過性イレウスに対して改善するためのデバイス
背景	腹部手術後には腸管運動の低下に伴い、5-10%程度で腸閉塞となり、腹部膨満、腹痛、嘔吐を呈する。腸管内の内圧を下げるため、禁飲食や胃管/腸管チューブ等を設置する保存治療がある。
問題	縫合不全・腸管穿孔をきたした場合は緊急手術を要する場合がある。 嘔吐による肺炎のリスクがある。 入院期間延長が医療費の増大につながっている。
課題	術後の消化管の運動低下の時間を短くすること
方向性	
本ニーズに関連する既製品	医療機器：イレウス管、高圧酸素療法 医療機器以外：温電法 腸蠕動促進剤（便秘薬、漢方などの医薬品）
既製品では対応困難な理由	イレウス管は時として患者負担の大きく、また高圧酸素療法は施設が限定され、温電法は効果が限定的であるため。
関連する診療科等	消化器外科

ニーズNo,2



テーマ	経鼻胃管を意識障害時に容易に入れる/盲目的にベッドサイドで十二指腸まで誘導する工夫
背景	意識障害や麻酔中など、誤嚥のリスク低減や胃の内圧を下げる等の目的で、鼻からシリコン製チューブを経食道的に胃まで挿入する必要がある。意識がある患者であれば、嚥下してもらって誘導可能であるが、そうでない場合はチューブ先端を手動的に食道へ誘導して挿入することが多い（盲目的操作）。時に透視やエコー補助下での手技、内視鏡による誘導などを行う場合もあるが、煩雑である。経腸栄養用チューブでは、管を胃を越えて腸まで送達させる場合もある。
問題	経管栄養を行った場合、気管への誤挿入で死亡に至るケースもある。
課題	・意識障害時や麻酔中など、患者の嚥下ができない時に、経鼻胃管を容易に入れる工夫が求められている。 ・経鼻胃管を盲目的にベッドサイドで十二指腸まで誘導することは更に難しい。
方向性	
本ニーズに関連する既製品	既存の胃管チューブ（素材、太さ及び長さの異なる胃管カテーテルが上市されている） 挿入確認方法：聴診法、X線確認、透視下での挿入、エコー補助下挿入、ガイドワイヤー等によりコシをつける（穿孔のリスクも高まる）
既製品では対応困難な理由	上記の通り盲目的操作による留置が一般的である。既存の胃管チューブで挿入を試みると、時間と共にチューブのコシがなくなり、成功確率が落ちる。 また、既存の挿入確認方法について、聴診以外は緊急時も一定時間を要する点もデメリットである。
関連する診療科等	救急・集中治療科、脳神経外科、神経内科

ニーズNo,3



テーマ	記載しやすく評価しやすい頭痛日記アプリの開発
背景	頭痛日記は治療効果判定にも用いられておりその有用性は認められているものの、記載方法に統一性がない。
問題	医療者側は評価が煩雑になっている。また、患者も途中で飽きてしまい、継続が難しい。
課題	片頭痛など慢性頭痛では患者が記載する頭痛日記が診断にも治療効果判定にも有用であるが、紙の記載では記載方法に統一がなく評価しづらい。
方向性	
本ニーズに関連する既製品	参考；頭痛日記（紙に記載するアナログTypeやアプリケーションType） https://zutool.jp/ 「頭痛ーる」（頭痛関連情報提供サービス）
既製品では対応困難な理由	患者が飽きやすく、データの集積ができずメモ程度の位置づけとなってしまう。
関連する診療科等	脳神経外科、神経内科、総合内科

ニーズNo,4



テーマ	大腸憩室出血に対する内視鏡的止血術に使用する専用の止血装置の開発
背景	大腸憩室出血に対する内視鏡的止血術は、主に止血クリップによるクリッピングがメインで、その他、高張生理食塩水エピネフリンの局所注射等がある。ときに早期再出血例もあり、外科的手術が必要となったり、内視鏡後に憩室穿孔をきたす場合がある。
問題	病変が屈曲部にありクリップ困難、クリップの展開スペースがないことがある。
課題	小スペースでアプローチでき、クリップよりも高い操作性がある止血方法が求められる。
方向性	
本ニーズに関連する既製品	止血クリップ、高張生理食塩水エピネフリンの局所注射
既製品では対応困難な理由	クリップの展開スペースがないなどで、既存の手法展開が困難な場合がある。 クリップのバリエーションが限られている。
関連する診療科等	消化器外科、消化器内科

ニーズNo,5



テーマ	短時間でも見逃しを防げる経鼻内視鏡
背景	経鼻内視鏡の観察視野は狭く、全領域の確認が困難。 長時間の観察には患者の粘膜刺激が大きい。
問題	上記のように、従来の機器による検査は、見逃しのリスクが高い。 粘膜刺激による患者の疼痛の問題があり長時間検査に適さない。（また、医療者側もエアロゾル被爆のリスクを有する。）
課題	経鼻内視鏡のレンズが広角でなく、狭い鼻咽頭腔内では斜視鏡やflexibleファイバーが必要で、それでも見えず見逃してしまうことが出てしまう。長時間の観察により患者の鼻粘膜への刺激が長くなり、くしゃみなどでエアロゾル被爆を受け、感染防御の点でも問題が生じる。また、観察内容の記録の仕方にも課題を有する。
方向性	
本ニーズに関連する既製品	既存の経鼻内視鏡
既製品では対応困難な理由	上述
関連する診療科等	耳鼻咽喉科

ニーズNo,6



テーマ	腹腔鏡下直腸手術専用のクランプ鉗子
背景	腹腔鏡下直腸切除術の際、肛門側の腸管切離の前に腸管を遮断する鉗子（クランプ鉗子）を装着し、腸管内を洗浄する。これは切離時の癌細胞の散布を予防するうえで重要である。
問題	特に男性は骨盤が狭く、従来の鉗子では術野内でうまく装着できないことがある。
課題	本術式で使える従来の鉗子は、径1cmのポートから腹腔内に挿入できるものに限定されており、また操作性が限られている。
方向性	
本ニーズに関連する既製品	従来のくの字型のクランプ鉗子
既製品では対応困難な理由	1cmのポートから挿入するため従来の鉗子はくの字型であり、腸管が太い場合は装着が難しいため。
関連する診療科等	消化器外科

ニーズNo,7



テーマ	バイタルモニタリングシステムの誤アラートの軽減
背景	有線のバイタルモニタリングシステムではコードを触ったことによる物理的な刺激や、電極のずれ、患者の体動によって誤アラートが頻回に起きている。
問題	余計な業務や余計な心配が患者にかかると共に、医療従事者も真のアラートに気付きにくい。
課題	病棟やICUにおいて誤アラートが多く、その状況が常在化している。
方向性	
本ニーズに関連する既製品	医用テレメーター、モニタリング周辺機器、観血的モニタリング等
既製品では対応困難な理由	無線送達装置と体表電極の間にある程度の長さで導線が存在している。導線がないパッチは市場にほとんど存在していない（規制上の問題？）。
関連する診療科等	循環器内科、救急・集中治療科、循環器外科

ニーズNo,8



テーマ	インスリン製剤等の自己注入器の針をワンタッチで交換できるデバイス
背景	インスリンなど自己注射用針は一回ごとに廃棄する必要がある。
問題	針の着脱操作によって針刺しリスクがある。
課題	針の取り付け操作がワンタッチではないため、高齢者や上肢機能が低下している患者にとっては煩雑である。
方向性	
本ニーズに関連する既製品	インスリン注入器用注射針各種 (参考：近年では、使用量が一定の薬剤については、1回使い切りのオートインジェクタータイプも登場している。 https://dm-rg.net/news/2015/09/017198.html 薬剤量を自己調節する従来型の製品はいずれも針の交換を要する。)
既製品では対応困難な理由	針の取り付け操作が煩雑 誤操作で針刺し事故が生じない工夫が足りない（安価な製品なので余計なコスト・改良がかけづらい）
関連する診療科等	内分泌・代謝・糖尿病内科、内科

ニーズNo,9



テーマ	ストーマに簡便かつ適切に装着できるストーマ装具（面板・アクセサリ）
背景	ストーマ装具と体表に隙間があると糞便が漏出してしまふ。
問題	ストーマからでる糞便を受けるためのパウチをストーマに留めるためには、面板（シール）を体表の形状に合わせて適宜調整してカットする必要がある。（追加でパテ等で補填することもある。）
課題	ストーマを有する患者は、常に自身のストーマに併せて、ストーマ装具面板をカットしたりパテ等でパウチを固定しなければならないが、各々でカット等に調整が必要であり、慣れや技術の習熟を要する。
方向性	
本ニーズに関連する既製品	既存のストーマ 周辺製品 （プレカット製品もあるが、アクセサリの皮膚保護剤等を駆使した自己調整が必要）
既製品では対応困難な理由	少しでも隙間があると糞便が漏出する。マニュアルで個々に工夫した方が汎用性が高いが、一方で用意やカット操作は煩雑になってしまう。
関連する診療科等	消化器外科

ニーズNo,10



テーマ	胃管や尿管等自己抜去されにくくするデバイス
背景	認知症やせん妄状態の患者さんは、点滴や胃管、尿管等などが医学的に必要であっても、必要性を理解することができず自己抜去されてしまう可能性がある。脱落防止のため、通常皮膚にテープを貼ったりして適切な位置で固定しているが、一時的に体内留置する前提のため、患者自身で容易に抜去可能である。
問題	抜去操作に伴う出血や組織損傷のリスクとなる。（点滴の留置針抜去時は止血のための圧迫が必要であり、また尿管は膀胱内に固定するために水で膨らませたバルーンが中途に存在しており、強制的に抜くと尿道を傷つける。）
課題	患者さんにとって点滴や胃管、尿管は違和感や痛みを伴う。 認知症やせん妄状態の患者さんにとって、通常のライン固定は容易に抜去可能である。
方向性	
本ニーズに関連する既製品	・ 既存の点滴、胃管、尿管 ・ 看護士による監視、四肢体幹の抑制帯による体動制限、鎮静薬や鎮痛剤の使用
既製品では対応困難な理由	留置に伴う違和感が強い。 その他の対応についてもやや非人道的な要素が含まれる（そのために同意取得を要する）。
関連する診療科等	泌尿器科、内科・外科一般（全入院患者が対象となりうる）

ニーズNo.11



テーマ	皮膚トラブルに対応可能なギプス
背景	骨折治療で使用するギプスは短期間で着脱できない。（一般的には2-4週間程度の期間装着している必要がある。）骨折部がずれないように（整復位を保つため）体表に密着させる必要があり、皮膚と異物の接触は避けられない。汗や入浴等によって、水が入ると蒸れてしまう。
問題	骨折治療を優先するために、皮膚トラブルについてはやむを得ないと判断されている。仮に皮膚トラブルが生じていても、外すまで確認できず、治療介入もできない。
課題	ギプス内の皮膚の状況がわからない。 従来のギプスは皮膚トラブルが生じやすい。
方向性	
本ニーズに関連する既製品	既存のギプス治療 ；ブルーラップ（一般には、ストーキネット（薄い布）、綿包帯（クッション性高い）、ギプス包帯（ガラス繊維強化プラスチックや石膏）を巻いて実施する。） 参考；3Dプリンターによる次世代ギプス https://prtimes.jp/main/html/rd/p/000000063.000006663.html
既製品では対応困難な理由	スキントラブルの原因になる血行不良、皮膚状態が目視では判断できない。（患者の訴えのみ）
関連する診療科等	整形外科

ニーズNo.12



テーマ	気管切開管理児童の在宅医療での安全（チューブ抜け）を担保する
背景	小児在宅医療において、気管チューブによる呼吸管理を行っている患者がいる。しかし、気管チューブは予期せず抜けてしまうことがあり、窒息による死亡につながる。よって、気管チューブの位置異常を検出し、アラートするシステムが不可欠である。 アラートシステムとしては、CO2カプノモニターが望ましいが、価格・サイズの制約から、SpO2モニターが小児在宅医療では一般に用いられている。しかし、SpO2モニターは気管チューブの位置異常を速やかに反映するには感度が不十分である。
問題	気管チューブの位置異常検出が遅れたために、死亡したケースも存在する。 気管チューブの異常を迅速に検出し、呼吸器関連によるトラブル（死亡）を防ぐ必要がある。（誤アラートも頻回に混じっており、真のアラートへの対応が遅れが生じる可能性がある。）
課題	迅速簡便なチューブトラブルのモニタリング方法がない。
方向性	
本ニーズに関連する既製品	CO2カプノメータ、SpO2モニタ チューブ固定強度を向上させる補助具（固定方法を工夫してもチューブ抜けのリスクがある）
既製品では対応困難な理由	上述の通り
関連する診療科等	小児科、新生児科、在宅医療

ニーズNo.13



テーマ	新生児にとって快適で、医療従事者には観察しやすい保育器内環境（照明）の提供
背景	<p>NICUに入院している早産児は、本来はまだ子宮内にいる時期であり、低出生体重児は光に敏感です。出産時期が早いほど、この傾向が顕著となる。</p> <p>その一方で、単純に光量を落とすだけでは十分ではなく、過剰な光刺激を受けないようにバスタオルや布製のカバーを保育器に覆って従来対応している。</p> <p>参考；一定の光波長条件が児の成長に影響する等のデータあり (https://www.nikkei.com/article/DGXNASDG2504H_X20C13A4CR8000/) https://www.draeger.com/ja_jp/Hospital/Departments/Neonatal-Care/DevelopmentalCare/Light)</p>
問題	<p>早産児の成長が妨げられる可能性がある。</p> <p>> 早産児の治療にあたる医師や看護師は中の患児の様子が常時観察しにくい。</p>
課題	早産児の成長を妨げない工夫が必要（暗さ、一定の波長）。一方で、医療従事者からは中の様子が良く観察できて処置等に困らない（外からは明るく）保育器内環境が求められる。
方向性	
本ニーズに関連する既製品	バスタオルや布製のカバー、NICU設備としての照明設備の工夫
既製品では対応困難な理由	バスタオルや布製のカバーの慣習は存在するが、美観的に見苦しく使い勝手の問題あり。NICU設備としての照明設備の工夫は特殊機関のみであり、一般化できない。
関連する診療科等	新生児科

ニーズNo.14



テーマ	新生児の頭蓋内圧亢進を客観的に評価するデバイス
背景	<p>NICUに入院する病的新生児の中には、脳出血から水頭症を発症する症例がまれに発生する。手術適応は、画像上での脳室拡大の程度や、大泉門の触診で「張り具合」で判断するなど、主観的な評価に依存している。</p> <p>（成人救急領域では、視神経鞘径と頭蓋内圧の関連が報告されており、水頭症などによる頭蓋内圧亢進の診断に眼球超音波検査が試みられているものの、新生児に安全に活用できる検査機器が存在しない？）</p>
問題	新生児の診察時に、病的頭蓋内圧亢進が見逃されて介入が遅れる。手術適応の判断に差が出て、必要な治療介入が遅れる場合がある。
課題	新生児の頭蓋内圧亢進の手術適応について、客観的に非侵襲に評価する方法がない。
方向性	
本ニーズに関連する既製品	<p>上記のような用手的な診断評価のみ（既存製品なし）</p> <p>参考；信州大学発で耳孔から圧センシングするデバイスの開発事例あり（小児への適応は不明） https://www.med-device.jp/development/org/30-029.html</p>
既製品では対応困難な理由	－
関連する診療科等	小児科、新生児科、脳神経外科

ニーズNo.15



テーマ	水頭症に対するシャント手術後のシャント機能のモニタリングデバイス
背景	水頭症に対する脳室腹腔短絡（シャント）管設置術は、脳室に過剰に貯留した脳脊髄液を腹腔内につないだチューブから廃液することで症状を軽減される治療として、長らく使用されてきた手術法である。一部の水頭症に対しては、最近になり神経内視鏡治療も応用されてきているが、多くの患者が短絡管を長期に必要としている。 シャント手術の合併症として、1) シャントバルブの機械的問題、2) 髄液の流量不足と流量過多の機能的問題、3) シャント感染に分類される。 シャント合併症の頻度は、1年で40%、2年で50%、10年で70%、一方、初回のシャントが機能する確率は5ヶ月で74%、1年で60%、10年で30%である。
問題	短絡管に問題が生じると、場合によっては、数時間程度でも重篤な障害を残したり、死に至ることもある。特に小児ではシャント合併症の約半数を「閉塞」が占める。シャント閉塞は術後1年以内に発生することが多く、年少者に多く見られる。閉塞した場合は再度手術を要する。閉塞の原因としてシャントバルブの機械的閉塞、脈絡叢や残骸による脳室側カテーテルの閉塞、腹側チューブの膜様組織による閉塞と成長に伴う腹側チューブの腹腔からの逸脱などがある。シャント閉塞の一般的な症状は年齢により異なるが、年長児では頭蓋内圧亢進症状を示し、乳児では易刺激性、食欲低下、頭囲拡大、睡眠障害などを認める。 (参考: https://square.umin.ac.jp/neuroinf/medical/601.html)
課題	短絡管の完全な機能不全が生じる前に、機能不全を感知する必要がある。
方向性	
本ニーズに関連する既製品	存在せず (閉塞時の症状の変化、水頭症の再燃等で判断される。)
既製品では対応困難な理由	—
関連する診療科等	小児科、新生児科、脳神経外科

ニーズNo.16



テーマ	高齢者（特に認知症患者）の服薬管理
背景	一人暮らしの世帯、日中独居の高齢者世帯が増えてきている。こういった方の中には、加齢とともに徐々に認知症が出てくることがある。一方で、家族と同居していないと認知症と判断されにくく、服薬の管理状況も把握しにくい。
問題	処方したものを服薬していないことにより、医療者側にとっては、治療の効果判定が適切にできないことで診断・治療に難渋する場合がある。患者側にとっては、適切な治療を受けられない可能性があったり、不必要に処方が増えて思わぬ様々な副作用を生じるリスクとなる。
課題	患者の服薬状況を適切に把握するすべがない。（服薬状況を確認することで、薬効を適切に判断することが可能となり、投薬量の調整、変更の判断が容易になる。）高齢者にとっては、内服する補助が必要である。
方向性	
本ニーズに関連する既製品	服薬管理デバイス・ツールは各種存在しているが、一長一短あるためかあまり普及していない。
既製品では対応困難な理由	要検討
関連する診療科等	各種診療科

一般口頭発表
/General Oral Presentation Session

バイオマテリアル利用を指向したシルクフィブロインの炎症性に関する研究

¹東京農工大学・大学院工学府生命工学専攻、²日本医科大学・循環器内科、
³防衛大学校・応用化学科

○中澤 靖元¹、山本 絢音¹、久保 穂菜美¹、太良 修平²、中澤 千香子³

【緒言】

現在用いられているバイオマテリアルは、分解性や物性の制御が容易な上、成形性の高さから合成高分子が多く用いられている。しかしながら合成高分子には、分解産物に対する毒性や異物反応、低い細胞親和性などを課題として有している。特に炎症性の制御は材料の材料設計・作製の開発は極めて有用である。シルクフィブロイン (SF) は、重篤な生体反応を惹起しない低炎症性であることが報告されていることから新規バイオマテリアルとして期待されている。一方で SF の低炎症性を示す構造的メカニズムは未だ不明な点が多い。炎症性メカニズムの詳細を解明することは、SF を基盤としたバイオマテリアルの合理的な設計指針となることが期待される。

そこで本研究では、SF の一次構造に着目した。SF が有する代表的なモチーフである、結晶領域(AGSGAG)_n と半結晶領域(AGYGAG)_n に基づくモデルペプチドを合成し、炎症性をそれぞれ評価することで、SF の一次構造と炎症性の関係性について検討を行った。

【実験】

各種 SF 水溶液は、操糸した家蚕繭を 0.02M NaCO₃ 水溶液で精練し、9 M LiBr 水溶液に溶解後透析することで調整した。また、SF モデルペプチドについては、Fmoc 固相合成法により合成し、精製後、刺激物質として使用した。炎症性試験は、RAW 264.7 マウスマクロファージ細胞 (MΦ) による炎症性サイトカインの mRNA 定量により実施した。MΦ は、37°C、5%CO₂環境下で 1.0×10⁵ cells/well となるよう播種し、24 時間培養後、各種 SF 水溶液およびモデルペプチド水溶液を添加後、1、3、6、24 時間後の MΦ から産生された炎症性サイトカイン (TNFα、IL-1β、IL-6) の mRNA 量を RT-PCR により定量した。

【結果と考察】

SF 水溶液を添加後の MΦ における TNF-α および IL1-β の遺伝子発現量は低値であり、培地のみを添加した群と同等の値を示した。そこで、SF 一次構造の差異による炎症性の影響を検証するため、SF 一次構造の代表的なモチーフである、①結晶性領域(AGSGAG)₂、②半結晶領域(AGYGAG)₂ を合成し、SF 水溶液と同様の評価を実施した。その結果、Ser 残基を含有する(AGSGAG)₂ 添加群と比較して、Tyr 残基を含有する(AGYGAG)₂ 添加群は、炎症性サイトカイン発現量が低値であることが明らかとなった。

さらに、ゲノム編集技術により、通常 SF と比較して、結晶性領域配列を減少させた SF を用いることにより炎症評価を実施した結果、通常 SF と比較して IL1-β の発現量が低値であった。この結果は、モデルペプチドの傾向を支持するものであり、SF のモチーフは、低炎症性に何らかの影響を及ぼしていることが推測される。

【謝辞】

本研究は一部、JST 研究成果最適展開支援プログラム (A-STEP) 産学協同 (本格型) (課題番号 JPMJTR214A) により実施した。

また、本研究で用いたゲノム編集シルクフィブロインをご提供くださった、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 亀田恒徳氏・高須陽子氏に感謝申し上げます。

がんセラノスティクスに向けた Bi(III)/Eu(III)置換水酸アパタイトナノ結晶の作製

¹東京工業大学・物質理工学院・材料系

○中川泰宏¹、松本健太¹、生駒俊之¹

【緒言】

癌の治療には早期診断・早期治療が重要であり、これらを同時に実現するセラノスティック技術が新しいがん治療戦略として注目されている。セラノスティック技術の実現に向けて、セラノスティック材料の低い生体適合性の解消が臨床応用に向けた課題となっている。本研究では、生体適合性の高いセラノスティック材料として、放射線増感剤として Bi(III) を、バイオイメージング用蛍光元素として Eu(III) を共置換したハイドロキシアパタイト (HAp) ナノ結晶を作製し、がん細胞のターゲティングリガンドである葉酸 (FA) を表面的に修飾した (FA-Bi/Eu-HAp)。

【実験】

水熱合成法により、Bi(III) (Ca サイトに対して 1、5、10%) および Eu(III) (Ca サイトに対して 0、3%) の置換率を持つ Bi-HAp および Bi/Eu-HAp を作製し、結晶性、形態、流体力学半径、表面特性、蛍光特性などを X 線回折 (XRD)、走査型電子顕微鏡 (SEM)、動的光散乱 (DLS)、フーリエ変換赤外分光 (FT-IR)、フォトルミネッセンス分光器、誘導結合プラズマ発光分光 (ICP-OES) によりそれぞれ評価した。3-アミノプロピルトリエトキシシラン (APTES) を用いて HAp 表面に葉酸 (FA) を修飾し、がん細胞に対する標的能を付与し、同様に、形態、流体力学半径、表面特性、蛍光特性について評価した。FA 修飾前後の Bi-HAp および Bi/Eu-HAp について、ヒト肺胞上皮がん (A549) に対する細胞取り込みを共焦点レーザー顕微鏡にて、細胞毒性、ガンマ線による細胞死をトリパンブルー染色にて評価した。

【結果と考察】

作製した葉酸修飾 HAp (Bi1-HAp, Bi5-HAp, Bi10-HAp, Bi5/Eu3-HAp, FA0.2-Bi10-HAp, FA0.4-Bi10-HAp, FA0.2-Bi5/Eu3-HAp) は棒状のナノ結晶であり、HAp 格子の Ca サイトに Bi(III) と Eu(III) が置換していることを確認した。表面が未修飾の HAp ナノ粒子のゼータ電位は負であったが、APTES 修飾による負のゼータ電位の減少を、FA 修飾による負の電荷の増加を確認した。Eu(III) を置換した HAp は蛍光特性を示した。共焦点顕微鏡を用いた取り込み試験では、APTES 修飾、FA 修飾した HAp 粒子は未修飾 HAp と比して高い細胞取り込み量を示した。FA 修飾した HAp が最も高い取り込み量を示した。γ線照射による細胞死減率は Bi(III) の置換量と FA 修飾量に応じて増加し、Bi-HAp ナノ結晶では最大 62% の細胞毒性を示した (Fig. 1(i))。Bi と Eu を置換した HAp ナノ結晶も同様に、FA 修飾が γ線照射による細胞死率を向上させる結果を得た (Fig. 1(ii))。これらの結果は、Bi(III) と Eu(III) を置換した HAp ナノ結晶が優れた生体適合性を有しながら蛍光特性・γ線照射応答細胞傷害性を達成するものであり、蛍光による新規セラノスティック材料としての潜在的機能を示すものである。

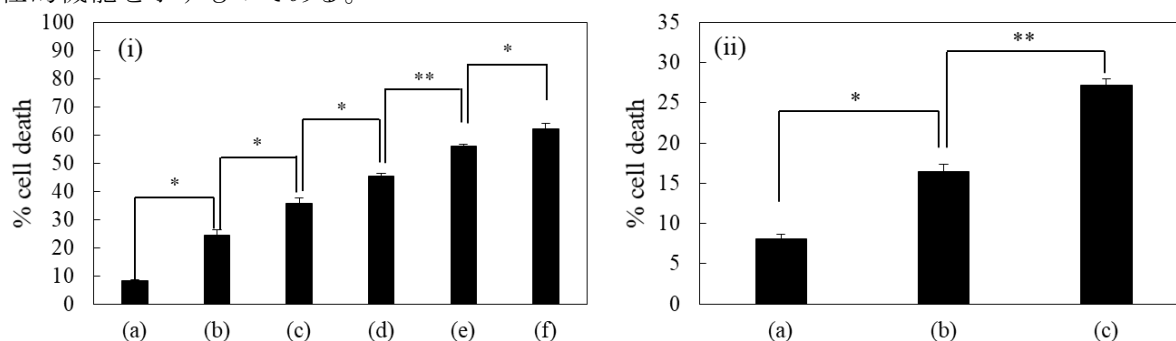


Fig. 1 (i); Cell death rate of (a); control (b); Bi1-HAp (c); Bi5-HAp (d); Bi10-HAp (e); FA0.2-Bi10-HAp (f); FA0.4-Bi10-HAp after 5 Gy of gamma ray irradiation were assessed in A549 cell line. (ii); Cell death rate of (a); control (b); Bi5/Eu3-HAp (c); FA0.2-Bi5/Eu3-HAp after 5 Gy of gamma ray irradiation.

末梢静脈穿刺を容易にする駆血方法の評価 － 血管断面積の比較 －

¹国立研究開発法人 産業技術総合研究所・健康医工学研究部門、²静岡県公立大学法人 静岡県立大学・看護学部、³株式会社テクノサイエンス

○山下 樹里¹、小関 義彦¹、倉本 直樹²、渡邊 順子²、葭仲 潔¹、高野 順³

【緒言】

末梢静脈路（いわゆる点滴ルート）の確保は日常的に行われる手技であるが、初回穿刺での成功率は 30～70% [1] と技能レベルの差が大きい。そこで、2 種類の駆血方法の影響を評価するため、穿刺対象血管選定過程・模擬穿刺動作計測実験を行った。なお、本実験は東京大学大学院医学系研究科・医学部倫理委員会 非介入等研究倫理委員会（2020244NI）および静岡県立大学研究倫理審査委員会（令和 2 年 2-7）として承認されている。

【実験】

- ・実験協力者：2020 年度に、2 名 1 組の看護師ボランティア 9 組（18 名）（20 代 8 組 16 名、40 代 1 組 2 名、全員女性、各上肢につき 1 試行を実施、計 36 試行）に協力いただいた。
- ・実験方法：実験協力者の各組について、術者役・看護師役・穿刺対象前腕の左右・駆血方法（ゴム駆血帯（タイヨウ社 Ttq-100-1）、またはゴム駆血帯と中枢側に血圧計カフを追加した 2 段階駆血のいずれか）を実験実施者がランダムに指定した。術者役が患者役に駆血した後、2 分以内に穿刺対象血管・穿刺位置を決定し、模擬留置針（先細綿棒）で穿刺動作を模擬し、穿刺対象血管の走行を示した（図 1 参照）。また、血管触知度を口頭で答え（0～3 の 4 段階）、看護師経験年数・穿刺頻度等をアンケートにて回答した。模擬穿刺の様子を近赤外線（IR）カメラ（アートレイ社 ARTCAM-130XQE-WOM）2 台にて撮影し、示された穿刺位置での超音波断層（US）画像（GE ヘルスケア・ジャパン社 V-Scan Extend R2）を駆血状態・駆血解除 5 分後に撮影した。

【結果と考察】

- ・穿刺予定位置での US 画像から、穿刺対象血管の断面積・皮膚表面からの深さを計測した。IR カメラ画像から、血管選定過程を観察し、また模擬留置針の穿刺位置・角度を計測中である。
- ・選定された血管の深さと断面積に強い正の相関が見られた（図 2）。なお、血管深さ・断面積と、実験協力者の年齢・経験年数・駆血方法とは相関が見られなかった。
- ・留置針の断面積は、例えばテルモ社 シュアシールドサーフロー II 22G では 0.6mm² 以上ある。さらに、内針・外筒カテーテルが血管に斜め（10～30 度）に入ることとを考慮すれば（図 3）、刺入に適した血管内腔の断面積は最低でも 1～2 mm² が必要であると言える。しかし、2 mm² 以下の細い血管を選定した実験協力者が 7 名存在した（すべて 20 代、36 試行中 10 試行）。これは文献値 [1] と矛盾せず、点滴に適さない浅く細い血管を選定してしまっている術者の存在を示唆するものである。



図 1 IR カメラ画像イメージ
表在血管が強調される

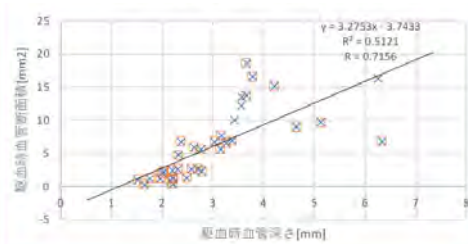


図 2 駆血時 穿刺予定位置の血管深さ
・断面積 赤枠は 20 代実験協力者



図 3 留置針先端寸法例

【謝辞】

本研究の一部は、令和 2 年度静岡県先端企業育成プロジェクト制度により実施した。

【参考文献】

[1] 炭谷 正太郎, 渡邊 順子. (2010). 点滴静脈内注射における留置針を用いた血管確保技術の実態調査 新人・中堅・ベテラン看護師の実践の比較. 日本看護科学会誌, 30(3), 61-69.

Mammary tumor organoid culture in alginate for drug screening

¹*Hongxu Lu, ¹Guocheng Fang, ²David Gallego-Ortega

¹*Institute for Biomedical Materials and Devices, ²School of Biomedical Engineering, University of Technology Sydney, 15 Broadway Ultimo, New South Wales 2007 Australia*

Corresponding author: hongxu.lu@uts.edu.au

Mammary tumor organoids have become a promising *in vitro* model for drug screening and personalized medicine. However, the dependency on the basement membrane extract (BME) as the growth matrices limits their comprehensive application. In this work, mouse mammary tumor organoids were established by encapsulating tumor pieces in non-adhesive alginate. High-throughput generation of organoids in alginate microbeads was achieved utilizing microfluidic droplet technology. Tumor pieces within the alginate microbeads developed both luminal- and solid-like structures and displayed a high similarity to the original fresh tumor in cellular phenotypes and lineages. The mechanical forces of the luminal organoids in the alginate capsules were analyzed with the theory of the thick-wall pressure vessel (TWPV) model. The luminal pressure of the organoids increased with the lumen growth and could reach 2kPa after two weeks' culture. Finally, the mammary tumor organoids were treated with Doxorubicin and latrunculin A to evaluate their application as a drug screening platform. It was found that the drug response is related to the luminal size and pressures of organoids. This high-throughput culture for mammary tumor organoids may present a promising tool for preclinical drug target validation and personalized medicine.

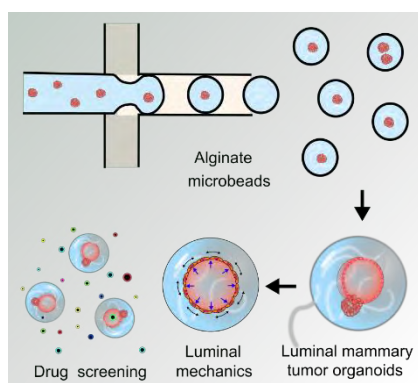


Figure 1. Mammary tumor organoids culture heavily relies on basement membrane extract hydrogels. Herein, non-adhesive alginate is found to be a good candidate for the culture of mouse mammary tumor organoids. Alginate microbeads generated by microfluidic droplet technique enhance the organoid's yield and are further used for luminal mechanics and high-throughput drug screening.

Engineering Carbene Crosslinked Dendrimer Bioadhesives for Future Clinic

Himansu Sekhar Nanda^{1,*} and Terry W J Steele²

¹*Biomedical Engineering and Technology Lab, Mechanical Engineering Discipline, PDPM-Indian Institute of Information Technology, Design and Manufacturing Jabalpur 482005, MP, India*

²*School of Materials Science and Engineering, Nanyang Technological University, 50 Nanyang Ave, Singapore 639798 Singapore*

*Presenting author: himansu@iiitdmj.ac.in

Abstract

Biomedical engineering has attracted a wide range of materials for their potential application in regenerative therapies, drug delivery, tissue engineering and so on. Among those, functional polymers, approved from Food and Drug Administration (FDA) are of specific interest for the design, development, and manufacturing of medical grade glues called bioadhesives or tissue adhesives. Clinical grade bioadhesives offers a new route in addressing the unmet surgical challenges in tissue healing and sealing. The recent development, pre-clinical applications and the potential clinical challenges of novel UV and electroactive bioadhesive formulations prepared by grafting carbene precursors (Bromo-diazirine) on to the backbone of 5th generation (G5) Polyamidoamine (PAMAM) and poly caprolactone triol (PCLT) will be discussed (Figure 1). The emerging carbene crosslinked bioadhesives offers new route in solving several medical issues such as the prevention of thrombosis from tissue fixation and/or the relief of discomfort and/pain during and/or after surgery. Preferably, the bioadhesive formulation comprises a hygroscopic additive, an antithrombotic agent, and/or an anesthetic agent.

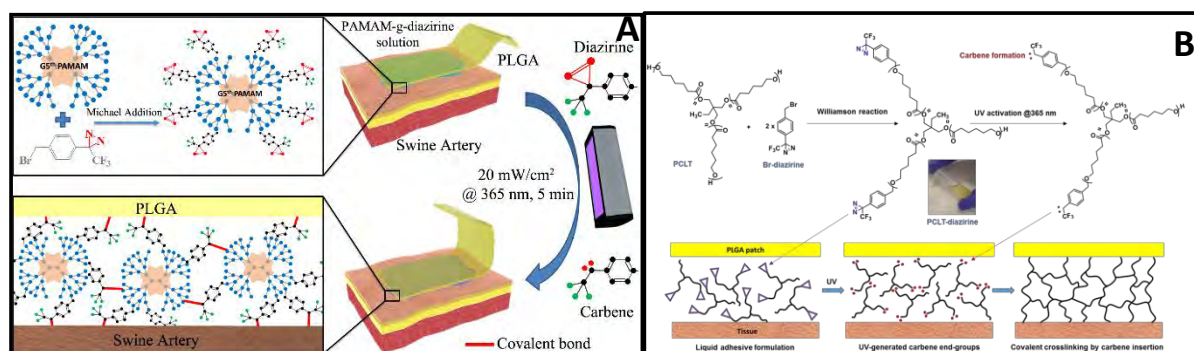


Figure 1. Schematic showing the synthesis and carbene crosslinking of diazirine grafted PAMAM bioadhesive (A) and diazirine grafted PCLT bioadhesive (B)

ECM scaffolds mimicking extracellular matrices of endochondral ossification for the regulation of mesenchymal stem cell differentiation

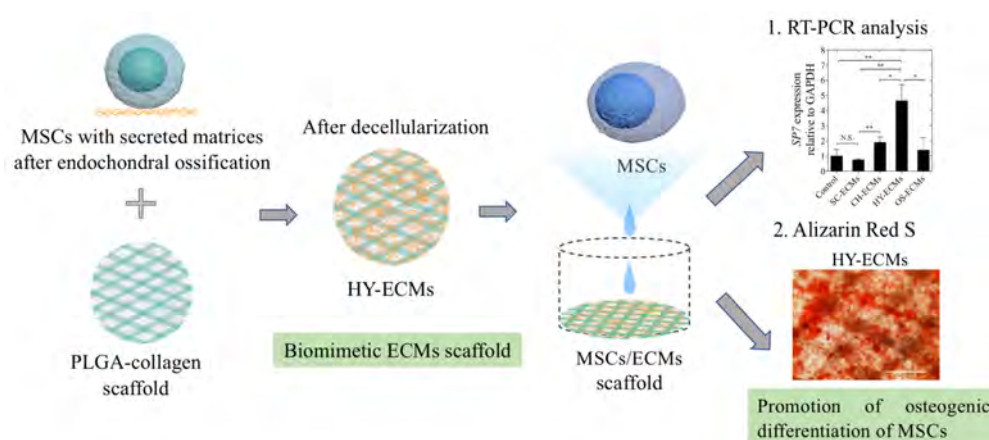
*Yazhou Chen^{1,2}, Kyubae Lee^{1,2}, Naoki Kawazoe¹, Yingnan Yang³, Guoping Chen^{1,2},

¹ Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science, 1-1 Namiki, Tsukuba, Ibaraki, 305-0044, Japan

² Department of Materials Science and Engineering, Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8577, Japan

³ Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba, 1-1-1, Tennodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8572, Japan

Endochondral ossification (ECO) is an important process of bone tissue development. During ECO, extracellular matrices (ECMs) are essential factors to control cell functions and induce bone regeneration. However, the exact role of ECO ECMs on stem cell differentiation remains elusive. In this study, ECM scaffolds were prepared to mimic the ECO-related ECM microenvironments and their effects on stem cell differentiation were compared (Scheme 1). Four types of ECM scaffolds mimicking the ECMs of stem cells (SC), chondrogenic (CH), hypertrophic (HY) and osteogenic (OS) stages were prepared by controlling differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) at different stages. Composition of the ECM scaffolds was dependent on the differentiation stage of MSCs. They showed different influence on osteogenic differentiation of MSCs. HY ECM scaffold had the most promotive effect on osteogenic differentiation of MSCs. CH ECM and OS ECM scaffolds showed moderate effect, while SC ECM scaffold had the lowest effect on osteogenic differentiation of MSCs. Their effects on chondrogenic or adipogenic differentiation were not significantly different. The results suggested that the engineered HY ECM scaffold had superior effect for osteogenic differentiation of MSCs.



Scheme 1. ECM scaffolds mimicking the ECO-related ECM microenvironments and their effects on stem cell differentiation

若手口頭発表1

/Young Researcher Oral Presentation Session 1

異方性制御水酸アパタイト粒子に吸着した 血清タンパク質のプロテオーム解析

¹ 明治大学・理工学部、² 明治大学・農学部、³ 上智大学・理工学部
○大沼恵里香¹、伊藤颯人²、佐々木 慎²、神澤信行³、紀藤圭治²、相澤 守¹

【緒言】

水酸アパタイト (HAp) は a 面が正に、 c 面が負に帯電していることが知られている。その結晶面を選択的に配向させることにより、タンパク質などの生理活性物質の吸着特異性を制御することが可能になる。これまでに当研究グループでは、異なる配向性を有する HAp 粉体における酸性タンパク質 (ウシ血清アルブミン: BSA) および塩基性タンパク質 (鶏卵白由来リゾチーム: LSZ) の吸着特性を明らかにしている [1]。本研究では、等方的な HAp 粒子のモデルとして市販 HAp 粉体 (太平化学製 HAp-100; 以下、IHAp) を使用し、二種類の異方性制御 HAp 単結晶粒子についてウシ胎児血清 (FBS) に対するタンパク質の静電的な吸着特異性を、二次元電気泳動法を用いて可視化した。また、この HAp 粒子に吸着した血清中のタンパク質の種類とその機能を網羅的に理解するために、液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS) を用いたプロテオーム解析を行なったので報告する。

【実験】

a 面を多く露出した繊維状 HAp 単結晶粒子[2] および c 面を多く露出した板状 HAp 単結晶粒子[3] (以下、FHAp および PHAp とする) を既報にもとづいて調製した。合成粉体は、X 線回折法による結晶相の同定、走査型電子顕微鏡法による形態観察および表面ゼータ電位測定によって粉体性状を評価した。FHAp, PHAp および IHAp を FBS 1.0 cm³ に 37°C, 24 h 浸漬して、タンパク質を吸着させた。HAp 粒子に吸着したタンパク質は、pH 6.8 の 0.50 mol・dm⁻³ リン酸カリウムバッファー 0.10 cm³ で抽出した。抽出したタンパク質溶液は、市販のアルブミン除去キット (Norgen Biotek 製) を使用して豊富な血清タンパク質を除去したのち、二次元電気泳動法によって分離した。また、アルブミン除去後の抽出タンパク質溶液を、トリプシンによりペプチドに消化をし、LC/MS で分析した。

【結果と考察】

合成した配向性の異なる三種類の HAp 粒子は HAp 単一相であった。表面ゼータ電位はすべて負の電荷を示し、FHAp (-16.98 mV) > IHAp (-20.73 mV) > PHAp (-22.50 mV) の順であった。HAp 粒子に吸着した血清タンパク質の総量は、FHAp (1.33 mg・m⁻²) > PHAp (0.394 mg・m⁻²) > IHAp (0.0903 mg・m⁻²) の順であり、最も高い表面ゼータ電位を有する FHAp が特異性に血清中のタンパク質を吸着していることが分かった。二次元電気泳動の結果、すべての HAp 粒子において、タンパク質のスポットは酸性側に多く確認された。特に、FHAp に吸着したタンパク質泳動ゲルのタンパク質スポットの数は他の HAp 粒子と比較して多く確認された。また、IHAp に吸着したタンパク質泳動ゲルと比較して、FHAp に吸着したタンパク質の泳動ゲルは酸性側に分布する数点のタンパク質スポットを特異性に強く発現していた。これらの結果から、HAp の a 面に多く露出する Ca²⁺ イオンが酸性タンパク質表面に多く存在するカルボキシ基 (COO⁻) を引き付けていることが示唆された。HAp は静電的相互作用によってタンパク質と吸着し、その配向性によって吸着特異性が生じると考えられる。

【引用文献】

- [1] Z. Zhuang, M. Aizawa, *J Mater Sci: Mater Med.*, **24**, 1211-1216 (2013).
- [2] M. Aizawa, A. E. Porter, S. M. Best and W. Bonfield, *Biomaterials*, **26**, 3427-3433 (2005).
- [3] Z. Zhuang, H. Yoshimura, M. Aizawa, *Mater. Sci. Engineer. C.*, **33**, 2534-2540 (2013).

Ti-HAp/TiO₂ハイブリッドナノ粒子の機能性評価

¹ 近畿大学大学院生物理工学研究科

○丸山 大起¹、古菌 勉¹

【緒言】長期留置型カテーテル使用による細菌感染は重篤な病態悪化の原因であり、死に至るケースもあるため、高度な感染症制御が必要となっている。しかしながら、我が国では抗菌薬含有によるアナフィラキシーショックおよび耐性菌の発現を懸念し、抗菌カテーテルの使用に厳しい基準が設けられている。これらのことから抗菌薬に代わる新たな抗菌材の開発が急務となっている。これまで我々は物理刺激(光または超音波)による抗菌性制御型カテーテルコーティング材料の開発のため、分散性に優れるチタン(Ti)イオンを置換したハイドロキシアパタイト(Ti-HAp)ナノ粒子の開発を行ってきた。本研究では、さらなる光触媒活性の向上を目指し、Ti-HAp/酸化チタン(TiO₂)ハイブリッドナノ粒子を創出し、当該ナノ粒子の機能性評価を行い、生体親和性と光触媒活性を備え持つ抗菌ナノ材料としての有用性について検討した。

【実験】

Ti-HAp ナノ粒子を Ca(NO₃)₂・4H₂O、H₂PO₄ および Ti(SO₄)₂ を用いて湿式法で調製した。また、Ti-HAp ナノ粒子の分散性向上を目的として、融着防止処理を施したのちに、600 および 800℃で仮焼した。得られたナノ粒子の光触媒活性評価として、メチレンブルー(MB)水溶液に Ti-HAp ナノ粒子および Ti-HAp/TiO₂ハイブリッドナノ粒子を浸漬後、波長 365nm の紫外光を 10 分間照射し、MB 水溶液の色素分解率から評価した。さらに、生体への影響に関する初歩的な評価法として、マウス結合組織由来線維芽細胞(L929)を用いて、各粉末添加培地での細胞毒性試験を行った。

【結果と考察】

X線回析法より、Ti-HAp を 800℃で仮焼すると HAp 構造以外にアナターゼ型 TiO₂の回析パターンが認められた。HAp 構造中に置換されている Ti イオンは[Ti(OH)₂]²⁺として存在することが指摘されていることから[1]、仮焼温度を 800℃に上昇させたことによりこのイオンが酸化され、TiO₂が形成されたと推察される。また、当該 Ti-HAp/TiO₂ハイブリッドナノ粒子を透過型電子顕微鏡(TEM)で観察し元素マッピングを行ったところ、Ti イオンが結晶の一部で濃縮していることが確認された。このことから、TiO₂相が結晶中に存在していることが示唆された。さらに、拡散反射法による紫外線吸収スペクトルを測定し、このスペクトルからバンドギャップエネルギーを算出したところ、ノーマル HAp(nHAp)、Ti-HAp、Ti-HAp/TiO₂、および control TiO₂(石原産業(株)製ST-21)の順にバンドギャップエネルギーが小さくなった。この結果は、TEM 観察による知見を強く支持すると考えられる。

光触媒活性評価において、Ti-HAp/TiO₂ハイブリッドナノ粒子は Control TiO₂には及ばないが、nHAp ナノ粒子および Ti-HAp ナノ粒子より有意に高いことが認められた。また、L929 を用いた細胞毒性試験より、Ti-HAp ナノ粒子および Ti-HAp/TiO₂ハイブリッドナノ粒子は 100μg/mL の添加濃度では毒性が認められなかった。以上のことから、Ti-HAp/TiO₂ハイブリッドナノ粒子は光触媒活性と生体親和性を備え持ったナノ材料として有用であると考えられる。

【文献】

1. M. Wakamura *et al.*, Langmuir, 19, 3428-3431(2003)

酸性アミノ酸残基導入デンドロン脂質の組み込みによる リポソームの安定化と細胞取込の促進

大阪府立大学大学院工学研究科

○仲谷 祐哉、北山 雄己哉、弓場 英司、原田 敦史

【緒言】

血中に投与された薬物運搬体は、血清タンパク質との相互作用や細網内皮系による認識を介して、速やかに体外へ排出されてしまう。これを回避するために、ポリエチレングリコール (PEG) などの親水性高分子の表面修飾が一般的に行われている。しかし、PEG 修飾は標的細胞との相互作用も著しく減少させてしまうという問題点がある。そこで本研究では、ポリアミドアミンデンドロン末端に酸性アミノ酸残基を導入したデンドロン脂質を合成した (Fig. 1)。このデンドロン脂質をリポソーム膜に組み込むことで、生理的環境下において双性イオン型の構造を形成することによる血清タンパク質との相互作用の抑制と、アミノ酸トランスポーターを介した細胞取り込みの促進が期待される。ここでは、アミノ酸残基導入デンドロン脂質の組み込みが、リポソームの安定性と細胞取り込みに及ぼす効果について調べた。

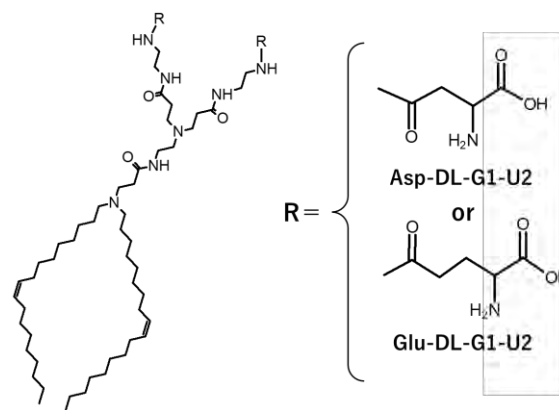


Fig. 1. Chemical structures of amino acid residue-modified dendron-bearing lipids.

【実験】

世代数 1 のポリアミドアミンデンドロン脂質は、既報 (J. Control. Release, 160, 552, 2012) にしたがって合成した。デンドロン脂質の末端アミノ基に種々酸性アミノ酸を縮合させることで、酸性アミノ酸残基導入デンドロン脂質を合成した。デンドロン脂質もしくは PEG 脂質を組み込んだ卵黄ホスファチジルコリン (EYPC) リポソームについて、動的光散乱法 (DLS) による粒径測定及び電位測定を行った。ヒト子宮頸がん由来 HeLa 細胞に蛍光ラベル化したリポソームを添加し、フローサイトメトリーによってリポソーム取込量を評価した。

【結果と考察】

アミノ酸残基のデンドロン脂質末端への導入は NMR によって確認した。酸性アミノ酸残基導入デンドロン脂質を組み込んだリポソームは、pH の低下とともに負から正へと電位が変化し、生理的 pH ではほぼ中性を示した。DLS 測定により、血清存在下でも粒径を長期間維持していることを確認した。酸性アミノ酸残基導入デンドロン脂質は、PEG 修飾リポソームと比較して高い細胞取り込みを示した (Fig. 2)。さらに、アミノ酸トランスポーターの阻害により取り込みが低下したことから、アミノ酸残基導入デンドロン脂質を組み込むことで、血中安定性の向上とアミノ酸トランスポーターによる細胞取り込みの促進を実現できることがわかった。

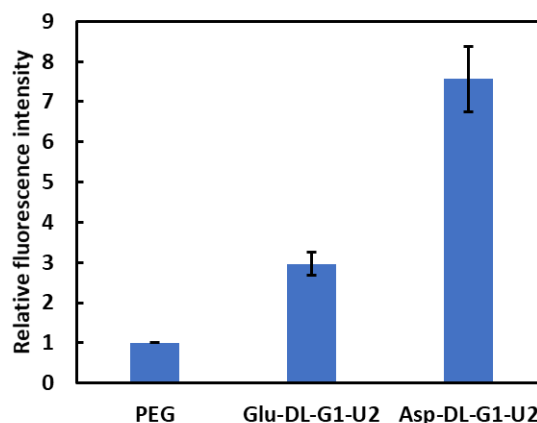


Fig. 2. Relative fluorescence intensity for HeLa cells treated with DiI-labeled liposomes when the fluorescence intensity of PEG liposome-treated cells was set to 1.

抗感染性カテーテルに応用可能な抗菌性を有する 亜鉛置換アパタイトナノ粒子複合材料の開発

¹ 近畿大学大学院・生物理工学研究科
○片岡 美波¹、東 慶直¹、古藺 勉¹

【緒言】

長期留置型カテーテルによる細菌感染は、死に至るケースも少なくない。我が国では抗菌薬含浸カテーテルの使用におけるアナフィラキシーショックが発生したことによって使用が忌避されており、抗菌薬を使用しない抗感染性カテーテルの開発が急務となっている。これまでに我々は、抗感染性カテーテルコーティング用ナノ材料の創出を目指して、亜鉛置換ハイドロキシアパタイトナノ粒子(Zn-HAp)を開発し、抗菌性を評価してきた。本研究では、抗感染性カテーテルに応用可能な Zn-HAp/高分子複合材料を作製し、抗菌性を評価したので報告する。

【実験】

Zn-HAp ナノ粒子は、硝酸カルシウム四水和物、硝酸亜鉛六水和物およびリン酸水素二アンモニウムを混合し、湿式法にて調製した。仮焼する際に融着防止処理を施すことにより、分散性の高いナノ粒子を作製した。また、X線回析(XRD)、高周波誘導結合プラズマ発光分光分析法(ICP-AES)、走査型電子顕微鏡(SEM)、および減衰全反射フーリエ変換赤外分光法(ATR FT-IR)などを用いて生成物の同定を行った。次にモデル繊維として羽二重シルクを用いて、繊維表面に3-メタクリロキシプロピルトリエトキシシラン(γ -MPTS)をグラフト重合させた。さらに、グラフトポリマー鎖のエトキシシリル基と Zn-HAp ナノ粒子のヒドロキシ基との共有結合によって、シルク表面に Zn-HAp を被覆させ、Zn-HAp/シルク複合材料を作製した。その後、当該複合材料を大腸菌液($OD_{600} = 0.01$)に接触させることで抗菌性を評価した。

【結果と考察】

Zn を置換していないノーマルアパタイト(nHAp)および Zn-HAp を融着防止法を用いて調製した。XRD 測定により、Zn-HAp では HAp 以外の結晶性不純物は認められなかった。また、ICP-AES の結果より、Zn-HAp の Zn 置換率は $14.2\%[\text{Zn}/(\text{Ca}+\text{Zn}) \times 100]$ であり、仕込み比に対して 9 割以上置換されていることが認められた。Zn-HAp/高分子複合材料は ATR FT-IR 測定によって、 γ -MPTS および HAp 由来の吸収が認められた。また、SEM 観察によって、シルク表面に Zn-HAp が 7 割以上被覆していることが確認された。抗菌性試験の結果より、Zn-HAp/高分子複合材料は、nHAp/高分子複合材料と比較して有意な抗菌性を示した。これは、シルク表面に被覆した Zn-HAp と菌体が接触し、Zn-HAp から放出された Zn イオンが大腸菌と相互作用することによって、細菌の細胞壁/細胞膜が傷害され、細菌が死滅したと考えられる。

コラーゲンフィブリルの一軸配列技術の開発とアパタイト析出

¹ 長岡技科大院工、² JSPS 特別研究員 DC、³ 長岡工専物工
○柴 亜東^{1,2}、周 燕妮¹、宮田 真理³、多賀谷 基博¹

【緒言】

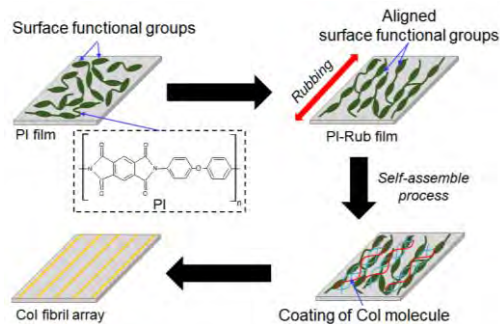
生体の骨などの硬組織は配向性のコラーゲン (Col) フィブリルと水酸アパタイト (HAp) の *c* 軸が平行に複合したナノ構造から成る。硬組織は、外的要因による欠損後の自己修復が困難であるため、人工的に配向性 Col/HAp 複合ナノ構造を作製する技術が求められている。しかし、これまでに磁場や流動場での環境下で配向制御が試みられてきたものの、生体内に類似した高い配向率には至っていない。そこで、本研究では、心臓カテーテルシャフトや血管用カテーテルなどの医療分野で使用されるポリイミド (PI) へ「ラビング処理」を施し、その表面で一軸配向性 Col フィブリルを配列させる技術を確認し、Col フィブリル配列膜を擬似体液 (SBF) へ浸漬してアパタイト析出を評価した。

【実験】

ポリアミック酸と N-メチル-2-ピロリドンを混合した前駆体液をスピコートしてベークして PI 膜を得た。PI 膜にレーヨン線維 (線維密度 32,000 本/cm²) を摩擦転写して PI-Rub 膜を作製した。その後、魚 (ティラピア) 真皮由来 I 型 Col 分子溶液 (3 mg/mL) を PI-Rub 膜と PI 膜へスピコートし、トリス緩衝液 (pH=9) へ浸漬して PI-Rub-Col 膜と PI-Col 膜を作製した (Scheme 1)。また、卓上走査電子顕微鏡 (SEM) 及び偏光赤外分光光度計 (偏光 FT-IR) により評価した。次いで、Col フィブリル配列膜を SBF へ浸漬し、Col フィブリルの安定性とアパタイトの析出挙動を評価した。

【結果と考察】

SEM 像および配向角度分布の結果 (Fig. 1) から、PI-Rub-Col 膜ではラビング処理方向と平行に Col フィブリルが配向し、PI-Col 膜ではランダムに配向することを見出した。特に、PI-Rub-Col 膜において径が均一で配向率が高い Col フィブリルが形成された。偏光 FT-IR スペクトル (Fig. 2) より、PI-Rub-Col 膜において、ラビング処理と平行方向に PI に由来する C=C と C-N の結合が配向し、垂直方向に C=O の結合が配向した。次に、ラビング処理と平行方向に Col 由来アミド I (C=O) の結合が配向し、垂直方向にアミド II (N-H) の結合が配向した。PI-Rub 膜表面のラビング処理方向に垂直な C=O と Col 側鎖に存在するアミノ基の N-H 間に水素結合が生じることで Col 分子がラビング方向に沿って配向する。その後、pH をアルカリ側へ調整すると、Col 分子表面に存在するアミノ酸側鎖を帯電させ、Col 分子間にアルドール結合やアルジミン結合による架橋が生じ、Col フィブリル配列構造が形成されたと考えられる。他方、PI-Col 膜では、PI と Col に由来する吸収帯は配向性が無かった。次いで、Col フィブリル配列膜を SBF へ浸漬させたところ、Col フィブリルの配列構造は 48 時間まで安定であり、Col フィブリル上に微結晶 (短軸径: 1.3 ~ 1.5 μm , 長軸径: 1.8 ~ 2.5 μm) が析出することを確認した。



Scheme 1. Illustration of the preparation of uniaxially-oriented Col fibril array film in this study.

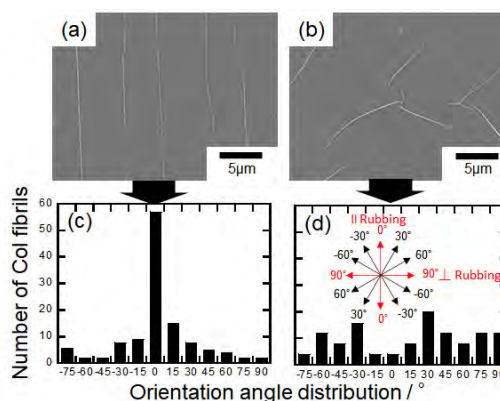


Fig. 1. (a, b) SEM images and (c, d) orientation angle distributions of the Col fibrils for (a, c) PI-Rub-Col and (b, d) PI-Col.

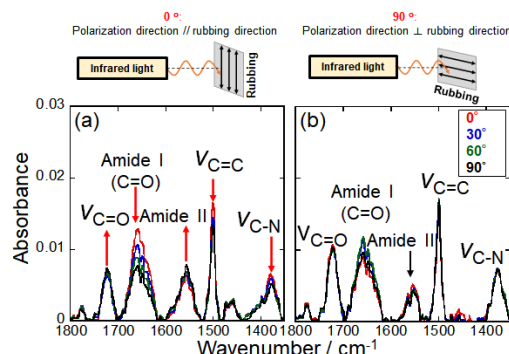


Fig. 2. Polarized FT-IR spectra of the (a) PI-Rub-Col and (b) PI-Col films (0°: polarization direction // rubbing direction, 90°: polarization direction \perp rubbing direction).

銀・金ナノ粒子のケラチン薄膜および羊毛繊維に対する吸着

大阪府立大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻

○山田 健人、森英樹、原正之

【緒言】

ナノ粒子とは直径 100nm 以下の微粒子と定義されており、本研究で用いる金ナノ粒子 (AuNP) と銀ナノ粒子 (AgNP) は局在表面プラズモンの原理による可視光吸収帯を持ち、AuNP は赤色、AgNP は黄色の耐久性を持つ色素として染料や顔料に利用される。また、バイオセンサーなどへの利用も多く研究されているナノ材料である。ケラチンは動物の毛や髪的主要な蛋白質で、アミノ酸 cysteine 間の disulfide (-S-S-) 結合を多く含み、力学的強度と化学的安定性を有する。羊毛繊維と羊毛ケラチンの薄膜 (KF) の表面に、AgNP と AuNP が吸着する様子を観察・測定した。ケラチン蛋白質と各金属ナノ粒子の相互作用を解析して、複合材料としての細胞培養基材や他の用途への産業利用可能性を探る事を目的とする。

【実験】

羊毛繊維 (Wool fiber) は中性洗剤で良く洗浄したものを用いた。ケラチン薄膜 (KF) は以前に開発した参考文献に記載の方法で調製した。羊毛ケラチンを 8 M guanidine、1.66 M 2-mercaptoethanol 水溶液で 80℃、18 時間抽出し、得られた粗抽出液を純水に透析して再凝集させ円板状の多孔質ケラチンハイドロゲルを得た。これを物理的に圧縮、乾燥して、透明なケラチン薄膜 (KF) を得た。

純水 (D. W.) 20mL, エチレンジアミン 4 酢酸 2Na (EDTA) 1.21mg, 0.1M 水酸化ナトリウム水溶液 736 μ L の混合物を 98℃に加熱し、これに 0.1M 硝酸銀水溶液 52 μ L を加え 15 分間攪拌して AgNP を含む懸濁液を調製した。純水 (D. W.) 10mL, クエン酸ナトリウム水溶液 536 μ L の混合液を 80℃に加熱し、1%(w/v) 塩化金酸水溶液 750 μ L を加え 20 分間攪拌して AuNP を含む懸濁液を調製した。

異なる pH 条件の各緩衝液、および純水中に AgNP および AuNP を懸濁した溶液に、KF および羊毛繊維を浸漬して、AgNP、AuNP の吸着性の違いを調べた。浸漬後の経時的な観察と写真撮影を行った。また分光光度計にて各溶液と KF の可視吸収スペクトルを測定した。

【結果と考察】

AgNP の吸着に関して、KF および羊毛繊維には黄色の着色がほとんど確認されず、また KF には AgNP に特有の 430nm 付近の吸収極大も確認できなかったことから、AgNP はいずれの条件においても、KF および羊毛繊維に対して吸着しにくいのではないかと考えた。AuNP に関して、KF および羊毛繊維は幾つかの条件では濃く赤色に呈色し、また KF には AuNP に特有の 525nm 付近の吸収極大が明瞭に確認できたことから、AuNP を KF および羊毛繊維に効率よく吸着させる事が可能であると考えた。今後、他の条件も組み合わせ研究を行い、ナノ粒子吸着 KF の産業利用の可能性に関してより詳しく解析を行っていきたいと考えている。

【参考文献】

H. Mori, M. Hara, Materials Science and Engineering C, 91, 19-25.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.05.021>

T 字型両親媒性ポリペプチドを用いたペプチドフラットロッドの作製

¹ 理化学研究所 開拓研究本部、² 理化学研究所 創発物性科学研究センター、³ 日本学術振興会
○板垣 亮^{1, 3}、伊藤 嘉浩^{1, 2}、上田 一樹^{1, 2}

【緒言】

タンパク質の洗練された構造は、そのエレガントな機能と密接に関係している。タンパク質の高次構造は、主鎖の水素結合、側鎖の疎水性・静電性相互作用などの非共有結合によって決定される。これらの非共有結合をうまく制御することで、ヘリックスペプチドを用いた明確な構造を有する集合体が報告されている。また、我々は別のアプローチとして、疎水性のらせんブロックを持つ両親媒性のブロックポリペプチドからなる分子集合体を報告している。これらの両親媒性ペプチドは、疎水性ヘリカルブロックの長さを変えることで、均一なサイズを持つさまざまなナノ構造体（ベシクル、ナノチューブ、ナノシートなど）を形成することができる。さらに、右巻きと左巻きのヘリックスを有する分子を混ぜると、2つのエナンチオマーのヘリックス間でステレオコンプレックスが形成され、分子集合体の形態変化や接着を引き起こす。このように、ヘリックスペプチドは、分子集合体の形態制御に非常に有用である。本研究では、集合体の形状を精密に制御することを目的として、従来のI字型ペプチドとは親水性部の配置が異なるT字型両親媒性ポリペプチドを新たに合成して、その分子集合体中における分子配列について検討した。

【実験】

T字型の両親媒性ポリペプチド(T-SL12)と、2種のI字型両親媒性ポリペプチド(I-SL12 と I-SdL12、それぞれ疎水性ペプチド部位の巻き方向が異なる)を、液相法により合成した(Fig. 1)。¹H NMR および MALDI-ToF-MS 測定によって各分子の合成を確認した。続いて、円偏光二色性(CD)測定によってエタノール中での疎水性ペプチドの二次構造を決定した。ポリペプチドのエタノール溶液を濃度 0.5 mg/mL となるように純水中にインジェクションし、90℃で1時間加熱することで分子集合体の分散液を得た。透過型電子顕微鏡(TEM)および原子間力顕微鏡(AFM)を用いて分子集合体の形態観察を行った。

【結果と考察】

CD 測定の結果、いずれのペプチドも α ヘリックス構造を形成していることがわかった。T-SL12 単体では、純水中でヘリカルリボン構造に自己組織化した。この結果は、I-SL12 および I-SdL12 が純水中で形成するナノチューブとは全く異なり、親水鎖の配置の違いによってペプチドの配列を制御できることが示唆された。また、T-SL12 と I-SL12 の等モル混合物は、I-SL12 と同様のナノチューブを形成した一方で、T-SL12 と I-SdL12 の等モル混合物は、板状のロッド構造を形成した。これらの結果は、T-SL12 と I-SdL12 の間でステレオコンプレックスが形成され、分子配列が変化したことを示唆している。AFM 測定の結果から、乾燥状態におけるロッドの高さは 6 nm 程度であり、ヘリックスペプチドが単層膜を形成していることが明らかとなった。このようなナノロッドは T-SL12 と I-SdL12 の比が 1:1~1:3 の間で観察された。それぞれのナノロッドについて TEM 画像から幅を算出した結果、いずれも 12~13 nm 程度であり、大きな変化は見られなかった。このことから、ナノロッドの幅方向に T-SL12 と I-SdL12 のステレオコンプレックス二量体が 2 つ並んだ構造をとっていることが示唆された。

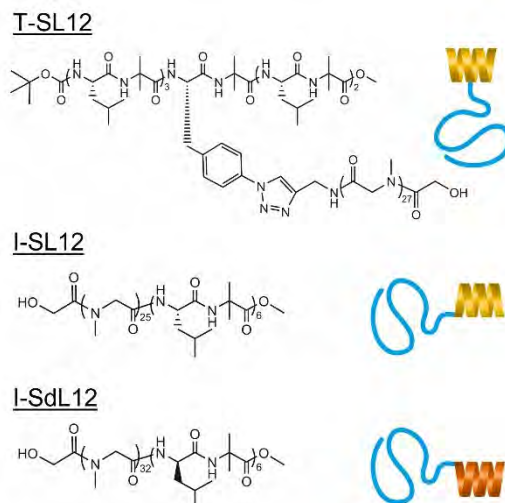


Fig.1 chemical structure and schematic illustration of synthesized polypeptides.

若手口頭発表2

/Young Researcher Oral Presentation Session 2

***a* 面を多く露出した水酸アパタイトセラミックス上で 培養した破骨細胞の活性とその材料吸収性**

¹ 明治大学大学院・理工学研究科、

² 明治大学・明治大学 生命機能マテリアル国際インスティテュート

○鈴木 来¹、大沼恵里香¹、亀田優佳¹、吉村英恭^{1,2}、本田みちよ^{1,2}、相澤 守^{1,2}

【緒言】

水酸アパタイト(HAp)は、生体骨の主要な無機成分であり、人工骨の主原料として使用される。生体中のアパタイトは異方性を有しており、例えば、生体骨中のアパタイトは *a* 面を多く露出した特異的な構造を有する。我々は、これまでに *a* 面を多く露出した HAp セラミックス(*a*-HAp)を創製¹⁾し、HAp の結晶面と骨芽細胞の骨形成能との関係性を調査してきた²⁾。一方で、骨吸収を担う破骨細胞と HAp の結晶面との関係性に関する報告は、まだ少ない。そこで、本研究では、*a*-HAp 上でマウスの骨髓液から分離・分化させた破骨細胞を培養し、HAp の結晶面が破骨細胞の活性とその材料吸収性に与える影響を調査したので報告する。

【実験】

既報²⁾にしたがって、アパタイトファイバー(AF)に対してアパタイトゲルを 30 mass%の仕込み組成で添加して混合粉体を合成し、その粉体から作製したセラミックスを“*a*-HAp セラミックス”とした。また、対照として HAp-100 粉体(太平化学製)から作製した HAp セラミックスを“*i*-HAp セラミックス”とした。マウス骨髓間質細胞は、9-11 週齢の C57BL / 6NCrSlc から骨髓液を採取し、予備培養を行ない破骨細胞へ分化誘導した。その後、*a*-HAp および *i*-HAp セラミックス上に、 1.0×10^5 cells の前破骨細胞を播種し、1 および 2 週間後に回収した。回収した試料に対して、破骨細胞の分化マーカーである酒石酸耐性酸性フォスファターゼ(TRAP)染色を行なった。また、2 週間培養を行なった試料に対して、4',6-diamidino-2-phenylindol(DAPI)および Rhodamine phalloidin を用いて細胞核および細胞骨格に対して蛍光染色を行なった。さらに、定量評価として、酸性フォスファターゼ(ACP)活性値を測定した。表面状態の解析として、原子間力顕微鏡(AFM)を用いてセラミックス上に形成された吸収窩を観察し、その深さを測定した。

【結果と考察】

TRAP 染色を行なった結果、いずれの培養週においても TRAP 陽性の細胞が確認された。また、2 週間培養を行なった試料に対して、蛍光染色の結果から、両セラミックス上にリング状の細胞骨格を有する多核化した細胞が確認された。さらに、どちらの試料においても ACP 活性が確認された。したがって、*a*-HAp および *i*-HAp セラミックス上に破骨細胞の存在が確認された。

アンモニア水を用いた超音波洗浄により細胞を除去した試料表面を AFM で観察した。その結果、破骨細胞培養後の試料片の表面粗さ(R_a)は増加していた。具体的には、*a*-HAp セラミックスでは、15.4 nm から 93.4 nm へ、*i*-HAp セラミックスでは 18.2 nm から 41.5 nm へ増加していた。さらに、*a*-HAp セラミックス上に破骨細胞が形成した吸収窩は 306.1 nm であり、*i*-HAp のもの(155.1 nm)より深かった。*a*-HAp と *i*-HAp セラミックスの Ca^{2+} イオン溶出挙動を比較すると、*a*-HAp セラミックスの方がより多くの Ca^{2+} イオンを溶出する²⁾ため、*a*-HAp セラミックスの方が *i*-HAp セラミックスよりも、破骨細胞に吸収されやすいことが想定される。したがって、この現象は *i*-HAp および *a*-HAp セラミックスの Ca^{2+} イオンの溶出挙動の違いに起因すると考えられる。

上記の結果より、HAp の異方性は新たなバイオマテリアルの材料設計指針として有用であると考えられる。

【引用文献】

1) Z. Zhuang et al., *Acta Biomater.*, **9**, 6732-6740 (2013).

2) 玉澤成記ら、日本セラミックス協会 2017 年 年会 (3G21), 2017 年 3 月 19 日.

細胞表面修飾を応用したリポソームへの表層改質と操作制御

¹ 東京大学大学院・工学系研究科, ² 産業技術総合研究所・細胞分子工学研究部門

○佐藤 佑哉¹, 寺村 裕治²

【緒言】

エクソソームは細胞外小胞体の一種であり, 細胞間相互作用の媒体として幅広い生命現象に関わっている. 近年, 間葉系幹細胞(MSC)が分泌するエクソソームが脳損傷部位へ組織機能回復の効果があり, 治療への応用が期待されている. しかしながら, エクソソームを特定の部位へ運ぶことが困難であり, 特異的に疾患部位へ標的化するなどの応用技術が求められる. そこで我々は, ポリエチレングリコール結合脂質(PEG 脂質)誘導体による表面修飾を利用したエクソソームの操作を目指した. 本研究では, エクソソームのモデル小胞体としてリポソームを用いて, PEG 脂質誘導体の PEG 鎖長とアシル鎖長がリポソームの表面修飾及び吸脱着に与える影響を検討し, 吸着分離に適した材料合成を詳細に解析した.

【実験】

アシル鎖長が異なる 3 種類の脂質 (ミリスチル(C14), パルミトイル(C16), ステアロイル(C18)) を, また, PEG 鎖長 5kDa と 40kDa の PEG 脂質を合成した. それぞれ, PEG5kC14, PEG5kC16, PEG5kC18, あるいは, PEG40kC14, PEG40k C16, PEG40kC18 と表記する. また PEG 脂質の末端に機能性分子として, 膜透過性ペプチドの 2 種類のオリゴペプチド(Tat: YGRKKRRQRRRGGGGC, Tat-Col:YGRKKRRQRRRGGGGPPGVVGEQGEQGPPEGGC)を PEG 脂質へ結合させた. 蛍光標識したリポソーム表面に PEG 脂質を導入し, ガラス基板上に播種した. 蛍光顕微鏡観察による画像の解析から蛍光強度を計測し, リポソーム吸着量の評価を行なった. 修飾したリポソームは, 動的光拡散法(DLS)による粒径と表面電荷の物性評価を行なった. また, Tat-Col-PEG 脂質を導入したリポソームを, ガラス基板上に播種して吸着させた後, コラゲナーゼ溶液で処理し, ペプチド部位を切断することで, リポソームの脱着挙動を観察した.

【結果と考察】

Tat-PEG 脂質あるいは Tat-Col-PEG 脂質をリポソームと混合した溶液をガラス基板上へ播種し, 基板表面の蛍光強度を調べた(Fig. 1). PEG 鎖長 5kDa のとき, Tat ペプチドによる基板へのリポソーム吸着が大きく認められた. また, 脂質のアシル鎖長は短いほど吸着量が増加することが分かった (PEG5kC14 > PEG5kC16 > PEG5kC18 in Fig.1). さらに, DLS 測定から脂質のアシル鎖長が短くなるにつれて, リポソーム表面電荷は正電荷側にシフトすることが分かった. カチオン性の Tat ペプチド PEG 脂質導入量に依存して, ガラス表面へのリポソーム吸着が引き起こされたものと考えられた. また, コラゲナーゼ処理により, 吸着したリポソームの脱着を試みたところ, 基板上からのリポソームの脱着が見られた(Fig. 2). 脱着効率, 脂質のアシル鎖長が短い Tat-Col-PEG 脂質(C14)が最大であったが, 脂質の流動性がコラゲナーゼの反応性に影響していることが示唆された.

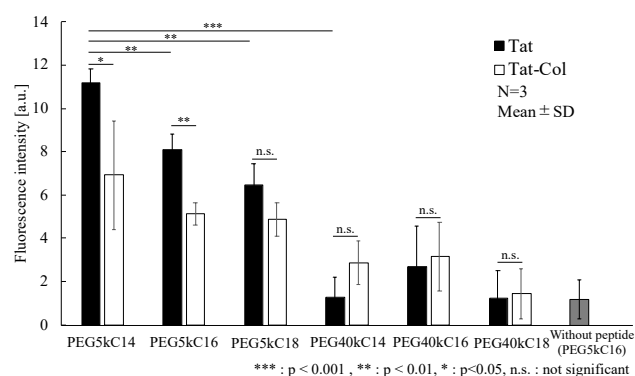


Fig. 1 Fluorescence intensity of liposome adsorbed on substrate.

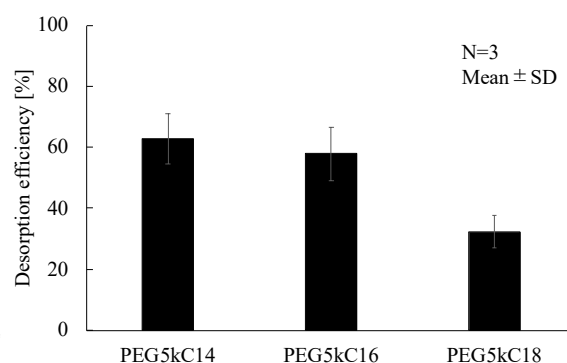


Fig. 2 Fluorescence intensity of liposome adsorbed on substrate before and after collagenase treatment.

【参考文献】 Y. Sato *et al.*, *Langmuir*, **37**, 9711-9723(2021)

クエン酸含有ハイドロキシアパタイトナノ粒子透明膜の創製と 骨芽細胞培養特性の評価

¹長岡技術科学大学大学院工学研究科、²小山工業高等専門学校物質工学科

○劉 自振¹、片岡 卓也¹、川越 大輔²、多賀谷 基博¹

【緒言】

細胞培養基材の開発において、細胞親和性と透明性の両立は必須である。ハイドロキシアパタイト (HA) は細胞親和性に優れているものの、成膜した際の透明性の確保が課題であった。本研究では、HA ナノ粒子膜を細胞培養基材として応用することを目的とし、クエン酸 (Cit) のカルボキシレートイオンが HA のカルシウムイオンとキレート形成して微粒子形成と粒子分散化を行い、透明 Cit/HA ナノ粒子膜を創製し、膜のナノ構造と骨芽細胞培養特性の関係を考察した。

【実験】

Cit/HA 膜の調製は Cit を超純水へ溶解させ、 K_2HPO_4 を溶解させ、 $CaCl_2$ 水溶液を滴下した。この際、Cit の添加量を制御した。40℃で加熱攪拌し、遠心分離・洗浄を行い、超音波処理を行い、水分散液を調製した。ここで、粒子分散濃度はいずれも 6 wt% とし、UV/OZONE 処理したガラス基板上へスピンコート (1000 rpm) した後、65℃で乾燥した。試料名は Cit の含有量 (0.00, 0.34, 0.63, 0.94 mmol・(g of particles)⁻¹) の順により XCit/HA (X=0, 1, 2, 3) とした。評価はリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 中での粒度分布とゼータ電位測定、紫外可視分光光度計 (UV-Vis)、窒素吸脱着測定、及び、骨芽細胞様細胞の培養特性により行った。

【結果と考察】

PBS 中での粒度分布結果 (図 1 (a-d)) から、Cit 配位に伴って平均粒径 (Ave.) と変動係数 (Cv.) が低下し、ゼータ電位の測定結果 (図 1 (e)) から、Cit 配位により粒子表面電荷が負になり、電気的反発により粒子分散が促進されたと考えられた。UV-Vis の測定結果 (図 2) から、Cit/HA 膜の透過率は、Cit 含有量増加に伴って増大し、ヘーズ値は低下した。粒子間の立体障害効果や電気的反発などの要因により、水分散液へ良く分散し、膜が透明になると考えられた。窒素吸脱着測定の結果 (図 3) から、Cit 含有により膜中の微粒子化によって配列状態が変化して比表面積が増大し、粒子間の空隙径が減少した。これは、Cit 含有量の増加に伴って粒子が規則的に配列した結果と推察した。また、組織培養ポリスチレン (TCPS) をコントロールとして骨芽細胞培養を行った結果、3Cit/HA では TCPS と比べて細胞接着密度及び接着面積が大きくなった。以上より、Cit/HA 粒子分散液を用いて高透明なナノ多孔性 HA 粒子膜を創製でき、Cit 含有量により膜のナノ構造を制御し、骨芽細胞の培養特性を向上できる可能性を見出した。

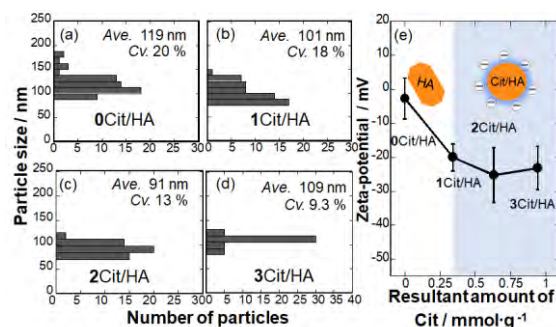


Fig. 1. The particle size distributions of (a) 0Cit/HA, (b) 1Cit/HA, (c) 2Cit/HA and (d) 3Cit/HA, and (e) their zeta potential values.

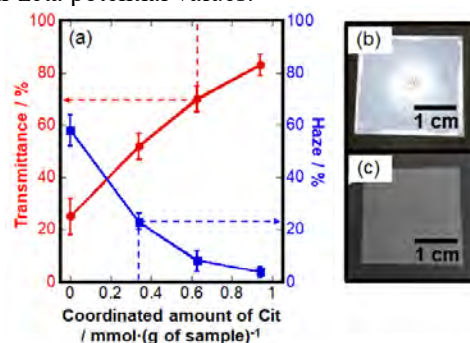


Fig. 2. (a) Transmittance and haze value changes of the Cit/HA films with the coordinated amount of Cit, and the photographs of (b) 0Cit/HA and (c) 3Cit/HA.

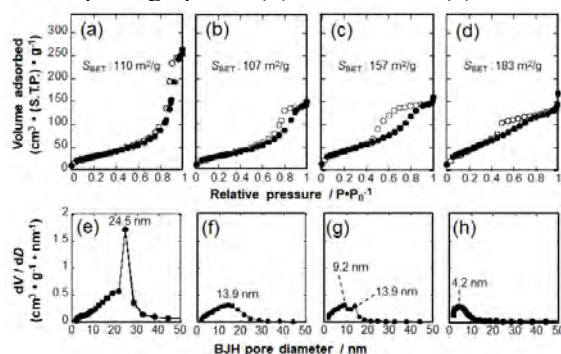


Fig. 3. (a-d) N_2 (●) adsorption and (○) desorption isotherms and (e-h) BJH pore size distributions of (a, e) 0Cit/HA, (b, f) 1Cit/HA, (c, g) 2Cit/HA and (d, h) 3Cit/HA.

骨誘導能と抗菌性とを併せ持つ亜鉛イオン修飾水酸アパタイト 多孔質セラミックスの作製とその評価

¹ 明治大学大学院理工学研究科、² 明治大学バイオリソース国際インスティテュート

³ 明治大学農学部生命科学科、⁴ 明治大学生命機能マテリアル国際インスティテュート

○円城 涼美¹、上田 綾乃¹、中野 和明²、長屋 昌樹²、長嶋 比呂志^{2,3}、相澤 守^{1,4}

【緒言】

気孔率 70% の多孔質水酸アパタイト (HAp) セラミックスは骨誘導能を持つことが報告されている [1]。しかしながら、HAp は抗菌性を持たないため、術後感染を防ぐ目的として耐感染症を備えた人工骨補填材の開発が期待されている。我々はこれまでにポリエーテルエーテルケトン上に HAp 膜を形成させた後、キレート能を有するイノシトールリン酸 (IP6) を HAp 膜に表面修飾し、その IP6 のキレート結合を介して抗菌性イオンの一つである銀イオンを固定化できることを報告している [2]。本研究の目的は、骨誘導能と抗菌性とを併せ持つ新規な骨補填材の創製である。具体的には、HAp 多孔質セラミックス (気孔率 70%) の表面に抗菌性および骨形成促進能を併せ持つ亜鉛イオンを IP6 を用いて固定化した。さらに、得られたセラミックスの材料特性を調べるとともに、抗菌性、細胞毒性および *in vivo* 実験による生体内反応を調査した。

【実験】

アパタイトファイバーの合成および HAp 多孔質セラミックスの作製は、既報 [1] に準じて行なった。得られた HAp 多孔質セラミックスを、 $1000 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-3}$ の IP6 溶液に浸漬し、さらに濃度が 0, 50, 100, 300, 500 $\text{mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ の塩化亜鉛溶液に浸漬して亜鉛イオン修飾 HAp 多孔質セラミックスを作製した。なお、サンプルの略号は Zn(X) と表記し、カッコ内の X は塩化亜鉛溶液のモル濃度とする。材料特性評価として、X 線回折法による結晶相の同定、走査型電子顕微鏡法による形態観察、誘導結合プラズマ発光分光分析法による元素の定量分析および亜鉛イオンの溶出試験を行なった。抗菌性評価は、グラム陽性菌の黄色ブドウ球菌 (*S.aureus*) およびグラム陰性菌の大腸菌 (*E. coli*) を用いた阻止円法により実施した。また、作製した亜鉛イオン修飾 HAp 多孔質セラミックスの抽出液を用いて新生児 C57BL/6 マウス頭蓋冠由来骨芽細胞様樹立株 MC3T3-E1 を培養し、細胞毒性評価を実施した。さらに、亜鉛イオン修飾 HAp 多孔質セラミックスの骨伝導能および骨誘導能を調べるため、豚の脛骨および筋肉にそれぞれ 12 週間埋入した後、組織学的評価を行なった。

【結果と考察】

作製した亜鉛イオン修飾 HAp 多孔質セラミックスは HAp 単一相であり、亜鉛イオンの固定後も気孔構造が保持されている様子が確認された。また、亜鉛イオンの担持量は、塩化亜鉛溶液の濃度に依存して増加し、担持量が多いほど亜鉛イオンの溶出量は多く、約 6 時間で溶出はほぼプラトーに達した。抗菌性評価では、*S.aureus* および *E.coli* のいずれの菌種においても、抗菌性の発現が確認された。これらの結果は、溶出した亜鉛イオンが菌の生育を妨げたためであると考えられる。細胞毒性評価では、Zn(0) および Zn(300) は Control に匹敵する細胞増殖を示したが、Zn(500) の細胞数は Control と比較して著しく減少した。この結果から、Zn(0) および Zn(300) は安全性が高く、Zn(500) は生体内で細胞毒性を示す可能性が示唆された。また、豚脛骨埋入による骨伝導性を調べる組織学的評価からは、材料の周囲および内部で新生骨が旺盛に形成されている様子が観察された。さらに、豚筋肉埋入による骨誘導能を調べる組織学的評価では、気孔内部での新生骨の形成が確認された。

これらのことから、亜鉛イオンを修飾した HAp 多孔質セラミックスは、細胞毒性を示さずに抗菌性および高い骨形成能を有する新規な多機能性人工骨として期待できる。

【引用文献】

- [1] Y. Yamada, T. Inui, Y. Kinoshita, Y. Shigemitsu, M. Honda, K. Nakano, H. Matsunari, M. Nagaya, H. Nagashima and M. Aizawa, *J. Asia. Ceram. Soc.*, **7**, 101-108 (2019).
- [2] H. Kakinuma, K. Ishii, H. Ishihama, M. Honda, Y. Toyama, M. Matsumoto and M. Aizawa, *J. Biomed. Mater. Res.*, **103A**, 57-64 (2015).

iPS 細胞の他施設利用のための輸送振動ストレスの影響

¹名古屋大学大学院・創薬科学研究科、²名古屋大学・ナノライフシステム研究所

○伊藤友哉¹、酒井徹平¹、蟹江慧¹ 加藤竜司^{1, 2}

【緒言】

近年の細胞工学の進歩にともない、再生医療の産業化が加速しており、細胞加工製品としての iPS 細胞の利用が期待されている。このような細胞加工製品を幅広いニーズに提供するために、細胞培養自動化技術が急速に発展している。さらに、製造した細胞加工製品を広く流通させるためには、培養している状態の細胞を輸送して利用することも重要な選択肢として考えられる。¹⁾

幹細胞は外部刺激の影響を受けやすいと言われており、自動化装置や輸送によって生じる「機械的振動」が、重大な影響となり得るストレスの1つとして挙げられる。²⁾このような工業化の際に細胞に影響を与える可能性のある「新たなストレス」について理解することは必要不可欠である。しかし、自動化装置や輸送等で生じる振動ストレスが iPS 細胞にどう影響するかについてのメカニズム解明や検出方法に関する研究例は少ない。

我々はこれまでに、非侵襲的な画像分析・計測技術を用いて、培養操作で生じる振動ストレスが iPS 細胞に与える影響について研究してきた。³⁾そこで本研究では、輸送時の振動ストレスに着目し、輸送を模倣した振動が iPS 細胞に与える影響を位相差画像、免疫染色画像等の生物学的評価手法を用いて多角的に評価した。さらに、細胞画像から得られる形態情報を用い、機械学習を用いることで、振動の有無の検出が可能かどうかを検証した。

【実験】

iPS 細胞を5日間増殖培養した後、輸送模倣振動(8条件)培養を行なった。培養期間中に取得した細胞画像と培養終了時に取得した免疫染色・RNA-seq を用い、振動が iPS 細胞の品質に与える影響について評価した(図1)。

【結果・考察】

振動が iPS 細胞の増殖能、接着能などの様々な品質に影響を及ぼすことが認められた。また、細胞画像の形態情報から、振動の影響を非接触に検出することも可能であることが示唆された。

この結果から、振動は iPS 細胞の品質低下を引き起こすため、輸送時の細胞への振動を制御することが重要であることがわかった。また、振動が細胞に及ぼす影響を検出する評価系は、今後の細胞医薬品の品質評価を支える重要な技術になると想定しており、医工連携で取り組む課題の一例になると考えている。

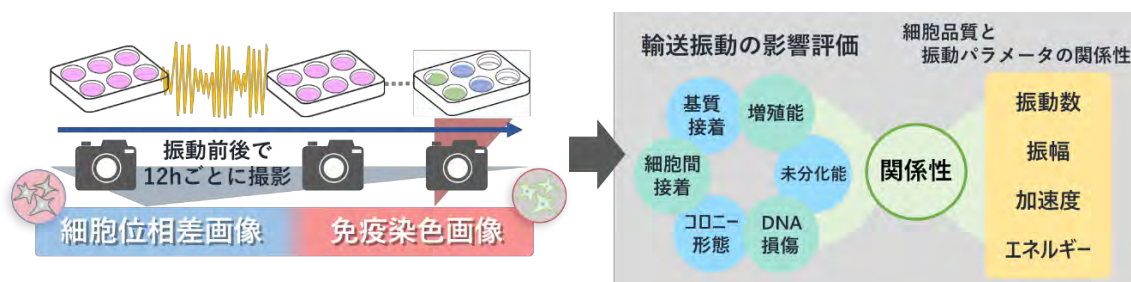


図1 輸送模倣振動実験の概要

【参考文献】

- 1) Dodson BP, Levine AD. Challenges in the translation and commercialization of cell therapies. BMC Biotechnol. 2015;15:70.
- 2) Vining KH, Mooney DJ. Mechanical forces direct stem cell behaviour in development and regeneration. Nat Rev Mol Cell Biol. 2017;18(12):728-742.
- 3) Kanie K, Sakai T, Imai Y, et al. Effect of mechanical vibration stress in cell culture on human induced pluripotent stem cells. Regen Ther. 2019;12:27-35. 2019;12:27-35. Published 2019 Jun 6.

皮膚組織再生誘導に向けたヘパリン修飾シルクフィブロイン材料の創製

¹ 東京農工大学大学院・生命工学専攻

○濱 理佳子¹、中澤 靖元¹

【緒言】

裂傷や火傷により生じた深く広範囲に及ぶ皮膚損傷の治療において、乾燥や感染等の外界刺激から創部を保護し組織新生を誘導する目的で、創傷被覆材が使用されている。治癒の初期段階で分泌される成長因子（GF）は、組織新生を担う種々の細胞に対し増殖や遊走等の機能調節に働くため、組織新生段階に GF を創部へと高効率に誘導することは、治癒期間の短縮や新生組織の発達促進に有用である。これまでに、GF を物理吸着や化学修飾を介して創傷被覆材へ担持させ創部へ供給する研究が多く報告されているものの、生体内における GF の安定性の低さ、被覆材からの離散が課題である。よって、生体の治癒過程で分泌される GF を捕捉し細胞に供給することで、組織新生段階にわたって持続的な細胞機能の向上に働く創傷被覆材の開発を目指した。

そこで本研究では、GF の構造安定化、細胞受容体への結合促進に働く硫酸化多糖のヘパリンを、生体適合性、形態加工性に優れ次世代の組織工学材料として注目されるシルクフィブロイン（Silk Fibroin: SF）へと修飾した機能化 SF 材料を作製した。ヘパリンは血液の抗凝固薬として広く使用されており、創傷部における止血や長期的な炎症反応に対する影響が懸念される。よって、未分画のヘパリンと分子量の小さいヘパリンとをそれぞれ修飾した材料を作製し、組織工学材料としての特性を広く評価、比較することで、材料構造に基づく特性制御に向けた知見を得た。

【実験】

重量平均分子量が異なる 2 種のヘパリン（Hep-High, Hep-Low）に対し、架橋剤の塩化シアヌル（CY）をそれぞれ反応させ、家蚕繭より作製した SF 水溶液を加えてさらに反応させることで各ヘパリン修飾 SF（HSF_H, HSF_L）水溶液を得た。反応物の物質質量比を SF : CY : ヘパリン = 20 : 20 : 2、3、4、5 とすることで、各ヘパリン修飾量を段階的に変化させた。さらに、各水溶液を凍結乾燥して得たスポンジをギ酸へと溶解、キャストしてフィルムを作製し、SF の不溶化処理として 37 °C 相対湿度 100 % の高湿度条件でインキュベートしたものを各種評価に用いた。物性評価として静的な水接触角、含水率、動的粘弾性測定を、細胞応答性評価としてヒト臍帯静脈内皮細胞（HUVEC）、ヒト線維芽細胞（NHDF）の接着及び増殖試験を実施した。

【結果と考察】

ヘパリン修飾 SF 材料は、HSF_H、HSF_L ともに親水性・含水能が SF に比べて有意に増加した。フィルム表面の親水性は修飾量に応じた増加傾向を示し、HSF_H、HSF_L いずれも細胞接着に適する値（60 ~ 70 °）を示した（Fig.1）。また、動的粘弾性測定からは、含水に伴う材料の粘弾性の低下が示された。さらに、ヘパリン分子量の違いによって材料と水分子の関係性が異なることが示唆された。HUVEC および NHDF の接着、増殖挙動は SF と比べて有意に促進され、培養時間が長くなるほど HSF_L では HSF_H よりも顕著に高値であった。

発表では、修飾したヘパリンの分子量と修飾量の違いが、機能化 SF 材料の物性・細胞応答性へ及ぼす影響の違いについて詳細を報告する。

【謝辞】

本研究は一部、JST 研究成果最適展開支援プログラム（A-STEP）産学協同（本格型）（課題番号 JPMJTR214A）、東京農工大学における文部科学省「卓越大学院プログラム」により実施した。

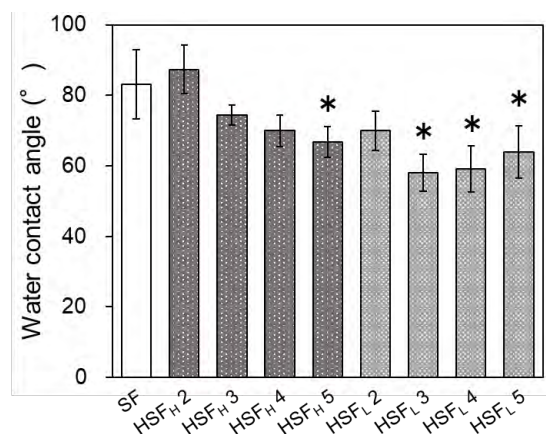


Fig. 1. Water contact angle of SF, heparin modified SF film (against SF *: $p < 0.05$).

培養マウス神経幹細胞/前駆細胞における亜鉛輸送体の発現解析

大阪府立大学 理学系研究科 生物科学専攻

○森村 雅也、森 英樹、原 正之

【緒言】

必須微量元素の亜鉛は中枢神経系（CNS）の正常な発達に必要で、妊娠中の亜鉛不足はマウス胎仔の CNS 発達異常を引き起こす。細胞内亜鉛量調節タンパク質の一群に細胞質内に亜鉛を輸送する ZIP トランスポーター（Zrt-, Irt-like protein, SLC39A ファミリー）がある。その一つである ZIP8 は、パーキンソン病や脂質異常症、統合失調症、クローン病等との関連が知られており、また *ZIP8* 変異で非末梢性神経障害や小脳発育不全を生じる為、CNS 発生過程での重要な役割が推測されるが、機能は未知の部分が多い。本研究ではマウス神経幹細胞/前駆細胞（NSPC）における ZIP トランスポーターの役割を調べるために、分化前後における 14 種類の *Zip* 遺伝子の発現傾向の変化を解析するとともに、分化誘導後に有意に発現が減少する *Zip8* を RNA 干渉によってノックダウンしたときの分化傾向の変化について解析した。

【実験】

妊娠 14 日目の ICR マウスの胎仔脳より分離した NSPC を、DMEM/F-12 培地に B-27 Supplement、20 ng/mL EGF、20 ng/mL bFGF、20 ng/mL heparin を添加した NSPC 増殖用培地を用いてニューロスフェア法で培養した。また、NSPC の分化誘導にはウシ胎仔血清を含む DMEM/F-12 培地を用いた。各細胞から total RNA を抽出、逆転写したサンプルをもとに、定量的 RT-PCR 法を用いて *Zip* 遺伝子や分化マーカーである *Gfap* と *Tubb3* の相対発現量を調べた。

また、RNA 干渉実験をおこなう際には、ゼラチンコートディッシュ上に NSPC を低密度で播種し、低密度接着培養した細胞を実験に用いた。継代の際に、NSPC 培地から抗生物質を除いた培地に交換し、NSPC を 24 時間前培養した後に、Lipofectamine RNAi MAX を用いたりポフェクション法にて、*Zip8* siRNA を導入した。導入 48 時間後、定量的 RT-PCR にて *Zip8* 発現抑制の効果を確認、*Gfap* と *Tubb3* の mRNA 発現量も調べた。

【結果と考察】

培養した NSPC では、*Zip* 遺伝子の中で *Zip8* だけが分化誘導後に発現が著しく低下することが確認された。

RNA 干渉による *Zip8* 発現抑制実験では、対照群と比較して *Zip8* の発現量が約 60%抑制されたことが確認された。また、*Zip8* を抑制した細胞では、顕微鏡で観察した細胞の様子に大きな変化はなかったものの、対照群の細胞と比較すると、アストロサイトマーカーとして用いた *Gfap* の発現量は約 5 倍、ニューロンマーカーとして用いた *Tubb3* の発現量は約 5.5 倍を示した。

Zip8 siRNA を導入した細胞において *Gfap* と *Tubb3* の発現量が上昇していたことから、*Zip8* の発現が NSPC の未分化特性の維持に重要であることが示唆された。

若手口頭発表3

/Young Researcher Oral Presentation Session 3

抗 CD3 抗体を担持したリン酸三カルシウム微小球の生物学的評価

¹ 明治大学大学院理工学研究科、² 明治大学理工学部、

³ 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科、

⁴ 明治大学生命機能マテリアル国際インスティテュート

○新田藍子¹、中川大輝¹、永尾優季¹、鄭 允迪¹、野瀬雅人²、永井重徳^{3,4}、相澤 守^{1,2,4}

【緒言】

近年のがん治療では、副作用の少ない免疫療法が注目されている。我々はこれまでに超音波噴霧熱分解法によりリン酸カルシウム微小球を合成し、これに血管新生抑制剤を担持させた薬物送達システム (DDS) に基づく、新しい化学塞栓療法を提案している[1]。また、水酸アパタイト (HAp) セラミックスに免疫賦活剤を担持させ、そのセラミックス基材上で免疫細胞を培養したところ、免疫細胞を効率的に活性化できることも明らかにしている[2]。本研究では、この HAp よりも生体吸収性の高いリン酸三カルシウム (TCP) 微小球に抗 CD3 抗体を担持させ、それをキャリアとする DDS を確立することを目的としている。今回は、まず *in vitro* 系において抗 CD3 抗体を担持させた TCP セラミックスの免疫賦活効果を明らかにするとともに、実際に担がんマウスモデルにより抗 CD3 抗体担持 TCP 微小球の抗腫瘍効果を調べたので報告する。

【実験】

TCP 微小球は既報[1]と同様に超音波噴霧熱分解法により合成した。得られた微小球を 50 MPa で一軸加圧成形したのち、1050℃で 5 時間焼成して TCP セラミックスを作製した。得られたセラミックスを 5 ppm の抗 CD3 抗体溶液に 24 h、4℃で浸漬して、抗 CD3 抗体担持 TCP セラミックスを得た。同様の条件で細胞培養用ポリスチレンプレートにも抗 CD3 抗体を担持させ、これらを比較することで TCP セラミックスの有用性を調査した。担持後、各サンプルに C57BL/6N マウス由来脾臓細胞を播種した。培養 1 日後、フローサイトメーターを用いて活性化免疫細胞 (CD69 陽性細胞) の割合を算出した。また、マウス黒色腫細胞 (B16-F10) を用いて担がんマウスを作製し、それに抗 CD3 抗体を担持した TCP 微小球をインジェクションし、所定の期間にわたり腫瘍サイズと体重を測定するとともに、組織学的評価を行なった。

【結果と考察】

得られた TCP 微小球の XRD パターンは、TCP とアパタイトの混合相であり、さらに FT-IR スペクトルの測定では、PO₄ 基に帰属する吸収が認められた。免疫細胞応答性の結果より、抗 CD3 抗体を担持させたサンプルは、ポリスチレンプレートおよび TCP セラミックスいずれも CD69 陽性細胞の割合が向上していた。特に、TCP セラミックスの方が高い細胞比率を示した。このことから、TCP と免疫賦活剤とを組み合わせることで、活性化している免疫細胞の数が増加し、免疫賦活剤の担体として TCP が有用であることが分かった。また、*in vivo* 実験の結果から、微小球を投与したマウスが、微小球を投与していないマウスと比較して、腫瘍サイズの減少が確認された。以上のことから、免疫賦活剤の担体として TCP が有用であり、また TCP 微小球は抗腫瘍効果を示し、TCP はがん免疫療法に有用なバイオマテリアルとして期待できる。

【引用文献】

- [1] M. Emoto et al., Cancer Sci., 101, 984-990 (2010).
- [2] S. Kagami et al., J. Soc. Inorg. Mater. Jpn., 26, 74-81 (2019).

疎水化タラゼラチンとポリエチレングリコール系架橋剤からなる新規組織接着剤の開発

¹筑波大学人間総合科学研究科 呼吸器外科学、²国立研究開発法人 物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点 バイオ機能分野

○柳原 隆宏¹、巻 直樹¹、皆木健治¹、岡村純子¹、関根康晴¹、菅井和人¹、河村知幸¹、
小林尚寛¹、後藤行延¹、市村秀夫¹、渡邊志春²、田口哲志²、佐藤幸夫¹

【緒言】

呼吸器外科手術において気漏は頻度の高い合併症である。気漏制御法の一つに組織接着剤の使用があり、本邦ではFibrin sealant (FS)が汎用されているが、接着力が低い、生物学的製剤であるなどの欠点がある。今回我々は、国立研究開発法人 物質・材料研究機構と共同で、冷水魚スケソウダラのゼラチン(ApGltN: Alaska Pollock Gelatin)と4分岐型ポリエチレングリコール活性エステル体の架橋剤から構成される新規シーラント剤(タラゼラチン)を開発した。ブタ摘出肺、ブタ生体肺で、タラゼラチン(ApGltN sealant: AS)とFSの急性期の接着力を比較した。また、生体ラットを用いて、慢性期の組織所見を評価した。

【実験】

摘出肺実験：ブタ摘出肺に10mm大の円形胸膜欠損を作成。各シーラントを噴霧し、気漏出現時の気道内圧を測定した(n=5)。ブタ摘出肺の胸膜表面に厚さ1mmの30×30mmの正方形のシーラントを固定し、肺を拡張させシーラントが胸膜表面に追従できなくなる最大面積を測定した(n=5)。

急性実験：生体ブタを全身麻酔下に挿管し、肺に10mmの円形胸膜欠損を作成。各シーラントの噴霧後に換気を行い、気漏出現時の気道内圧を測定した(n=4)。

慢性実験：ラットを全身麻酔下に開胸し、左肺に5mmの胸膜欠損を作成。各シーラントを噴霧し閉胸した。一定期間後(術後1, 7, 14, 28, 56, 84日)に再開胸し評価した(n=4)

【結果と考察】

摘出肺実験の耐圧性評価ではAS群 102.9 ± 15.6 cmH₂O, FS群 28.37 ± 5.1 cmH₂Oであった(P<0.01)。追従面積はAS群 1893 ± 292 mm² およびFS群 1302 ± 213 mm² であった(p=0.016)。急性実験ではAS群 68.8 ± 18.0 cmH₂O, FS群 43.3 ± 7.1 cmH₂O であった(p=0.043)。慢性実験では各群で気漏制御ができており、シーラント噴霧に関連する死亡は認めなかった。タラゼラチンは約2ヶ月で新生組織に置換された。肺側の炎症細胞数はAS群, FS群で有意差は認めなかった。

タラゼラチンは高い接着性と追従性を有しており、慢性期の肺への組織反応はFS群と有意差は認めなかった。タラゼラチンは生体への影響が少なく、接着効果の高いシーラントとして、臨床応用が期待できる。

癒着防止シートの開発を目的とした細胞接着特性の解明

¹名古屋大学・大学院創薬科学研究科、²名古屋大学・大学院工学研究科、³物質材料研究機構、
⁴名古屋大学・大学院医学系研究科、⁵名古屋大学・ナノライフシステム研究所
 ○霜古田 一優¹、蟹江 慧¹、杉山 亜矢斗¹、原 光生²、宇都 甲一郎³、荏原 充宏³、
 緒方 藍歌⁴、成田 裕司⁴、加藤 竜司^{1,5}

【緒言】

心臓周囲組織での癒着は、外科手術後に創傷治癒過程の一部として形成される。一度癒着が形成されると、予後不良を引き起こす他、再手術が必要となった際には剥離に時間を要するため手術のリスクが高まる。そのため、術後癒着を防ぐことが重要である。

術後癒着防止手段の1つとして医療材料の使用が挙げられる。しかし、現在使用されている癒着防止シートを使用しても癒着は完全に防ぎきれないため¹⁾、新規材料の開発が求められている。

心臓における癒着は、手術の外傷によって心臓腔を裏打ちしていた中皮細胞が剥離し、この部位へフィブリンが蓄積し、これを足場として線維芽細胞が増殖して組織が架橋されることで形成される。そのため、我々の研究では癒着防止シートの表面に中皮細胞接着選択的に接着する機能を付加し、損傷した中皮細胞層を早期復元することをコンセプトとしている。そこで、本研究ではペプチドを使用し、上記2細胞の接着特性を明らかにすることで、中皮細胞が選択的に接着する表面設計を目標とした。

本研究では、種々の材料表面に対して行うことと、2種類の細胞種を用いるため、材料を評価する細胞アッセイ評価においては安定的に行う必要がある。つまり、再現性のある細胞アッセイを行うためには緻密に制御された実験系の構築が極めて重要である。最近では、実験間、実験者間、研究施設間での動物細胞を用いた薬剤応答評価に関する再現性を検証する報告もある²⁾。そこで我々はロボット分注機を用いて洗浄速度や高さ等を緻密に制御したアッセイ系の構築、画像解析による定量評価を並行して行った。その結果、目的とする中皮細胞に有利に機能する表面を設計できたため、これを報告する。

【実験】

本研究では、心臓表面に存在する中皮細胞と、癒着の起源となる正常ヒト皮膚線維芽細胞の細胞接着を選択的に制御する表面をもつ癒着防止シートの開発を目標とした。ペプチドの組み合わせ効果を検証することで細胞選択性の評価および接着特性の解明を行った。なお実験の安定化のため、ロボット分注機を用いた実験系の最適化検証も実施している（図1）。

【結果と考察】

癒着防止シート上の細胞接着アッセイの結果より、中皮細胞は線維芽細胞よりも足場の疎水度の影響を受けやすいことが分かった。また、ペプチドの組み合わせ評価の結果、中皮細胞の接着促進を有利にする組み合わせ条件があることが判明した。さらに、ロボット分注機を用いて、細胞接着選択性を評価するアッセイ系の構築に成功した。

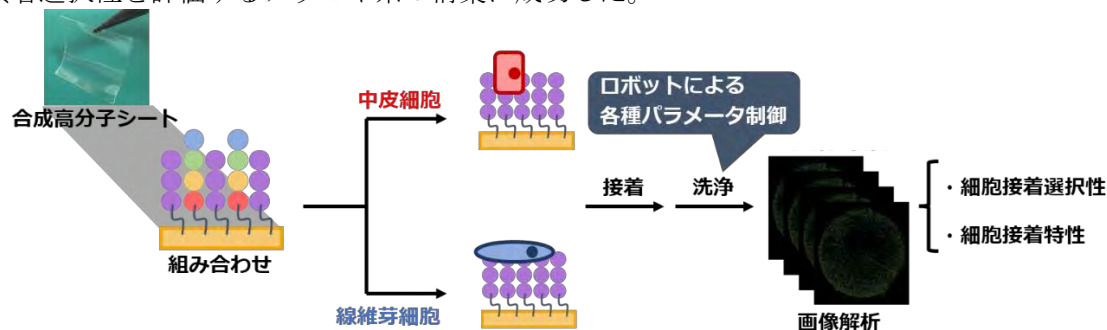


図1 本研究の概要

【参考文献】

- 1) Diamond MP., et al.: *Gynecol Surg*, 9(3):237-245(2012).
- 2) M Niepel., et al.: *Cell Systems*, 9, 35-48 (2019).

光線力学療法を目指したメチレンブルー吸着ハイドロキシアパタイトナノ粒子の創製と光化学反応性の評価

¹ 長岡技術科学大学大学院工学研究科、² 物質・材料研究機構 統合型材料開発・情報基盤部門、

³ JSPS 特別研究員 DC

○山田 伊織^{1,3}、佐光 貞樹²、多賀谷 基博¹

【緒言】

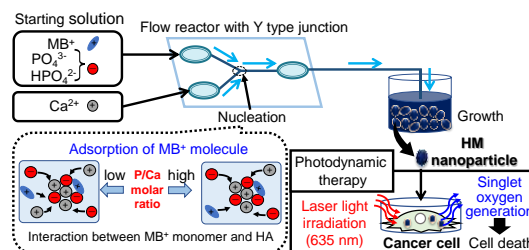
光線力学療法は、光励起された増感剤から発生する一重項酸素 ($^1\text{O}_2$) によって細胞障害を引き起こして細胞を死滅させる治療である。メチレンブルー (MB) はモノマー状態で高効率に $^1\text{O}_2$ を生成するが、凝集体の形成や還元などによる分子状態の変化により $^1\text{O}_2$ 生成能が低下する問題があった。そこで、我々はモノマー状態で安定に存在させるために、無機固体表面の活用に着目してきた。本研究では、 $^1\text{O}_2$ 生成能に優れた MB 分子を吸着したハイドロキシアパタイト (HA) 粒子 (HM) を創製し、MB 分子の存在状態を評価・考察し、HM 粒子を取り込ませたがん細胞へ赤色光を照射して $^1\text{O}_2$ による死滅を評価した (Scheme 1)。

【実験】

HM は仕込み P/Ca モル比が 0.6–4.0 になるように溶液 A (CaCl_2 , H_2O)、溶液 B (K_2HPO_4 , H_2O , MB) それぞれを流量 1 mL/min でマイクロ流路内にて室温で混合・反応させた。その後、反応溶液を溶液 C (H_2O) へ流量 2 mL/min で滴下して粒成長させた。反応後の分散液を 40 °C で加熱攪拌した後に洗浄し、80 °C で乾燥した。試料名は XHM (仕込みの P/Ca モル比 $X=0.6, 0.8, 1.0, 1.3, 2.0, 4.0$) とした。評価は、FT-IR と拡散反射吸収スペクトルにより行い、スペクトル分離はガウス関数のフィッティングにより行った。吸着された MB 分子の量は、HM を塩酸に溶解させ、MB 分子に由来する吸収帯の面積から検量線を作成し算出した。担持された MB 分子のモノマー量は、MB 担持量とスペクトル分離で得たモノマー成分の割合との積から算出した。

【結果と考察】

FT-IR スペクトルから、仕込み P/Ca モル比が増加するにつれて、HM 表面の P-OH 基と炭酸基の含有量が低下し、MB の吸着サイト (P-O⁻や Ca^{2+}) が露出していると予測された。拡散反射吸収スペクトルを MB モノマー (Monomer)、H 型のダイマー (H-dimer)、H 型の凝集体 (H-aggr)、及び、J 型の凝集体 (J-aggr) に分離した (Fig. 1 (a))。その結果、各成分割合は仕込みの P/Ca モル比の増大に伴って凝集体 (H-dimer と H-aggr) が増加し、Monomer は減少する傾向が見られた (Fig. 1 (b–g))。それぞれの MB 分子の担持量を測定した結果、2.0HM が最大の担持量を示した。担持量とモノマー成分割合の積から吸着した MB モノマー分子の量を求めたところ、2.0HM が最大であった (Fig. 1 (h))。これは、P/Ca モル比の増加により、リン酸イオンと MB の相互作用数が増加し、表面に吸着した炭酸イオンの減少により MB 吸着サイトが増加し、MB の吸着密度が下がり、モノマー状態での吸着が優位になったと考える。本発表では、赤色光照射に伴う HM 粒子の $^1\text{O}_2$ 生成能の評価結果と共にごん細胞への影響も紹介する。



Scheme 1. Illustration of the outlines of the synthetic HM particles and photodynamic therapy of this study.

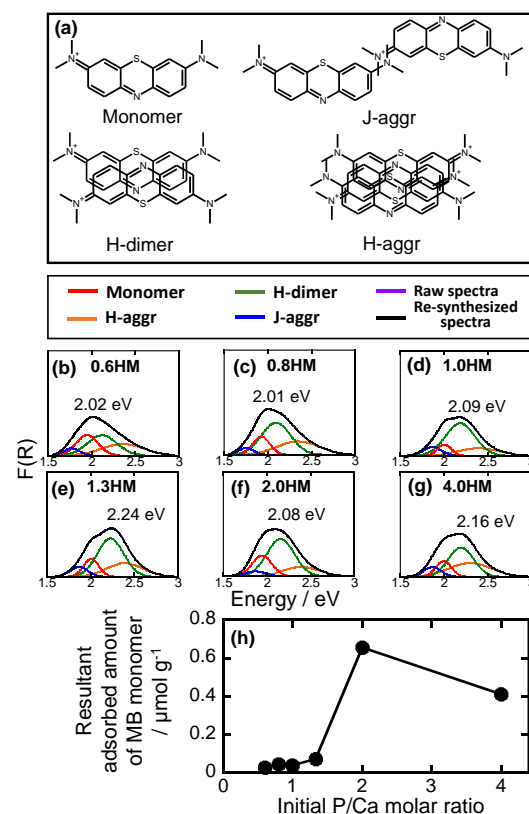


Fig. 1. (a) Possible MB molecular interactive states on the HM particles. (b–g) Peak deconvolution results using Gaussian fitting of the UV-Vis diffuse reflectance absorption spectra of XHM particles based on (a), and (h) their resultant adsorbed amount of MB monomer with the initial P/Ca molar ratio.

ウェアラブル血液浄化システムの実現に向けた 遠心紡糸法による高吸水フィルター作製

¹東京理科大学先進工・²物材機構機能性・³筑波大院数理物質

○和田 祐輝^{1,2}・菊池 明彦¹・荏原 充宏^{1,2,3}

【緒言】

現行の血液透析は膜を介した血中老廃物・過剰水の拡散・濾過による除去を主原理としているため、一回当たり 120 L もの透析液が必要である。そのためライフラインが寸断された災害時や途上国での使用は困難である¹⁾。そこで本研究では、吸水性ポリマーのファイバーマトリックスからなるフィルター素材の開発を行っている²⁾。このフィルターは、ファイバーマトリックス自体が水や低分子尿毒素を吸水可能なため、小型なウェアラブル血液透析システムの開発への道を開く新材料として期待される。しかし、フィルター素材の生産性の向上や、血液細胞の透過性など解決すべき課題がある。そこで本研究では、新たなファイバーマトリックス作製法として遠心紡糸 (CS) 法に注目した。この製法は遠心力でノズルから紡糸流体を射出しファイバーを作製する方法である。本研究では CS 法を用いて高吸水性ポリマーのポリアクリル酸 (PAA) からなるファイバーマトリックスを作製し、その吸水性能および血液への影響を評価することで、ウェアラブル血液浄化システムの実現に向けた応用を目指す。

【実験】PAA 水溶液からキャストフィルムを作製した。得られたフィルムを架橋した後に、NaOH と NaCl 溶液の混合物に 1 時間浸漬し、乾燥することで、ポリアクリル酸ナトリウム (PSA) フィルムを調製した。得られたフィルムの膨潤度を測定することで、最適な架橋条件および Na 処理条件を決定した。最適化した条件で PAA 水溶液を加熱しながら遠心紡糸し PSA ファイバーを作製し、血液中でのファイバーの単位重量当たりの吸水量を製法から比較した。実際に血液を流したときの影響を溶血率、走査電子顕微鏡 (SEM) 画像での血液細胞の粘着の観察から評価した。

【結果と考察】フィルムを用いた架橋条件および Na 処理条件では、EG 濃度が 16 wt% で 1 M NaOH のときに最大の膨潤度を示した。この条件でファイバーマトリックスを作製した。CS 法で得た PSA ファイバー径は 4~15 μm であり、従来の製法であるエレクトロスピニング (ES) 法の単位時間あたり約 500 倍の 16.8 g/h の速度で簡便に作製することに成功した。血液で静置した場合の各製法のファイバーの単位重量当たりの吸水量を Fig. 1 に示す。CS 法で得たフィルターは 1 時間で $36.5 \pm 3.4 \text{ g-H}_2\text{O/g-fiber}$ ($n=3$) 吸水する一方、ES 法で得たフィルターは $20.0 \pm 1.6 \text{ g-H}_2\text{O/g-fiber}$ ($n=3$) であり、血液中での吸水性は 1.6 倍 CS 法で作製したファイバーマトリックスで向上することが明らかになった。次に、フィルターに血液循環させ、血液の溶血率を測定したところ、CS 法で調製したフィルターでは $0.8 \pm 0.2\%$ ($n=3$) で非溶血 (<2%)、ES 法で調製したフィルターでは $12.4 \pm 0.6\%$ ($n=3$) で中等度の溶血あり (>10%) となった³⁾。SEM 画像でのファイバーに表面に粘着した血液細胞を Fig. 2 に示す。ES 法で調製したフィルター上で、CS 法で調製したフィルターよりも多くの血液細胞の粘着が確認された。CS 法で得たファイバーマトリックスでは、メッシュの空隙率が ES 法より 1.4 倍大きい⁴⁾ため、同じ材料で作製しても血液細胞の粘着が抑制できたと考えられる。成人の 1 日の排尿量は 1.2~1.5 L であるため、CS 法により作製したフィルターを 30~40 g 程度用いれば十分量の除水を達成しうる計算となる。以上の結果から、CS 法による高吸水性フィルターは、ウェアラブル血液浄化システムの実現に向けた応用を期待できる。

【参考文献】(1) M. El Nahas, *Kidney Int.*, 2005, 68, 2918-2929. (2) M. Tsuge, *et al.*, *Fibers*, 2019, 7(5), 39. (3) A. Dobrovolskaia, *et al.*, *Nano Lett.*, 2008, 8(8), 2180-2187. (4) H. N. Doan, *et al.*, *ACS Omega*, 2014, 4(14), 15992-16000.

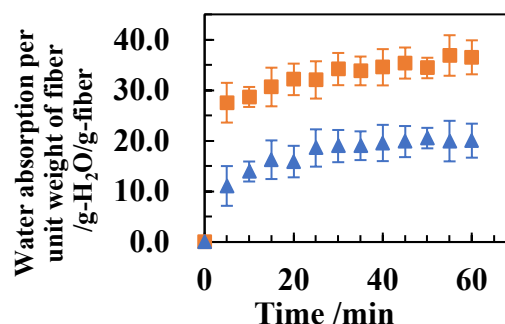


Fig. 1 Swelling kinetics for CS mesh (square) and ES mesh (triangle) in porcine blood. Mean \pm SD ($n=3$).

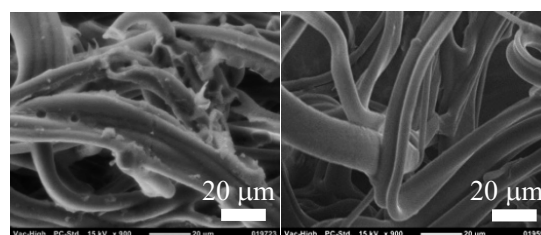


Fig. 2 SEM images of adhered blood cells on ES (left) and CS (right) fibers while blood flow test.

単一細胞の糖鎖と RNA を同時解析する技術(scGR-seq)の開発

¹産総研・細胞分子工学、²筑波大・医学医療系
○小高 陽樹¹、箕嶋 文¹、尾崎 遼²、舘野 浩章¹

【緒言】

糖鎖は、単糖が鎖状に連なって形成される生体物質であり、主に細胞表面のタンパク質や脂質に結合して存在する。また、細胞の種類や状態によりその構造が変化することから、癌細胞や幹細胞などの細胞表面マーカーによく利用されている。近年、個々の細胞に発現する遺伝子などの情報を網羅的に解析する技術が開発され、生命医科学分野で広く活用されている。しかし既存の手法では、細胞表面糖鎖を解析するには 10^4 – 10^7 個の細胞が必要であり、単一細胞の糖鎖を解析する方法がなかった。そこで本研究では、単一細胞の糖鎖と RNA を同時解析する技術の開発を行った。

【実験】

生物界に存在するさまざまな糖鎖に結合するタンパク質であるレクチンを 39 種選抜した。それぞれのレクチンに固有の DNA バーコードを、光切断性リンカーを介して標識し、ライブラリーを構築した。次に DNA バーコード標識レクチンライブラリーを細胞集団に反応させ、その後、1つの細胞ごとに分離した。光照射することでそれぞれのレクチンから DNA バーコードを切り離し、DNA バーコードと細胞を分離し回収した。DNA バーコードは PCR 増幅後に次世代シーケンサーで解析することで、1個の細胞に結合したレクチンの種類と量の情報（糖鎖プロファイル）を取得した。さらに、残存した細胞から RNA を抽出し、1細胞遺伝子発現解析法 scRNA-seq で解析することで、1細胞に発現する糖鎖と遺伝子の同時プロファイリング（scGR-seq: single cell Glycan/RNA-sequencing）を行った。

【結果と考察】

まず、糖鎖構造が既知の糖鎖改変 CHO 細胞株を DNA バーコード標識レクチンにより解析した。得られた糖鎖プロファイルは、各細胞株に特徴的な糖鎖構造を反映しており、また、フローサイトメトリーによる解析結果とも一致した。続いて、scGR-seq を用いて、ヒト iPS 細胞と分化した神経前駆細胞の糖鎖と RNA を 1細胞粒度の同時解析を行った。1細胞ごとの糖鎖と RNA の2つのオミクス情報は、それぞれ単独のオミクス情報よりも、より明確に2種の細胞型を識別した。さらに既知の iPS 細胞マーカーと新しい神経前駆細胞マーカーを同定した。scGR-seq は多細胞システムにおける細胞の不均一性や、新たな糖鎖機能の解明に有用である。

高精度なウェル内蛍光輝度定量自動化手法の人工系球体モデルへの応用

¹東京大学生産技術研究所、²東海大学・工学部機械工学科、

³東京大学医学部附属病院・腎臓内分泌内科、⁴東京大学

○土肥 浩太郎¹、木村 啓志²、南学 正臣³、松永 行子¹、藤井 輝夫⁴

【緒言】

カルチャーインサートを用いた膜型臓器の輸送能・バリア機能を評価するアッセイ系は、*in vitro* 臓器モデルの機能評価として行われてきたが、漏出または輸送された評価物質の濃度を測定する手法に関しては、サンプリングの上、質量分析等による定量法、また便宜的に蛍光標識した評価物質を吸光度・分光光度計等のモダリティで測定することが主流であり、同時アッセイ可能なサンプル数や測定時間・測定間隔等に制約が課される。そこで本研究では、ウェル内蛍光輝度の高精度な直接蛍光観察、および顕微鏡多点・タイムラプス機能を組み合わせた人工系球体モデルにおける自動化手法について検討した。

【実験】

カルチャーインサートを搭載したウェル内蛍光の直接蛍光観察に関し、測定誤差の問題となる液面メニスカスによる影響を評価した。次に、液面メニスカスによる光路長不揃いを解決すべく、凹部搭載マルチウェルを開発した(図 1A)。凹部搭載マルチウェルの機能評価として、カルチャーインサートを搭載、かつ蛍光溶液を満たした条件下で、①カルチャーインサートとウェル壁面間の領域と②凹部の蛍光分布の比較を行った。更に、凹部を用いた蛍光輝度定量の精度を評価すべく、Plate reader を比較対象として蛍光溶液段階希釈の検量線を評価した。最後に、カルチャーインサートに再現した人工系球体係蹄壁(ヒト初代系球体内皮細胞とヒト温度感受性不死化ポドサイト両面共培養系)を用いて、小及び中分子漏出試験の複数サンプル同時自動定量の可否を検証した(図 1B)。

【結果と考察】

蛍光溶液を満たしたマルチウェルプレートの蛍光観察では、液面メニスカスにより壁面に近づくに従い蛍光輝度が上昇し、そのパターンも変化する事が判明した。蛍光輝度の分布は、①カルチャーインサートとウェル壁面間の領域に比し②凹部は輝度一様のエリアが広く、蛍光輝度定量化に適した Region of interest (ROI) を有する事が判明した。検量線の決定係数は本法と Plate reader の両方で 0.99 以上と同等である一方、本法では Plate reader で見られる高濃度条件下での誤差の増大が見られず、定量精度における本法の優位性が確認された。本法と「タイムラプス機能」「多点機能」を組み合わせる事により、24 時間に渡り 1 時間間隔で細胞非存在条件、細胞存在条件の合計 6 サンプルを同時自動定量する事に成功した(図 1B)。本法を用いる事により、カルチャーインサートを利用した膜型臓器漏出試験や輸送試験を高精度かつより簡便に実施できると考えられる。

【謝辞】

本研究は国立研究開発法人 日本医療研究開発機構(再生医療・遺伝子治療の産業化に向けた基盤技術開発事業)の支援を受けて実施された。

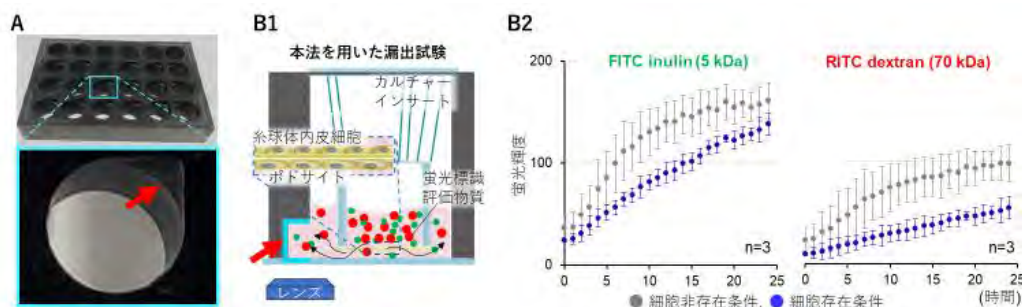


図 1 本法で用いた突出部(赤矢印)搭載ウェル(A)と本法の人工系球体モデル漏出試験への応用(B1: 実験方法、B2: 実験結果)

Young Researcher Oral Presentation Session 4

/若手口頭発表4

Versatile mitogenic and differentiation-inducible biomaterials attained by immobilization of adhesive growth factors

¹*Xueli Ren., ²Seiichi Tada., ^{1,2} Yoshihiro Ito

¹Nano Medical Engineering Laboratory, RIKEN

²Emergent Bioengineering Materials Research Team, RIKEN

[Introduction]

Biomaterials have been utilized to augment body functions or replace damaged tissues for past several thousand years. Various biomaterials, including organic and inorganic matters, have been developed for artificial organs or tissue engineering, such as metal and ceramics for artificial bones, artificial joints, and dental implants; plastic for intraocular lenses, artificial blood vessels, and dialysis modules, etc. In general, artificial materials have no biological functions, which become the limitations and obstacles to the translation from basic research to clinical utilization.

Growth factors, a group of proteins that stimulate the growth of specific tissues, play an important role in promoting cellular differentiation and cell division. Recent studies have revealed that the immobilization of growth factor protein confers biological functions to biomaterials.

Still, the immobilization methods for biomacromolecules on biomaterials, especially inorganic surfaces, with maintained bioactivity are yet limited. Therefore, 3, 4-dihydroxyphenylalanine (DOPA), which is a noncanonical amino acid found in mussel foot proteins (Mfps) and plays an important role in the binding of marine mussels to solid surfaces by providing a wide range of interactions, was attempted to be incorporated into the macromolecule for the adhesiveness.

In this study, adhesive growth factors, epidermal growth factor (EGF) and insulin-like growth factor (IGF), were intended to be developed (Figure 1). The adhesive growth factors were expected to form a nanolayer on materials surfaces and impart mitogenic and differentiating activities to biomaterials.

[Experiments]

To generate adhesive growth factors, the DOPA moieties were incorporated into EGF and IGF via the solid-phase peptide synthesis method. Then, binding affinity of adhesive growth factors toward biomaterials were evaluated. The adhesive EGF and IGF were immobilized on some types of biomaterials: titanium (Ti), hydroxyapatite (H), and polystyrene (PS). Also, the biological activities of modified biomaterials were evaluated through cell proliferation and differentiation assays. Furthermore, the signal transduction induced by the growth factor attached biomaterial was investigated by studying the intracellular distribution of the phosphorylated receptors.

[Results and Discussion]

The synthesized growth factor derivatives showed a high binding affinity to a range of material surfaces (Figure 2) and promoted cell growth more efficiently than soluble growth factors. Adhesive growth factors modified biomaterials induced proliferation or osteoblast differentiation to a greater degree than bare materials with additional soluble growth factors. The results indicated that such enhanced biological activities are caused by the prolonged activation through the cell signal transduction occurred at the biomaterials surface (Figure 3). The adhesive growth factors provide new functional biomaterials and elevate the development of medical devices.

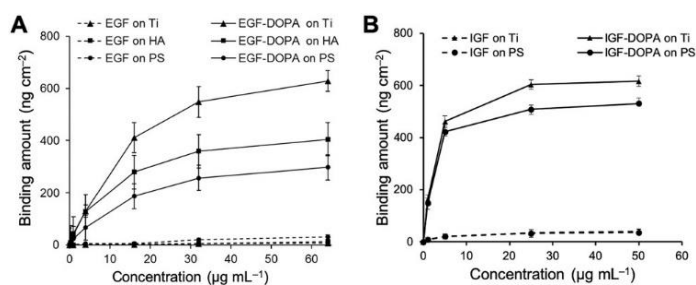


Figure 2. Binding analysis of adhesive growth factors (EGF-DOPA and IGF-DOPA) to material surfaces via quartz crystal microbalance-dissipation.

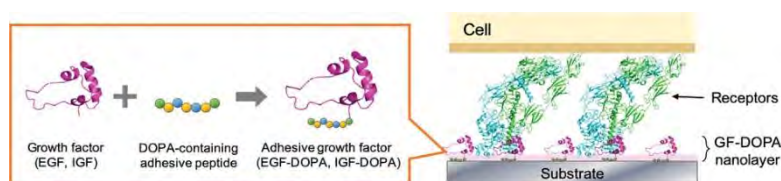


Figure 1. Illustration of adhesive growth factors on the substrate to generate bioactive biomaterials.

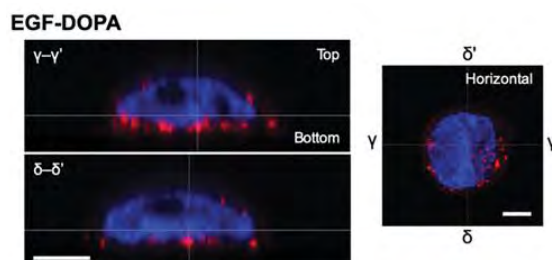


Figure 3. Distribution of phosphorylated EGFRs in A431 cells observed using a confocal microscope.

Cell-Surface Engineering with Functional Peptides to Enhance Cell Interaction for Stroke Therapy

^{1*}Isha Goel, ¹Makoto Noiri, ²Yuka Yamauchi, ²Koichi Kato ^{3,4}Yuji Teramura

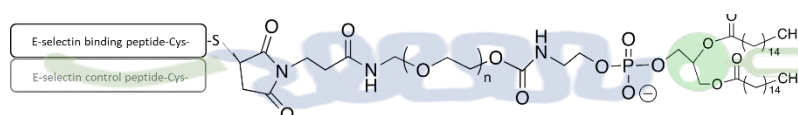
¹Department of Bioengineering, The University of Tokyo, Japan; ²Department of Biomaterials, Hiroshima University, Hiroshima, Japan; ³National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Tsukuba, Japan, ⁴Department of Immunology, Genetics and Pathology (IGP), Uppsala University, Sweden

Introduction

An ischemic stroke occurs when a blood vessel becomes blocked and deprives the downstream cells of nutrients thereby causing cell necrosis and impairing the brain function due to hypoxia caused cell death. It can lead to different effects such as chronic disability or dementia. Current treatments are available only within a certain period of the onset of stroke and the necrotic cells are irretrievable. In this study we synthesized a molecule complimentary to stroke cytokines for efficient recruitment of neural stem cells near the infarct area for a protective and therapeutic effect. The molecule consists of an E-selectin binding peptide (ES-bp) conjugated to poly(ethylene glycol), and phospholipid. iPSC derived neural progenitor cells (NPCs) were modified with these conjugates and their properties were characterized and their interaction with E-selectin was examined. These cells can serve as a candidate for cell therapy for stroke.

Experiments

iPSCs were differentiated into NPCs in a suspension culture of high glucose, serum-free media and the supplements including antibiotic, B27, EGF, bFGF, heparin, and retinoic acid. The cells were sub-cultured every 6 days, 4 times to obtain neural progenitor cells from fourth generation neurospheres. Maleimide-PEG-lipid (PEG: 5 kDa and 40 kDa) was conjugated with E-selectin binding peptide (Esbp [DITWDQLWDLMKGGGC] and FITC-Esbp) (Fig. 1). A scrambled peptide was used as a control of Esbp. We examined the binding property of Esbp-PEG-lipid to E-selectin using QCM-D (quartz crystal microbalance) apparatus which measures the binding of substrates by shift in frequency. Then, the neural progenitor cells were modified with Esbp-PEG-lipid by incubating for 30 min at room temperature, followed by washing with PBS. We used FITC-Esbp-PEG-lipid to examine the cell modification using confocal microscopy and flow cytometry and calculated the incorporated number of Esbp-conjugates. Cell viability and gene expression were studied at 5 days after the modification. Finally, we performed the binding assay of modified cells onto E-selectin-immobilized surface.



Results and Discussion

Binding study by QCM-D showed that recombinant E-selectin specifically interacted with Esbp-PEG-lipids, immobilized on the sensor chip surface. When cells were modified with the FITC-conjugate, we could detect strong fluorescence from FITC-Esbp on the cellular surface of iPSC-derived neural progenitor cells, indicating that the cells were successfully modified with Esbp-PEG-lipid. The number of incorporated peptides into the cell surface depended on the concentration of Esbp-PEG-lipid and reached approximately 2.2×10^8 and 8×10^{10} in case of Esbp-PEG(40 kDa and 5k)-lipid respectively, which is much higher than the number of membrane proteins. We observed the formation of smaller neurospheres at day 5 with no change in viability. All the cells were collected, and qPCR was performed for expression of typical neural differentiation markers, β -tubulin III and nestin with respect to the housekeeping gene GAPDH, which indicated no significant difference in expression level. Then, when the cells modified with Esbp were incubated onto E-selectin substrate surface, the treated cells showed the binding onto the substrate, indicating the specific interaction between modified cells and immobilized E-selectin. These results indicated that our modification has no cytotoxicity and helps the cells localize in E-selectin rich area.

ϵ -Poly-L-Lysine / Guanine-Quadruplexes CpG Oligodeoxynucleotide Complexes for Vaccine Adjuvant Applications

*¹Dandan Zhao, ¹Anh Thi Tram Tu, ¹Chiaki Yoshikawa, ^{1,2}Tomohiko Yamazaki

¹ Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science, 1-2-1, Sengen, Tsukuba 305-0047, Japan, ² Graduate School of Life Science, Hokkaido University, Kita 10, Nishi 8, Kita-ku, Sapporo 060-0808, Japan

[Introduction]

Oligodeoxynucleotides (ODNs) which contain unmethylated cytosine-phosphate-guanosine (CpG) motif have attracted great attention in recent years.¹ This CpG ODN can be recognized by toll-like receptor 9 (TLR9) and activate innate and adaptive immune responses. Therefore, CpG ODNs have a great potential to be used as a vaccine adjuvant.² However, several barriers greatly limit the use of naked CpG ODNs clinically, such as easy degradation by nucleases, inefficient cellular uptake. To increase the enzymatic stability of CpG ODN, we reported a structured CpG ODN named Guanine-quadruplex CpG ODN (G4 CpG ODN).³⁻⁵ However, the hydrophilicity and negative charge of G4 CpG ODNs still severely affected the efficiency of cellular uptake. In this study, we used ϵ -Poly-L-Lysine as a G4 CpG ODNs delivery system to enhance the cellular uptake property of G4 CpG ODN. The negative charge G4 CpG ODNs condensed by positive charge ϵ -PLL to form a nanoscale polyplex.

[Experiments]

Various ϵ -PLL-G4 CpG ODN polyplexes with different N/P ratios were formed. Dynamic light scattering (DLS), zeta potential, and scanning electron microscopy (SEM) were used to characterize the size, charge, and morphology of the polyplexes. The serum stability of these polyplexes was estimated by polyacrylamide gel electrophoresis. Flow cytometry and confocal fluorescence imaging were used to evaluate the efficiency of cellular uptake. Finally, we use mouse macrophage-like cells (RAW264) to evaluate the cytokine induction level of all the polyplexes.

[Results and Discussion]

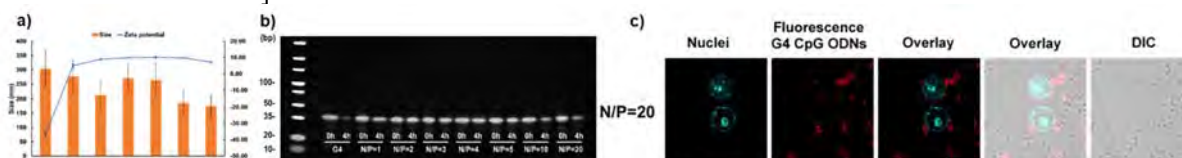


Figure 1 a) Zeta potential and hydrodynamic size of ϵ -PLL-G4 CpG ODN at different N/P ratios. b) Serum stability of free G4 CpG ODN, or ϵ -PLL-G4 CpG complexes with various N/P ratio in 50% fetal bovine serum media after incubated for 0h, and 4h. c) Confocal microscopy image of cellular uptake of ϵ -PLL G4 CpG ODN polyplexes in RAW 264 cells.

ϵ -PLL-G4 CpG ODN complexes were prepared by mixing polymer solution with equal volumed G4 CpG ODN solution. As shown in **Figure 1** a), the average size of complexes decreased with increasing the N/P ratio. At a low N/P ratio (N/P=1), the average polyplex size was about 300 nm, and it was decreased to 160 nm at a high N/P ratio (N/P=20). ϵ -PLL-G4 CpG ODN complexes at N/P=1 exhibited a highly negative charge (-36 mv), upon increasing the N/P ratio to 2, the polyplexes showed a positive charge around 5 mv. Serum stability was measured by polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE). **Figure 1** b) suggests that the stability of G4 CpG ODN was increased after condensed by ϵ -PLL. Confocal microscope result (**Figure 1** c)) indicated the formation of ϵ -PLL-G4 CpG ODN complex could increase cellular uptake of G4 CpG ODN. Strikingly, ϵ -PLL-G4 CpG ODN polyplexes induced extremely high cytokine express levels by using a small amount of CpG ODN. Moreover, the cytokine induction level could be easily tuned by changing the N/P ratios between positive charge ϵ -PLL and negative charge G4 CpG ODN. Research on the use of ϵ -PLL-G4 CpG ODN complexes in vivo is underway.

[Reference]

(1) Hanagata, N. *Int. J. Nanomedicine* 2017, 12, 515–531. (2) Yu, W.; et al. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2020, 12, 17167–17176. (3) Hoshi, K. et al. *Nucleic Acid Ther.* 2019, 29, 224–229. (4) Tu, A. T. T.; et al. *Biomacromolecules* 2020, 21, 3644–3657. (5) Safitri, F. A. et al. *Biomolecules* 2021, 11, 1617

Apoptotic cell-inspired nanoparticle for anti-inflammation therapy

¹*Liu Yihua, ^{1,2,3}Ebara Mitsuhiro

¹Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science (NIMS), Japan, ²Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba, Japan, ³Graduate School of Advanced Engineering, Tokyo University of Science, Japan. Tel: +81-29-851-3354 (8764), E-mail: EBARA.Mitsuhiro@nims.go.jp

[Introduction]

The outbreak of novel coronavirus is around the world. The lungs are inflamed by the assault from novel coronavirus. The severe inflammations from pneumonia can also widespread lead to organ damage. The chronic inflammatory is the common denominator for a lot of diseases. Although some anti-inflammatory drugs have been developed and successful in therapy, their limitations cannot be neglected. The benefit is good in early disease but not in late disease, the challenges for tissue damage still exist. Moreover, the adverse effects relate to host defense maybe occur due to more potent anti-inflammatory therapy. On the other hand, apoptotic cell is reported as a trigger for anti-inflammation effects. However, the application of cell therapy is restricted by the inconvenient availability on the market, risk of reject reaction and high cost.

The purpose of this study is to develop apoptotic cell-mimetic nanomaterials by methacryloyloxyethyl phosphorylserine (MPS) polymer for inflammatory therapy (Fig. 1). The strategy is inspired from anti-inflammatory M2 phenotype, due to researchers found inflammatory M1 phenotype macrophage could turn to an M2 phenotype in response to cytokine interleukin 4 (IL4) and exerted an anti-inflammatory function.

[Experiments]

Poly (butyl methacrylate (BMA)-*co*-2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA)-*co*-MPS) was synthesized through post-polymerization reaction [1]. MPS nanoparticles were obtained via self-assembly mechanism.

[Results and Discussion]

MPS nanoparticles regulated microglia was evaluated through in vitro expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR- γ) and interleukin 6 (IL6).

After incubating MPS nanoparticles with M1 phenotype microglia for 24 h, the expression of anti-inflammatory signal PPAR- γ on microglia showed significantly higher than untreated M0 and M1 group. The inflammatory signal IL6 of MPS nanoparticles treated group significantly decreased (Fig. 2), that is, MPS promoted inflammatory M1 phenotype to anti-inflammation M2 phenotype. Therefore, the apoptotic cell-mimetic MPS nanoparticle is a good candidate for anti-inflammation therapy.

[Reference]

[1] Y. Nakagawa et al., ACS Biomater. Sci. Eng. 2019; 5(11): 5705–5713.

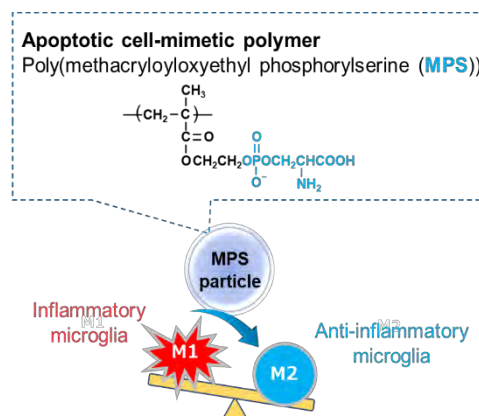


Fig 1. The strategy of this study is to induce M2 microglia polarization to exert an anti-inflammatory property via apoptotic cell-mimetic MPS.

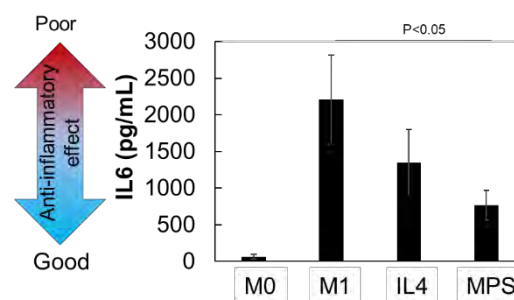


Fig.2 Inflammatory cytokine IL6 production.

Hybrid Bicelles for Transdermal Drug Delivery Application

¹*Kon Son, ^{1,2}Yoshiro Ito, ^{1,2}Motoki Ueda

¹RIKEN Center for Emergent Matter Science (CEMS)

²RIKEN Cluster for Pioneering Research (CPR)

Introduction

Mixture prepared from a combination of lipids having longer and shorter alkyl chains has been reported to assemble into phase-separated disk-shaped assemblies, referred to as bicelles. Unique shape of bicelles arise from mismatch in the critical packing parameter of the two lipids which have differing hydrophobic chain lengths. Furthermore, bicelle's shape is ideal for transdermal drug delivery applications since their diameter between 15–50 nm and thickness of 4–6 nm allow for delivery through the stratum corneum and into the epidermis ^[1]. Unfortunately, bicelles composed purely from lipids are known to suffer from dilution where, bicelles essentially transform into vesicles ^[2], making them unsuitable for effective delivery to the epidermis. Here, we demonstrate a method to overcome this issue by incorporating peptide amphiphiles which has a well-defined hydrophobic α -helix ^[3] as a secondary structure in the bicelle composition (Scheme 1).

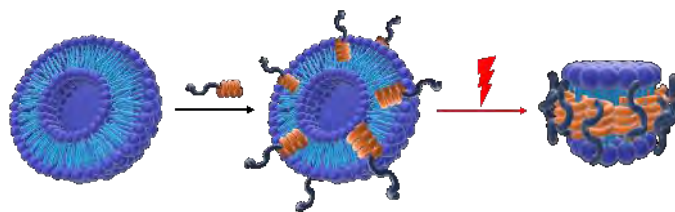
Experiments

Glycolic acid-poly(Sar)_n-*b*-(L-Leu-Aib)₈, GSL16, a hydrophilic polysarcosine attached to 16-mer hydrophobic helical block composed of leucine and aminoisobutyric acid was synthesized and stored in ethanol as a stock solution. The amphiphilic polypeptide solution was injected into a dispersion of 1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphorylcholine (DMPC) or 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DPPC) liposomes and stirred at room temperature. Next, this mixture was heated at 90 °C and assemblies were observed under TEM and AFM to confirm morphology and transient transformation. The samples were also tested for their membrane fluidity in comparison to bare liposomes.

Results and Discussion

When GSL16 was injected to a dispersion of DMPC or DPPC liposomes, TEM observation revealed that introduction of GSL16 disintegrated the liposome into fragments believed to be composed of lipid and peptide components.

Upon application of heat shock, uniform bicelles of approximately 50 nm were prepared from DMPC liposomes and those measuring 100 nm were prepared from DPPC liposomes. Various ratio combination of mixtures was prepared to observe the bicelle assembly phenomena and it was determined that the highly ordered nature of GSL16 kept the dimensions of bicelles in similar sizes, suggesting that hybrid bicelles can be assembled with peptide amphiphile playing a key role restricting assembly morphology. Analysis of these hybrid bicelles under AFM demonstrated their thickness to be approximately 4 nm and SAXS measurements provided clear indication of their disk morphology.



Scheme 1. Transformation of Liposomes into Bicelles.

References

- 1) L. Barbosa-Barros, G. Rodriguez, O.Lopez, *Small* 8, 6, 807–818 (2012)
- 2) J. L. Rigaud, D. Levy, *Methods Enzymol.* 372, 65 (2003)
- 3) M. Ueda, S. Seo, Y. Ito, *ACS Nano*, 13, 305–312 (2019)

Exploring the Potential Utility of Azido-Incorporated Silk Fibroin as a Drug Carrier Material

^{1,2}*Tian Y., ¹Tsuboi H., ^{1,2}Teramoto H.

¹Institute of Agrobiological Sciences/NARO, ²T-LSI/Univ. of Tsukuba

[Introduction]

Silk fibroin, the major protein component of silk fiber produced by the domesticated silkworm *Bombyx mori*, has been extensively studied for its biomedical applications because of its non-cytotoxicity, low antigenicity, biodegradability, and worldwide established industrial basis for mass production. Silk-based materials modified with bioactive compounds would have enhanced potential as innovative biomaterials for drug delivery and tissue engineering applications.

Genetic code expansion (GCE) is an emerging biotechnology tool to realize the incorporation of synthetic amino acids into protein biosynthesis (*Annu. Rev. Microbiol.* 2017, DOI: 10.1146/annurev-micro-090816-093247). GCE has recently been applied to *B. mori*, which has enabled the production of silk fibroin incorporated with an azido-bearing synthetic amino acid, 4-azidophenylalanine (*ACS Synth. Biol.* 2018, DOI: 10.1021/acssynbio.7b00437). The azido-incorporated silk fibroin could be a versatile platform to produce silk-based functional biomaterials because azido can be selectively modified with any functional molecules such as pharmaceuticals by click chemistry reaction.

In this study, potential utility of the azido-incorporated silk fibroin as a drug carrier material for drug delivery applications was investigated.

[Experiments]

Fluorescent dyes such as AFDye488 and Cy5 were used as drug models. These dyes were immobilized on the film of the azido-incorporated silk fibroin by click chemistry reaction through a UV-cleavable bifunctional linker (**Fig. 1A**). UV-triggered release of the dyes under the physiological condition (PBS, 37°C) was tested by irradiating the film with 365 nm UV light to cleave the linker.

[Results and Discussion]

Fluorescent dyes were selectively immobilized on the azido-incorporated silk fibroin film by click chemistry reaction, and the immobilized dyes were successfully released from the film in PBS at 37°C triggered by 365 nm UV irradiation (**Fig. 1B**). The rate of the release can be controlled by UV irradiation time. These results demonstrate the potential utility of the azido-incorporated silk fibroin as a drug carrier material.

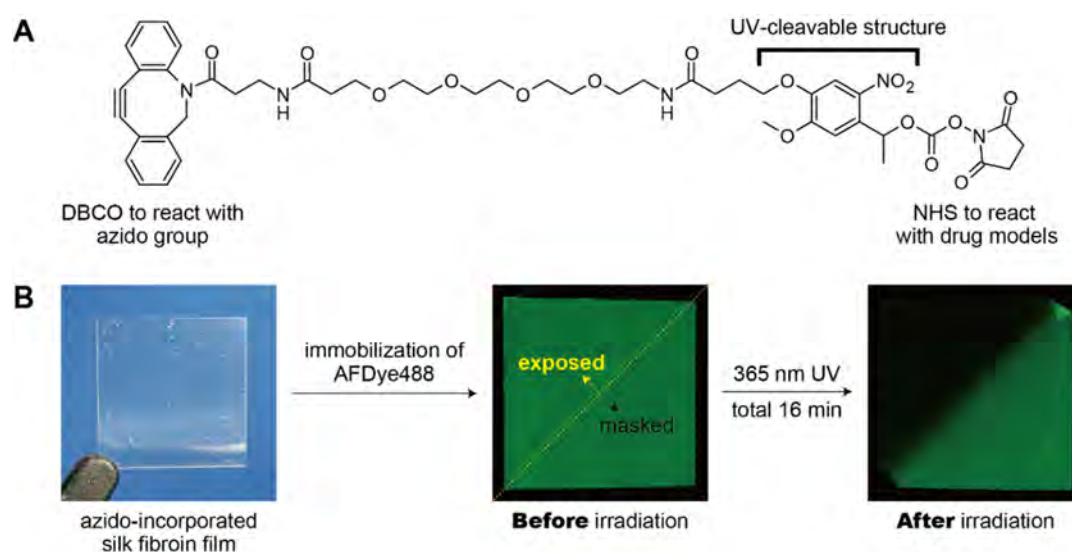


Figure 1. (A) Structure of the UV-cleavable bifunctional linker used for the immobilization of drug models onto the azido-incorporated silk fibroin film. (B) UV-triggered release of a drug model, AFDye488, from the azido-incorporated silk fibroin film. The lower right half of the film was masked with thick paper.

Enhanced biomechanical performance of additively manufactured Ti-6Al-4V bone plates

¹*Saurabh Kumar Gupta, ¹Nagur Shahidsha, ¹Sumit Bahl, ¹Dhaval Kedaria, ²Sarat Singamneni, ³Prasad K.D.V. Yarlagadda, ¹Satyam Suwas, ¹Kaushik Chatterjee

¹*Department of Materials Engineering, Indian Institute of Science, Bangalore, India*

²*Department of Mechanical Engineering, Auckland University of Technology, Auckland, New Zealand*

³*School of Chemistry, Physics and Mechanical Engineering, Science and Engineering Faculty, Queensland University of Technology, Brisbane, Australia*

Selective laser melting (SLM) of Ti-6Al-4V powder was utilized for fabrication of near-net-shape bone plates. SLM produced parts have martensitic microstructure which resulted in poor ductility, thereby limiting the application for components. Cyclic heat-treatment based on repeated heating and cooling below but close to β -transus was applied to bone plates after fabrication. This heat-treatment resulted into transformation of the martensitic microstructure into bimodal microstructure. 3-point bend test and tensile test performed on heat-treated plates have shown large improvement in ductility and the results were comparable to the plate that was manufactured from wrought alloy. Corrosion behavior of plates was assessed in simulated body fluid and results show that the corrosion resistance in as-manufactured, heat-treated and wrought plate samples were similar. Cytocompatibility in vitro was assessed using MC3T3-E1 for and results show that heat treated plate samples as cytocompatible as the additively manufactured and wrought plates. These findings demonstrate that biomechanical performance of additively manufactured bone plates can be enhanced by performing heat treatment and comparable to the plate manufactured from the wrought alloy. These results have important implications for the fabrication of patient-specific metallic orthopedic devices using SLM without compromising their biomechanical performance by subjecting them to a tailored heat treatment.

Young Researcher Oral Presentation Session 5

/若手口頭発表5

Reprogramming of Human Amniotic Fluid Stem Cells into Universal Induced Pluripotent Stem Cells

^{1*} Yun-Ting Lin, ¹ Jhe-Yu Hsu, ^{1,2} Akon Higuchi

¹ Department of Chemical and Materials Engineering, National Central University, Zhongli, Taoyuan 32001, Chinese Taipei, ² Riken Cluster for Pioneering Research, RIKEN, Wako, Saitama, Japan

[Introduction]

Stem cells are an attractive source of cells for cell therapy. Pluripotent stem cells (PSCs), such as embryonic stem cells (ESCs) and induced pluripotent stem cells (iPSCs), have the potential to differentiate into any of the cell types derived from the three germ layers. However, the disadvantage of human PSC (hPSCs) therapy is that large numbers of different types of hPSCs with specific human leukocyte antigen (HLA) class I and class II types should be prepared and banked for patient therapy. Recently, human PSCs (hPSCs) similar to hESCs were obtained from adult somatic cells by inducing "forced" expression of certain pluripotency-related genes, which is called as iPSCs. However, it takes time to generate mature human iPSCs (hiPSCs), and hiPSCs require testing to verify that there is no gene abnormality and no contamination with viruses or other pathogens, which leads to a high cost of hiPSC therapy. To reduce the high cost of preparation for hESCs and hiPSCs that match the HLA types of specific patients, it is necessary to develop hPSCs that do not or less express HLA class Ia (HLA-A, -B, and -C) and class II (universal or hypoimmunogenic hPSCs) even after differentiation into specific lineages of cells. Here we report generation method of universal hiPSCs from multiple sources of human amniotic fluids without gene editing.

[Experiments]

Human amniotic fluid derived from multi donors were mixed and incubated for 2 days at room temperature. Subsequently, the mixed amniotic fluid was seeded into cell culture (TCPS) dishes to isolate human amniotic fluid stem cells (hAFSCs). hAFSCs were cultivated in hAFSCs medium containing Sendai virus reprogramming vectors (CytoTune™ 2.0) at the proper multiplicity of infection (MOI), which was counted as day 0. The medium was replaced with fresh hAFSCs medium every day from day 1 to day 6. Transfected cells were passaged on Matrigel-coated TCPS on day 7. The medium was changed into complete Essential 8™ medium on day 8 and the universal hiPSCs colonies gradually emerged on the dish in 3 to 4 weeks.

[Results and Discussion]

Universal hiPSCs were generated without gene editing, which were reprogrammed from fetal stem cells (hAFSCs) with mixing 2-5 allogenic donors but not with single donor. We evaluated HLA class Ia and class II of our hiPSCs and their differentiated cells into embryoid bodies, cardiomyocytes, and mesenchymal stem cells. We further evaluated immunogenic response of transient universal hiPSCs with allogenic mononuclear cells from survival rate and cytokine production, which were generated by the cells due to immunogenic reactions. We analyzed the expression of HLA class Ia on hAFSCs-mix 4 (derived from hAFSCs from 4 donors) and universal hiPSCs-mix 4 using flow cytometry. Universal hiPSCs showed the lower expression of HLA class I than hAFSCs at passage 10. We further evaluated immunogenic response of universal hiPSCs and MSCs derived from universal hiPSCs with allogenic mononuclear cells from survival rate and cytokine production. Our universal hiPSCs during passages 10-25 did not have immunogenic reaction from allogenic mononuclear cells. Universal hiPSCs were successfully developed by reprogramming hAFSCs derived from multi-donors. The mixing processing was the key factor to generate low HLA class I and II. Our universal hiPSCs, which developed without gene editing, which can be used in stem cell therapy theoretically.

[References]

[1] Sung, T.C., Higuchi, A. et al., Transient characteristics of universal cells on human-induced pluripotent stem cells and their differentiated cells derived from fetal stem cells with mixed donor sources. *Cell Prolif* 2021;54(3): e12995.

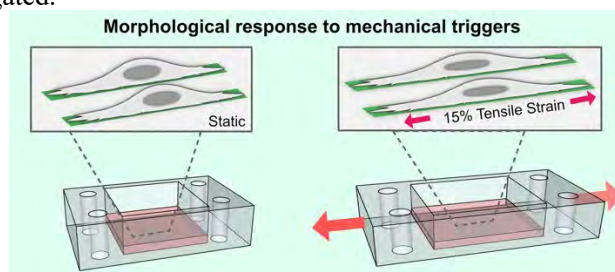
Morphological response of cells to geometrical confinement and mechanical stimuli

Kun Fang^{1,2*}, Stefan Müller^{3,4}, Motoki Ueda^{1,4}, Takashi Ushida³, Toshiyuki Ikoma², Yoshihiro Ito^{1,2,4}

¹ Nano Medical Engineering Laboratory, RIKEN Cluster for Pioneering Research, Saitama 351-0198 Japan, ² Graduate School of Material Science and Engineering, Tokyo Institute of Technology, Tokyo 152-8550, Japan, ³ Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo, 113-0033, Japan, ⁴ Emergent Bioengineering Materials Research Team, RIKEN Center for Emergent Matter Science, Saitama, 351-0198, Japan

[Introduction]

It is known that the biochemical and mechanical signals from the extracellular environment influences the cell functions. However, how the combination affects the response of cells is still poorly understood. Microfabrication is one of the efficient methods to customize the chemical and physical properties of cell culture substrates. Herein, the morphological change of cells on various gelatin micropatterns under cyclic tensile strain was investigated.



Scheme 1. Illustration of mechanical triggers on cells with substrate confinement

[Experiments]

The phenylazide-modified porcine gelatin (AA-gelatin) was synthesized by NHS/EDC chemistry, followed by dialysis and freeze-drying, and the product was characterized by the ultraviolet (UV) spectrometer. The obtained AA-gelatin was immobilized to the surface of polydimethylsiloxane (PDMS) by irradiation of UV light at 365 nm with specific photomasks. The strip-shaped micropattern with 10 and 2 μm of width was prepared and confirmed by an optical microscope. Cell culture of rat renal interstitial fibroblast (NRK-49F) and mouse calvaria-derived pre-osteoblast (MC3T3-E1) was conducted on the photo-immobilized samples. The whole AA-gelatin coating without micropattern was set as a control in the study. Cyclic tensile strain (15%, 2 Hz) was applied to the cultured cells for different periods. After mechanical stimulation, immunostaining of cytoskeleton and nucleus was performed, and fluorescent microscopy images were obtained. Morphological features, such as cell area, cell length, circularity, and roundness were analyzed by Fiji Software.

[Results and Discussion]

The conjugation of phenylazido groups to the polymer chain of gelatin was confirmed by the UV absorbance at 268 nm. Clear gelatin micropatterns were fabricated on the surface of PDMS with a thickness around 70 nm. Cell alignment was achieved on the gelatin micropattern for both MC3T3-E1 and NRK-49F cells, resulting in a significant reduction of cell area, circularity, and roundness compared to cells growing on the non-micropattern coating sample. When 15% of cyclic tensile strain was applied as a mechanical stimulus, the adhesion area of NRK-49F cells on the non-micropattern surface decreased while the length increased, which was due to the re-orientation perpendicularly against force to maintain membrane integrity. NRK-49F cells on micropatterns with 10 μm -width shrank after 20 h of stretching. Accordingly, the circularity and roundness increased due to the morphological transition. While the cells on micropattern with 2 μm -width were elongated after 20 h of stretching. MC3T3-E1 cells on non-micropattern surfaces also went through a similar re-orientation as NRK-49F and further polarization with an increase of cell length, responding to the mechanical strain. Different from NRK-49F cells, mechanical strain strongly inhibited cell adherence and protrusion of MC3T3-E1 on either 10 μm - or 2 μm -micropatterns. The adhesion area and length of MC3T3-E1 cells significantly decreased only after 4 hours of stretching with a significant increase in circularity of the cells.

GVHD treatment using MSCs cultured on ECM-coating surface

^{1*} H.-T. Lee, ^{1,2} A. Higuchi

¹ Department of Chemical and Materials Engineering, National Central University, Taoyuan, Chinese Taipei,

² Riken Cluster for Pioneering Research, RIKEN, Wako, Saitama, Japan

[Introduction]

Graft versus host disease (GVHD) is a condition that will occur after an allogeneic transplant. Mesenchymal stem cells (MSC) have been increasingly examined for the treatment of immune-related diseases due to their immunosuppressive properties. In this project, we aimed to establish the evaluation of GVHD effect on the injection of various kind of human MSCs (hMSCs). We evaluated (1) which hMSCs are effective to suppress GVHD. We used several types of hMSCs such as human amniotic fluid stem cells (hAFSCs), adipose-derived stem cells (hADSCs) and human pluripotent stem cells (hiPSCs, HPS0077)-derived MSCs in this study. We also investigated (2) which cell culture environment (biomaterials) support GVHD treatment by hMSCs.

[Experiments]

A. MSC differentiation into osteoblasts

Human amniotic fluid stem cells (hAFSCs), adipose-derived stem cells (hADSCs) or hiPSC-derived MSCs were seeded on 12 well tissue culture polystyrene (TCPS) or extracellular matrix (ECM)-coated dishes at a density of 6×10^3 cells/cm². After the cells grew up to 75% - 80% confluence, the cell culture medium was replaced into osteogenic induction medium. Then, the differentiated (Osteoblast) cells were characterized using Alizarin Red S staining and von Kossa staining.

B. Mononuclear treatment

Mononuclear cells were isolated from blood using the Ficoll-Paque solution and centrifugation. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) consist of lymphocytes (T cells, B cells, Natural killer cells), and monocytes. These mononuclear cells were utilized to evaluate the immunogenic reaction by co-culture with targeted cells (MSCs or MSCs + osteoblasts).

[Results and Discussion]

In this study, hADSCs and hAFSCs were treated with allogenic mononuclear cells and then performed the live and dead staining of hADSC and hAFSC after allogenic mononuclear cell treatment. It is found that both hADSC and hAFSC had the ability to suppress the inflammation reaction by allogenic mononuclear cells. Because the dead cell percentage of hAFSCs was less than hADSCs (Figure 1), hAFSC revealed to be more suitable for the immunosuppression from allogenic mononuclear cells. We further evaluated the effect of ECM (extracellular matrix) proteins (laminin-521, laminin-511, recombinant vitronectin, fibronectin, collagen type I and Matrigel) on the decrease of dead cells of osteoblasts on ECM protein-coated dishes by treatment of allogenic mononuclear cells, where several kinds of MSCs were cocultured with the osteoblasts. In the future, these immunosuppressive effects of MSC might have the possibility to apply in other immune-related diseases.

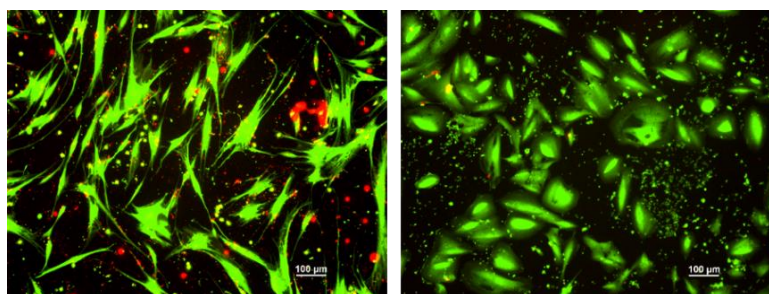


Fig. 1. Live (green) and dead (red) staining of hADSC (left) and hAFSC (right) after allogenic mononuclear cell treatment.

Design and Fabrication of Osteoconductive Hybrid Scaffolds for Bone Augmentation through Fuse Filament Fabrication

¹* Mohammad Aftab Alam Ansari, ² Prashant Kumar Jain, ¹ Himansu Sekhar Nanda

¹ Biomedical Engineering and Technology Lab, Mechanical engineering discipline, PDPM Indian Institute of Information Technology, Design & Manufacturing Jabalpur, India, ² FFF Laboratory, Mechanical engineering discipline, PDPM Indian Institute of Information Technology, Design & Manufacturing Jabalpur, India

* Presenting author: 1913606@iiitdmj.ac.in

**Corresponding authors: pkjain@iiitdmj.ac.in; himansu@iiitdmj.ac.in

1. Introduction

Selection of biomaterials is very crucial while designing the scaffolds for bone tissue engineering (TE), as it requires both strength as well as bone regeneration properties. In this work poly lactic acid (PLA) has been used as polymer matrix phase while anhydrous calcium sulphate (CaS) as osteoconductive ceramic phase. Combining the advantage of both polymer and ceramic with 3D printing manufacturing techniques is a decent approach in developing bone TE scaffolds.

2. Experiments

Initially the PLA and anhydrous CaS powder was dried at 80°C, to avoid any hydrolysis and oxidative degradation. The PLA-CaS composite was prepared by solvent casting method. PLA pellets was dissolved in dichloromethane organic solvent for 6h. CaS powder (40%, 20%, 10% and 0% named as A, B, C and pristine PLA respectively) was added batch wise into the PLA solution, and stirred followed by sonication for 30 minutes for homogeneous mixing. The paste was left overnight for drying under desiccator and then shredded into pellet form for filament extrusion. These pellets were extruded through a single screw filament extruder at a constant temperature of 140°C (**Figure 1-a**). CAD model of scaffold was designed in SolidWorks 2018 (SolidWorks Corporation, USA) with square and hexagonal pore geometry having dimension of $\varnothing 15 \times 5.12$ mm and 600 μ m air gap. Fused Filament Fabrication (FFF) 3D printing was used to fabricate PLA-CaS based hybrid scaffolds (**Figure 1-c**). The suitability of the developed filament for FFF process was validated through melt flow index (MFI) behavior. The fabricated scaffolds were characterized for mechanical strength, surface roughness, geometrical accuracy and hydrophilicity.

3. Results and Discussion

The MFI of PLA filament reduced from 7.22g/10 minute to 3.57g/10 min for 10% CaS and then increased to 5.75g/10 min for 40% CaS loaded filament (**Figure 1-b**). The compressive strength of 40% loaded ceramic scaffold was 36 MPa with young's modulus of 65 MPa (**Figure 1-d**). The surface roughness of these scaffolds increased from 0.078 μ m to 2.179 μ m at 40% CaS content (**Figure 1-e**). The average weight of hexagonal scaffolds was 16% higher than those of square shaped pore scaffolds (**Figure 1-f**). The porosity was found to be 50-60% with a well interconnected pores. The addition of CaS enhances the wettability of scaffolds, with improved contact angle of 69 degrees from 78 degrees in case of pristine PLA scaffolds.

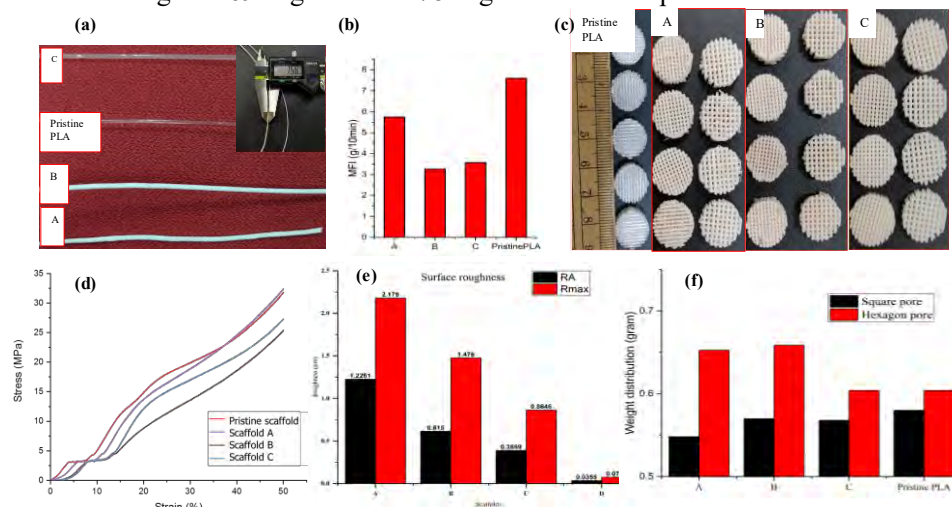


Figure 1(a) Extruded filament (40%, 0%, 20%, 10%) (b) MFI behavior of filaments (c) 3D printed hybrid scaffolds with varying pore geometry (d) combined stress-strain graph of all scaffolds (e) surface roughness of all the scaffolds (f) weight distribution of square and hexagonal pore geometry of all groups

Culture and Differentiation of Human Pluripotent Stem Cells into Mesenchymal Stem cells on Oligopeptide-grafted Hydrogels

¹*Chang Yu-Tang, ¹Wang Chun-Ko, ^{1,2}Akon Higuchi

¹ Department of Chemical and Materials Engineering, National Central University, Zhongli, Taoyuan 32001, Chinese Taipei, ² Riken Cluster for Pioneering Research, RIKEN, Wako, Saitama, Japan

Introduction

Human pluripotent stem cells (hPSCs) including human embryonic stem cells (hESCs) and human induced pluripotent stem cells (hiPSCs) have the ability to differentiate into the cells derived from three germ layers, such as endoderm, ectoderm and mesoderm. The pluripotency maintenance and adequate differentiation of hPSCs into specific lineage of the cells can be regulated by cell culture biomaterials, because hPSCs are regulated by physical and biological cues of the cell culture biomaterials. We have developed oligopeptide-grafted hydrogels having specific elasticity for hPSC culture and differentiation into mesenchymal stem cells.

Experimental

Polyvinylalcohol-co-itaconic acid (PVA-IA) hydrogels were prepared on the dishes and grafted with several designs of oligopeptides that derived from vitronectin and laminin having elasticities of 25.3kPa and 30.4 kPa storage moduli by controlling the crosslinking time.¹ Human ESCs (H9) and iPSCs (HPS0077) were cultured on the hydrogels and the morphology and the expansion fold were evaluated for over ten passages. Furthermore, we differentiated hESCs into Mesenchymal Stem Cells (MSCs) using a conventional protocol and characterized hPSC-derived MSCs using flow cytometry (MSCs surface marker expression of CD44, CD73, CD90 and CD105) and differentiation ability into osteoblasts.

Results and Discussion

Human ESCs can proliferate well on different oligopeptides-grafted hydrogels having 25.3 kPa elasticity (24h crosslinking time) for more than 10 passages, whereas hESCs cannot proliferate for more than 5 passages on the hydrogels having 30.4 kPa elasticity (48h crosslinking time). The expansion fold of hESCs and hiPSCs on oligopeptide-grafted hydrogels having elasticity =25.3 kPa and 30.4 kPa at each passage were investigated. The hydrogels grafted with oligopeptides of KLB2CK, LB2CKKK and KKLKB2CK were found to be preferable for hPSC proliferation when the elasticity of the hydrogel was 25.3 kPa. Positive amino acid of lysin (K) insertion on the oligopeptide is found to be critical for optimal proliferation of hESCs and hiPSCs on the oligopeptide-grafted hydrogels, which contributed to enhance zeta potential of the hydrogels.

Human PSCs were differentiated into MSCs on hydrogels grafted with (a) laminin derived oligopeptide (LB2CK, KLB2CK, LB2CKK, LB2CKKK and (b) vitronectin derived oligopeptide VN2CK. Human ESC-derived MSCs on LB2CK-grafted hydrogels showed the best morphology, excellent doubling time, and high MSCs surface marker expression.

Human PSCs can proliferate and differentiate well on oligopeptide-grafted hydrogels, which are the promising xeno-free cell culture biomaterials. We hope that the hydrogels developed in this study can be used in clinical therapy in the future.

References

[1] Higuchi A., et al., Sci Rep 2015;5:18136.

Black Phosphorus-Gelatin Composite Scaffolds for Photothermal therapy and Adipose Tissue Regeneration

^{1,2}*Linawati, Sutrisno, ^{1,2}Huajian, Chen, ¹Toru Yoshitomi, ¹Kawazoe, Naoki, ^{1,2}Guoping, Chen.

¹ Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science, Tsukuba, Japan, ² Department of Materials Science and Engineering, Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan.

[Introduction]

Surgical intervention has been a gold standard for breast tumor therapy; however, tumor recurrence and breast defect become the major obstacle for its biomedical application. Photothermal therapy provides new avenue for tumor ablation, but most of the photothermal agents are non-degradable. Black phosphorus (BP) has attracted increasing attention due to its photothermal conversion efficiency, good biocompatibility and biodegradability. Due to easy diffusion of free nanoparticles, immobilization of nanoparticles into porous scaffolds has become an attractive way to achieve cancer cell ablation and promotion of adipose tissue regeneration. In this study, bifunctional porous scaffolds of black phosphorus (BP) and gelatin with the controlled pore structures were prepared for breast cancer treatment as well as adipose tissue regeneration. The composite scaffolds not only protected BP from oxidation, but it also possessed a high photothermal conversion effect against breast cancer cells and promote adipose tissue regeneration.

[Experiments]

The BP nanosheets (BPNSs)-gelatin porous scaffolds were obtained by freeze-drying the mixture of BPNSs, gelatin solution and ice particulates. Briefly, BP were exfoliated and characterized by visible-near infrared absorption spectroscopy. Ice particulates were prepared by spraying ultrapure water into liquid nitrogen and then mixed with gelatin solution containing different concentrations of BPNSs. The constructs were frozen, freeze-dried and cross-linked to obtain BPNSs-gelatin composite porous scaffolds. The composite scaffolds were seeded with breast tumor cells (MDA-MB231-Luc) and cell ablation was performed under near-infrared (NIR) laser irradiation (805 nm) *in vitro* and *in vivo*. Furthermore, to evaluate the effect of the scaffolds on adipogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells (hMSCs), hMSCs were cultured in the BPNSs-gelatin porous scaffolds with the adipogenic medium. After 1-week culture, the cell-scaffold constructs were implanted for 2 weeks and their effect on adipocyte cells were investigated *in vitro* and *in vivo*.

[Results and Discussion]

The BPNSs had an irregular shape with an average lateral size of about 349 ± 129 nm. The visible-near infrared absorption spectrum showed that the BPNSs had a strong absorption peak in the NIR region, which is beneficial for photothermal therapy. Scanning electron microscopy (SEM) observation of the composite scaffolds showed that the BP-gelatin composite scaffolds had spherical pores with good interconnectivity. The BP-gelatin scaffolds had a high photothermal ablation efficiency of MDA-MB231-Luc *in vitro* and *in vivo*. Furthermore, *in vitro* and *in vivo* results revealed that BP-gelatin scaffolds could up-regulate the formation of lipid vacuoles and adipogenic-related gene expression for promoting adipogenic differentiation of hMSCs. Considering the anticancer and adipose tissue regeneration effect of this composite scaffolds, the scaffolds may offer the facile strategy that combines tumor inhibition and support adipose tissue regeneration in clinical application.

Comparative analysis of degradation behavior of synthetic porous scaffolds using computer methods of biomedical engineering

Rishi Kumar^{a,*}, Mohd. Zahid Ansari^{b,**}, Himansu Sekhar Nanda^{a,**}

^aBiomedical Engineering and Technology Lab, Mechanical engineering discipline, PDPM Indian Institute of Information Technology, Design & Manufacturing Jabalpur MP 482005, India

^bMEMS and Microfluidics Lab, Mechanical Engineering Discipline, PDPM Indian Institute of Information Technology, Design & Manufacturing Jabalpur MP 482005, India

* Presenting author: 21pmco06@iiitdmj.ac.in

**Corresponding authors: zahid@iiitdmj.ac.in; himansu@iiitdmj.ac.in

1. Introduction

Scaffolds serves as a porous degradable supporting structure that assists in tissue regeneration. A porous scaffold is used to provide extra cellular matrix (ECM) of the native tissue to support cell-material interaction for a new tissue formation. During tissue regeneration process, a scaffold degrades with time and the new tissue replaces the degraded structure with its own ECM. The rate of degradation should match with rate of new tissue regeneration. The degradation studies are usually evaluated using the existing experimental approach, which is tedious and time consuming. In order to eliminate the limitations, we used computational method are used to evaluate the degradation behavior of porous scaffolds in simulated *in vivo* conditions.

2. Material and Methods

Three different FDA approved synthetic polymeric porous scaffolds were used such as PLA, PLGA and PLLA. The model proposed in this work was developed in SOLIDWORKS 2019 and was simulated in ANSYS 2020. The modeled scaffolds were discretized using tetrahedron mesh given in ANSYS. The model was drawn in fluent module and the required material properties of each domain were provided. The same procedure was repeated for all the materials to find their degradation rate. The simulation was repeated till adequate erosion rate of the respective materials was achieved.

3. Results and discussions

In order to validate the model, simulation results were compared with the empirical degradation experiments of scaffold in bone tissue. Thus the result obtained has substantially affirmed the homogeneous degradation of proposed model and the method developed is believed to pave the way for predicting the degradation of porous scaffolds made from new materials such as hybrid structures.

Table 1. Input parameters along with output and erosion rates

	Input		Output	Erosion Rates (g/m ² s)		
	Inlet velocity (m/s)	Interaction velocity (m/s)	Outlet velocity (m/s)	PLA	PLGA	PLLA
Case - 1	1.7	1.7	5.42	3.34	0.779	7.34
Case - 2	2.0	1.7	5.45	3.34	0.779	7.34
Case - 3	2.5	1.7	5.72	3.34	0.779	7.34

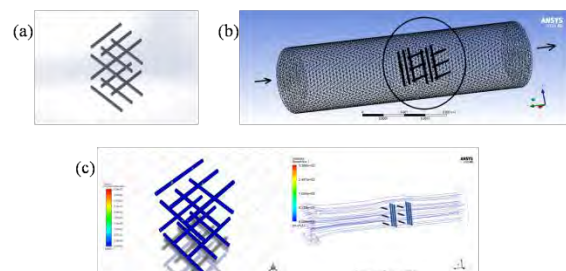


Figure 1. Porous scaffolds design (a) Meshing of scaffold design with cylindrical encapsulation (b) DPM Erosion pattern and velocity flow pattern of material

Young Researcher Oral Presentation Session 6

/若手口頭発表6

Preparation of composite scaffolds of folic acid-functionalized gold nanoparticles and gelatin for targeting photothermal therapy

^{1,2} *Huajian Chen, ¹Xiuhui Wang, ¹Naoki Kawazoe, ^{1,2}Guoping Chen

¹ Tissue Regeneration Materials Group, Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science, 1-1, Namiki, Tsukuba, ² Department of Materials Science and Engineering, Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba, 1-1-1, Tennodai, Tsukuba

[Introduction]

Recently, photothermal therapy has been developed as a promising cancer therapeutic strategy, which depends on hyperthermia generated by photothermal agents absorbing near infrared (NIR) light to ablate tumor cells. Until now, various photothermal conversion agents, especially gold nanoparticles (AuNPs), have been explored. However, poor targeting specificity on tumor cells and easy diffusion of free nanoparticles from tumor site still restrict their wide application. To address these issues, composite scaffolds by immobilizing AuNPs into 3D porous scaffolds was developed to realize repeated and local photothermal therapy in our previous work. In this study, folic acid (FA), as a targeting ligand of tumor cells, was introduced into AuNPs-gelatin porous scaffolds to enhance tumor cells capture ability. FA-functional scaffolds were prepared by embedding FA-gelatin-coated AuNPs into FA-gelatin matrices and using ice particulates as porogen. Moreover, tumor cell capture and photothermal ablation ability of composite scaffolds were investigated.

[Experiments]

Firstly, the FA-gelatin conjugate was synthesized based on reaction between folic acid (FA) and gelatin. Secondly, Gold nanoparticles (AuNPs) with different shapes (nanorod, nanostar) and different sizes (around 40.0 nm, 70.0 nm and 110.0 nm) were synthesized by a seed growth method. One-pot method was used for the synthesis of Au nanorods with a longitudinal length of 110 nm. Finally, ice particulates porogen method was used to prepare FA-functionalized composite porous scaffolds embedded with FA-gelatin-coated AuNPs with different shapes and sizes.

[Results and Discussion]

The UV-Vis spectra indicated the FA-gelatin conjugate was synthesized and their conjugate rate was calculated and optimized. The TEM images showed the morphology and size of synthesized AuNPs. The UV-VIS spectra of AuNPs showed AuNR possessed two LSPR peaks and AuNS had an abroad LSPR peak, which might be useful for photothermal therapy. The SEM images showed the composite scaffolds had spherical large micropores with good interconnectivity. Photothermal-induced temperature change of composite scaffolds was correlated with the shape and size of AuNPs (Figure 1). The FA introduced in composite scaffolds showed high tumor cell capture ability compared with control groups. The photothermal ablation efficiency of tumor cells were dependent on the photothermal performance of the composite scaffolds. The results indicated FA-functionalized AuNRs 70-gelatin composite scaffolds had a good tumor cell capture and photothermal ablation ability. For the *in vivo* experiments, temperature monitor during laser irradiated implantation site of mice showed that the temperature of implanted scaffolds without AuNPs was kept almost unchanged. On the contrast, the temperature of composite scaffolds embedded with AuNPs was increased significantly. Besides, whole body bioluminescence imaging showed the *in vivo* tumor cell ablation effect.

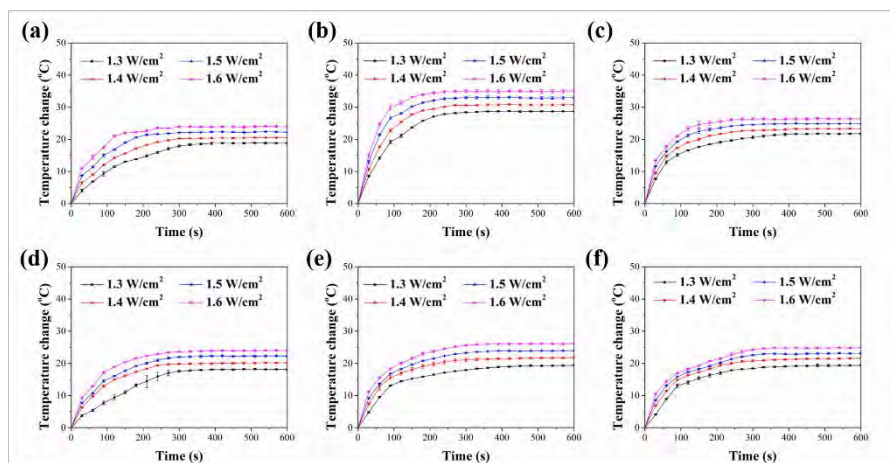


Figure 1. Photothermal conversion curves of FA-functionalized gelatin-AuNPs composite scaffolds: a) FA-G/R40, b) FA-G/R70, c) FA-G/R110, d) FA-G/S40, e) FA-G/S70, f) FA-G/S110.

Manganese-based Tumor Microenvironment-Responsive Radiotherapy

^{1,2}*Xuping YU, ²Xiupeng WANG, ¹Atsushi YAMAZAKI.

¹Graduate School of Creative Science and Engineering, Waseda University, Japan, ²National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Japan.

[Introduction]

Nowadays, many different therapeutic strategies for cancer treatments have been developed. But the clinical used treatments are still surgery, chemotherapy and radiotherapy (RT). Due to the composite tumor microenvironment (TME) featured, the efficacy of clinically used radiotherapy is still limited. Recently, strategies of taking advantage of TME features showed good outcomes on cancer cell killing efficiency. Manganese (Mn), one of the trace elements that plays an important role in many in vivo processes, was also applied to cancer treatments and presented many good outcomes. Mn-based nanomaterials can improve intracellular O₂ level (Zeng and Zhang et al., 2020) and highly cytotoxic hydroxyl radical content utilizing the H₂O₂ and Glutathione (GSH) abundant in TME (Ma and Nishina et al., 2021; Ou and Tian et al., 2021; Gong and Yang et al., 2020), as well as activate the immune system (Lv and Chen et al., 2020; Song and Liu et al., 2021). Therefore, it is considered that Mn-based nanomaterials may be a kind of prominent radiosensitizers. In our studies, Mn-based nanoparticles (SiO₂-Mn NPs) to enhance the efficiency of RT was synthesized.

[Experiments]

SiO₂-Mn NPs was synthesized by hydrothermal method. The reactive oxygen species (ROS) generation and oxygenation ability of synthesized SiO₂-Mn NPs was studied through the reaction with H₂O₂. ROS generation ability was indicated by the concentration of Methylene Blue (MB) degradation. The oxygenation ability can be evaluated by the produced bubbles content. The radio-sensitization of SiO₂-Mn NPs was confirmed by co-culturing cancer cells with SiO₂-Mn NPs combination with radiation by X-ray. Cell viability was analyzed through a standard Cell Counting Kit assay.

[Results and Discussion]

Fig.1(a) shows the MB degradation after reacted with SiO₂-Mn NPs/GSH in H₂O₂ solution. The absorption peak at 660nm of UV-VIS absorbance spectra of MB decreased with reaction time increase. After reaction for 2h, the absorption peak of MB was almost disappeared, suggesting that a high level of ROS was produced through the reaction between SiO₂-Mn NPs/GSH in H₂O₂ solution, by which MB was almost totally degraded. Besides, as showed in Fig.1(b), plenty of air bubbles can be observed in H₂O₂ solution containing SiO₂-Mn NPs, indicating that O₂ was generated through reaction between SiO₂-Mn NPs/GSH and H₂O₂. Fig.1(c) shows the cell viability of Lewis lung carcinoma (LLC) cells co-cultured with SiO₂-Mn NPs followed by X-ray radiation. Compared with cells treated with X-ray radiation alone or SiO₂-Mn NPs, cells treated with both SiO₂-Mn NPs and X-ray radiation presented lower cell viability, suggesting that the efficiency of RT was significantly increased. So, it is confirmed that the synthesized SiO₂-Mn NPs may be a kind of potential radiosensitizer to improve radiotherapy efficacy.

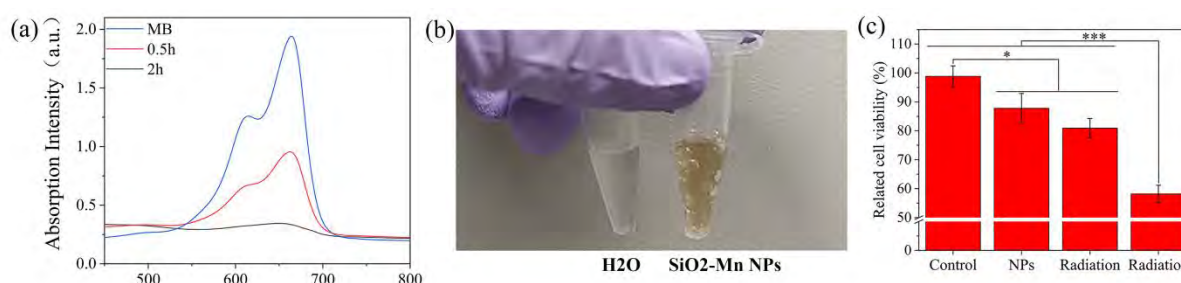


Fig.1(a) Absorbance spectra of MB in H₂O₂ solution containing SiO₂-Mn NPs; (b) Oxygenation ability of SiO₂-Mn NPs; (c) Cell killing efficacy of SiO₂-Mn NPs combined with radiation by X-ray

Determining the Trigger of Breast Cancer Inactivation State on the Fluidic Substrate: Bulk vs Near-surface Mobility?

¹Najmina, M., ^{1,2,3}Ebara, M., ²Uto, K.

¹Graduate School of Science and Technology, University of Tsukuba, ²Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science, ³Graduate School of Science and Industrial Technology, Tokyo University of Science

[Introduction]

In the previous study, the fluidity of the material was shown to drive the senescence of the breast cancer cells. However, whether senescence is a general response of cell that cultivated on fluidic material is yet unclear. On the other hand, the normal breast cells are known to be less sensitive to the stiffness change of the underlying substrate in comparison to the breast cancer. While, breast cancer is a disease where stress relaxation is more dominant than elastic moduli. In this study, the effect of fluidity on the senescence fate of breast cancer and normal cells is furtherly investigated by using the different level of fluidic material. Moreover, this study was performed to confirm which one between the bulk and surface dissipative properties of the fluidic substrates acts the main triggers in the inactivation of breast cancer cells and breast normal cells.

[Experiments]

Poly(caprolactone-co-D,L-Lactide) or P(CL-co-DLLA), a hydrophobic polymer in its molten state which behaves as a viscous liquid ($G'' > G'$), was used as the fluidic material. It was synthesized by ring-opening polymerization of ϵ -caprolactone (m) and D,L-Lactide (n) monomer by using the pentaerythritol initiator with (m/n) ratio of 60/40. A viscous substrate as a fluidic material was then prepared by spin-coating technique. MCF-7 cells were seeded in low, moderate, and high fluidic substrate for 1-5 days and the glass substrate was used as control. All substrates were coated with fibronectin prior to cell culture. The morphology observation, metabolic assay, proliferation assay, and senescence staining were conducted at day 1, 3, and 5.

[Results and Discussion]

After the initial seeding of breast cancer cells and breast normal cells, cell instantaneously aggregated depending on the fluidity level of the fluidic substrates. The transformation from the compact spheroid-like aggregated state to the wetting- aggregated state on low and moderate fluidic substrate was observed over time, whilst aggregated form was maintained by cells on high fluidic substrate. The transformation of aggregate to the wetting aggregated form may be induced by cell-sensing ability of the viscous deformation (e.g., creep) of substrate that finally reach its equilibrium. In term of metabolic activity, cells on three types of fluidic substrates showed lower metabolic activity compared to the glass substrate. However, the cells on the low fluidic substrate show lower metabolic activity compared to cells on high fluidic substrate due to their morphology that may cause nutrition from medium more difficult to penetrate into it. In order to confirm the senescence state, SA- β -Gal staining was carried out and cells on all fluidic substrates express distinct SA- β -Gal marker in comparison to cells grown on glass substrate due to stress induced by material fluidity. This result implies that low metabolic activity of cells cultured on viscous substrate can be correlated with senescence induction. Although the breast normal cells also formed the cellular aggregates on the fluidic substrates, that aggregation was only observed on the moderate fluidic substrates. This raises the speculation that the near-surface mobility of the fluidic substrates plays more significant role in determining the cell behavior compared to the bulk mobility of the substrates. Meanwhile in the case of breast cancer cells, cells did not show any significant morphological nor adhesion difference on three fluidic substrates. Eventually, the cells underwent the inactivated state starting from day 3 of cell culture when cell aggregates partly submerged to the substrates with certain depending on the molecular weight of the polymer. The low, moderate, and high fluidic substrates possess the significant difference of bulk mobility based on the rheology measurement, while possessing insignificant surface mobility difference as characterized by fluorescence recovery after photobleaching method (FRAP) and nanoindentation. This suggests that breast cancer cells may feel the near-surface mobility of substrate and formed matured cell aggregates which then started to take the bulk mobility difference of fluidic substrate into account after partly submerging that reflected the different level of the senescence marker expression.

Integration of Modular 3D Tissue-in-a-Cube with Fluidic Devices for a BBB-on-a-Chip Model

¹*Isabel Koh, ²Toshiki Kurosawa, ²Daiki Sako, ¹Waki Sekine, ²Yoshiyuki Kubo, ²Yoshiharu Deguchi, ^{1,3}Masaya Hagiwara

¹Cluster for Pioneering Research, RIKEN; ²Faculty of Pharma Sciences, Teikyo University; ³Osaka Prefecture University

[Introduction]

In vitro models of the blood-brain barrier (BBB) that prevents most drugs from entering the brain can greatly increase the efficiency of drug development for neurological diseases. However, Transwell BBB models that are currently the most used lack the 3D culture environment and physiological stresses that endothelial cells experience *in vivo*. On the other hand, fluidic 3D organ-on-a-chip models can mimic these *in vivo* conditions but are not easy to set up by those unfamiliar with the technology.

Here, we present a concept to facilitate the simple merging of 3D culture with fluidic devices. We had previously developed a cube culture device (Tissue-in-a-Cube) comprising a polycarbonate frame, rigid agarose walls, and an inner extracellular matrix (ECM) hydrogel in which the samples are cultured. The easy handling ability of samples with a pair of tweezers enable 3D tissues to be cultured to maturation in regular well plates first, before being transferred easily to a fluidic device at the appropriate timing to perform experiments requiring flow to generate shear stress.

[Experiments]

To demonstrate this concept, we developed a BBB-on-a-Chip system. A BBB-in-a-Cube model was first made by co-culturing primary astrocytes and pericytes in Matrigel in the cube device, with iPSC-derived brain microvascular endothelial cells (BMECs) seeded on the top surface of the Matrigel. After reaching maturation, the BBB was then transferred to a fluidic device, and sealed with a convenient clamp holder, before being connected to a peristaltic pump to generate shear stress on the top BMEC layer. Evaluation of the BBB was performed by PCR and immunostaining of tight junction (TJ) and transporters, trans-endothelial electrical resistance (TEER) measurements, and permeability tests.

[Results and Discussion]

We confirmed that our BBB-in-a-Cube model showed mRNA expressions of major TJ and transporter proteins, and we obtained high TEER values from Days 3-7 of culture, in contrast to Transwell models that typically see decreasing TEER from Day 2. Although we found no significant differences in TEER values with and without shear stress, we observed some differences in some transporter expressions, indicating that shear stress may induce phenotypic and functional changes in the cells.

By using the Tissue-in-a-Cube to culture samples in regular well-plates before selecting only good samples to be incorporated into fluidic devices, the difficulties of culturing cells in 3D in fluidic devices can be greatly reduced. Furthermore, because of the modularity of the samples in the cube, there is the

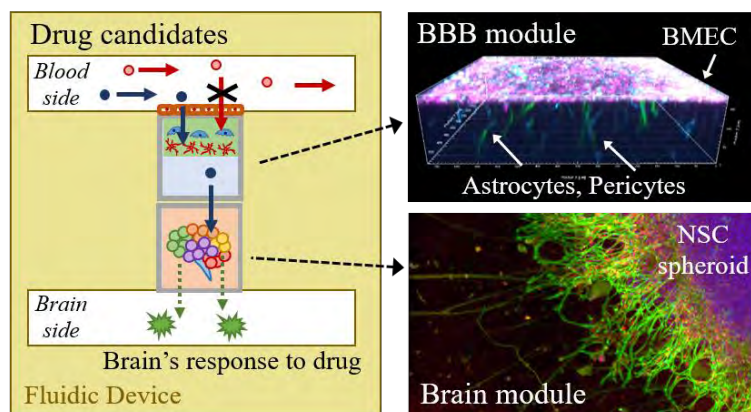


Figure 1. Application as BBB/Brain-on-a-Chip

flexibility to customize the fluidic device to suit the needs of the experiment. As an example, a device could be designed to contain a BBB module with a brain module (represented by neural stem cell, NSC spheroid) to simulate the native tissue-tissue interactions to evaluate the effects of BBB-permeable drugs on the brain (Fig. 1). Thus, this concept can also serve as a platform to develop other organ-on-a-chip technologies in the future.

Peristalsis-mimicking culture of human colon tumor organoids on a microfluidic chip

^{1,2*}Guocheng, Fang, ¹Hongxu, Lu, ^{1,3}Dayong, Jin.

¹*Institute for Biomedical Materials and Devices, School of Mathematical and Physical Sciences, University of Technology Sydney, Broadway Ultimo, Sydney, NSW 2007, Australia*

²*School of Electrical and Electronics Engineering, Nanyang Technological University, 639798, Singapore*

³*UTS-SUSTech Joint Research Centre for Biomedical Materials and Devices, Department of Biomedical Engineering, Southern University of Science and Technology, Shenzhen, People's Republic of China*

Peristalsis in the digestive tract is crucial to maintain physiological functions. It remains challenging to mimic the peristaltic microenvironment in gastrointestinal organoid culture. Here, we present a method to model the peristalsis for human colon tumor organoids on a microfluidic chip. The chip contains hundreds of lateral microwells and a surrounding pressure channel. Human colon tumor organoids growing in the microwell were cyclically contracted by pressure channel, mimicking the *in vivo* mechano-stimulus by intestinal muscles. The chip allows the control of peristalsis amplitude and rhythm and the high throughput culture of organoids simultaneously. By applying 8% amplitude with 8 ~ 10 times min⁻¹, we observed the enhanced expression of Lgr5 and Ki67. Moreover, ellipticine-loaded polymeric micelles showed reduced uptake in the organoids under peristalsis and resulted in compromised anti-tumor efficacy. The results indicate the importance of mechanical stimuli mimicking the physiological environment when using *in vitro* models to evaluate nanoparticles. This work provides a method for attaining more reliable and representative organoids models in nanomedicine.

Silver based Nanocomplexes as Multipurpose Nanomedicine for Antibacterial and Anticancer Therapeutics

¹Shagufta Haque*, ²Bonda Ramarao, ³Sudip Mukherjee, ⁴Chitta Ranjan Patra#.

¹ Department of Applied Biology, CSIR-Indian Institute of Chemical Technology, Uppal Road, Tarnaka, Hyderabad - 500007, Telangana State, India.

#CR Patra; Tel: +91-40-27191855, E-mail: crpatra@iict.res.in

Introduction: The silver nanocomplexes are globally utilized for various biomedical applications.

Experiments: In the present experimental work, Prussian blue (PB) and silver salts (silver nitrate) are integrated in the presence of PVP [poly(N-vinyl-2-pyrrolidone)] to producing stable silver hexacyanoferrate nanoparticles (silver Prussian blue analogue: $\text{Ag}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ abridged as SPBANPs)¹⁻². It is an inventive nanoparticle formulated with a purpose for an efficient as well as safer approach of treatment strategy (2-in-1) for both bacterial infections and cancer. The characterization of the biocompatible and stable nanoparticles is performed using several analytical techniques. The nanoparticles on appliance over cancer cells (MCF-7, A549, B16F10 and SK-OV-3) *in vitro* displayed estimable inhibition property. Moreover, when the only nanoparticles without any drug are injected in the aggressive murine melanoma model: B16F10 (C57BL/6/J mouse) intraperitoneally it resulted in relative inhibition of tumor growth as compared to control. Further, the SPBANPs demonstrated efficient antibacterial activity in many Gram-positive and Gram-negative bacteria.

Apart from that, we have also reported silver-based nitroprusside nanoparticles (SNPNPs) that display admirable antibacterial activity in both Gram-positive and Gram-negative bacteria observed by several *in vitro* assays³. The nanoparticles are thoroughly characterized by various analytical tools. The stability study of the nanoparticles exhibited their consistency for a longer period of time. The *in vitro* antibacterial assays including colony forming, zone of inhibition, SOD and catalase activity staining showed significant antibacterial activity in different strains (*E.coli*, *B.subtilis*, *K.pneumonia* and *P.aeruginosa*) of Gram-positive and Gram-negative bacteria.

Results: The beauty of both the nanoparticles is that they it itself functions for drug delivery, as antibacterial as well as anticancer agent. Hence, the results clearly suggest that the nanoparticles hold the potential to act as excellent anticancer as well as antibacterial agents along with serving for wound healing and anticancer activities in the future period.

References:

- 1) Mukherjee et al., Silver Prussian Blue Analogue Nanoparticles: Rationally Designed Advanced Nanomedicine for Multifunctional Biomedical Applications. *ACS Biomater. Sci. Eng.* 2020, 6, 1, 690-704.
- 2) Mukherjee et al., Biocompatible polymer coated silver Prussian blue nanoparticles. (SPB-NPs: $\text{Ag}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$). US Patent Number: 10,231,996(Granted on March 19-2019).
- 3) Rao et al. " Ag_2 $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$ nanoparticles exhibit antibacterial activity and wound healing properties." *ACS Biomater. Sci. Eng.* 4.9 (2018): 3434-3449.

Stent Deformation Analysis of Magnesium and its Alloys using Finite Element Method

Vicky Subhash Telang^{1,2,*}, Puneet Tandon^{2,**}, Himansu Sekhar Nanda^{1,**}

¹Biomedical Engineering and Technology Lab, Mechanical Engineering Discipline, PDPM Indian Institute of Information Technology, Design and Manufacturing Jabalpur 482005, India

²deLOGIC Lab Lab, Mechanical Engineering Discipline, PDPM Indian Institute of Information Technology, Design and Manufacturing Jabalpur 482005, India

*Presenting author: 1913608@iiitdmj.ac.in, **Corresponding authors: ptandon@iiitdmj.ac.in, himansu@iiitdmj.ac.in

Abstract

Stent implantation is the most widely used method for the treatment of coronary disorders. Atherosclerosis is a coronary disorder in which arteries get narrowed causing occlusion of blood vessels. It is treated using percutaneous transluminal angioplasty. In this process, a stent is placed inside the blood vessels at the blockage site. Stent implanted is expanded by using a balloon inflation system. The fully expanded stent holds the narrowed blood vessel wide open to ensure the blood flow even after the balloon is deflated and removed. The performance of the stent is predicted based on various parameters such as self-life, mechanical properties and biocompatibility. Magnesium and its alloys have shown excellent biocompatibility. Therefore, a stent property can be improved by considering the design and material used. It is also a bioabsorbable material. Hence, it can reduce the process of reoperation, if there is a stent failure. Stent design plays a key role in this procedure, as errors in the design may lead to severe damage to the host artery. During expansion, non-uniform deformation is the most common defect observed in stent implantation procedure. Non-uniform deformation defect occurs, where ends expand more than the middle section of the stent, commonly referred as dogboning, whereas the reduction in the length of the stent after inflation is known as foreshortening. These defects can damage the artery and it could also create difficulty in stent positioning.

In this study, we analyzed the deformation of the stent implanted in coronary artery inside the heart through finite element method (FEM). The non-uniform deformation of stent during an expansion is simulated using COMSOL Multiphysics numerical simulation tool. This study also presents the analysis of deformation defects such as dog boning and foreshortening along with recoil after deflation of balloon. The balloon was inflated by applying pressure in the radial outward direction to exert the load on inner walls of the stent. The stress development in the stent is compared for pure magnesium, WE43 and AZ31 alloy. The Palmaz-Schatz and Lozenge stent model was used and expanded from its initial diameter of 0.74 mm to 2 mm. Based on the finite element analysis, among three materials pure magnesium corresponding to effective plastic strain shows minimum Von-mises stress equals to 30 MPa (Table 1). From the investigation performed, it was well understood that pure magnesium is suitable for the treatment of coronary disorders due to its better mechanical strength to withstand the high-pressure blood vessel.

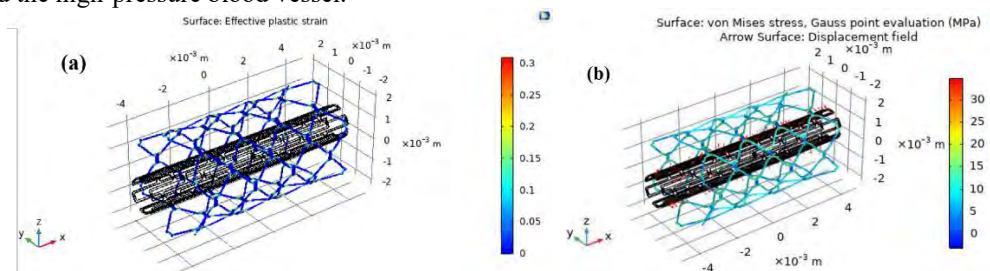


Figure 1. Stent model with full expansion (a) Effective Plastic Strain after stent deformation for Pure Mg, (b) Von-Mises stress (MPa) for Pure Mg.

Table 1. Finite element simulation result comparison of Mg and its alloys.

Material	Von-mises stress [MPa]	Effective Plastic Strain	Non-Uniform Deformation	
			Dogboning	Foreshortening
Pure Mg	30	0.28	0.48	-0.34
WE43	44	0.35	0.5	-0.18
AZ31	380	0.37	0.6	-0.08

ポスター発表セッション
/Poster Presentation Session

転移性骨腫瘍の治療を目指したビスホスホネート担持 ナノカーボン複合体の開発

¹産業技術総合研究所ナノ材料研究部門、²信州大学大学院総合医理工学研究科、
³信州大学医学部保健学科、⁴産業技術総合研究所ナノチューブ実用化研究センター、
⁵信州大学先鋭領域融合研究群バイオメディカル研究所、⁶名城大学理工学部
○中村 真紀¹、上田 勝也²、山本 由美子¹、青木 薫³、張 民芳⁴、齋藤 直人⁵、湯田坂 雅子^{1,6}

【緒言】

骨への悪性腫瘍の転移により生じる転移性骨腫瘍では、骨がもろくなり強い痛みを生じるなど、患者のQOL（生活の質）が著しく低下する。がん細胞は骨に到達すると、破骨細胞を活性化して骨吸収を促進し、それにより生じた間隙で増殖する。ビスホスホネートは、骨の表面に強く吸着し、破骨細胞に取り込まれ、細胞死を引き起こす破骨細胞抑制剤であり、転移性骨腫瘍の治療にも有用である。しかし、静脈投与後の全身循環による重篤な副作用も報告されており、少量のビスホスホネートを患部に届ける治療法の開発が望まれている。発表者らは、ナノカーボン材料の一種であるカーボンナノホーン（CNH）の薬剤キャリアとしての有用性に着目してきた。そこで、本研究では、ビスホスホネートの一種であるイバンドロネート（IBN）を担持したCNHの開発を目指した。強力な疎水基を持たないIBNは、疎水性の高いCNHにほとんど吸着できず、両者を直接複合化することはできない。そのため、骨の主要無機成分であり、IBNと親和性の高いリン酸カルシウム（CaP）を仲介させるという方法で複合化を検討した。

【実験】

酸化処理を施したCNH（OxCNH）の水分散液ならびにIBN注射液を、6種類の医療用注射液から調製したCaP過飽和溶液と混合し、反応液とした（最終濃度として、Ca: 6.6 mM, P: 3.3 mM, IBN: 0.078 mM, OxCNH: 50 µg/mL）。この反応液を25℃で30分静置し、析出物を遠心操作で洗浄・回収して試料を得た。得られた試料の構造・組成は、走査電子顕微鏡（SEM）観察、透過電子顕微鏡（TEM）観察、エネルギー分散型X線分光法、高周波誘導結合プラズマ発光分光分析法などにより調べた。また、得られた試料をマウスマクロファージ様細胞（RAW264.7細胞）ならびにRAW264.7細胞を分化させた破骨細胞に添加し、細胞観察ならびに細胞生存率の評価を行った。比較として、得られた試料に含まれるのとはほぼ同濃度のOxCNHやIBNを単独で添加し、同様の観察や評価を行った。

【結果と考察】

構造・組成解析の結果、得られた試料（図1）はOxCNH、CaP、IBNの3成分から成る複合体であることが確認できた。具体的には、OxCNHの表面にIBNを含むCaPのナノ粒子が多数付着した構造を取っていた。本複合体をRAW264.7細胞や破骨細胞に添加すると、細胞内に取り込まれ、OxCNHならびにIBNの単独添加と比べて強い細胞増殖抑制効果を示すことが明らかとなった。本複合体は、細胞内でリソソームに集積し、リソソームの弱酸性環境においてCaPを徐々に溶解させてIBNを放出し、細胞死を引き起こしたと考えられる。以上より、得られたIBN担持ナノカーボン複合体は、転移性骨腫瘍部位への局所投与により、少量のIBNで効率的に破骨細胞増殖抑制効果を発揮すると期待される。

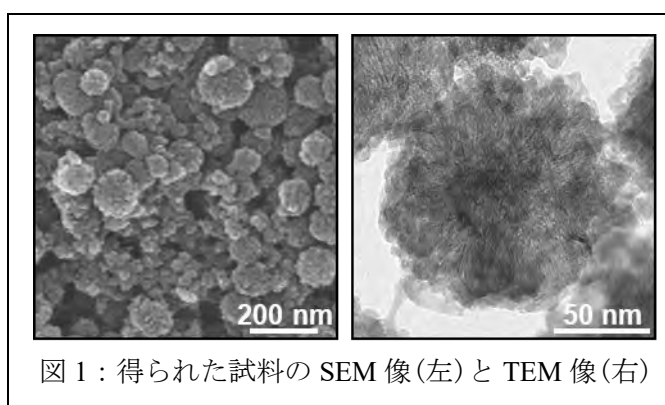


図1：得られた試料のSEM像(左)とTEM像(右)

【参考文献】 M. Nakamura, *et al.*, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **13**, 3701–3712 (2021).

中村 真紀 他, バイオマテリアル, **39**, 268–289 (2021).

【謝辞】 本研究は、JSPS 科研費（JP17H01584, JP20K21914）の助成を受けて実施された。

レーザー熱加工によるマルテンサイト系ステンレス鋼の耐食性向上

¹ 東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科、² 物質・材料研究機構・構造材料研究拠点、

³ 東京医科歯科大学・生体材料工学研究所、⁴ 神戸大学・未来医工学研究開発センター

○真中智世¹、堤 祐介²、蘆田茉希³、陳 鵬³、片山英樹²、塙 隆夫^{3,4}

【緒言】

ステンレス鋼は医療用材料としてインプラントデバイスや手術器具等に多用されている。特に、焼入れによる硬化が可能なマルテンサイト系ステンレス鋼は、鉗子やメスなど硬度が要求される器具に使用されている。一方で、マルテンサイト系ステンレス鋼は炭素を多く含むため、他鋼種と比較して耐食性に劣る。すなわち、医療用ステンレス鋼では、硬度と生体安全性の両立が難しい。発表者らのこれまでの研究により、SUS420J2 鋼への選択的レーザー溶融プロセス (SLM) で形成する特異的な急冷凝固組織では、局部腐食の起点となる介在物の形成が抑制されるため耐食性が向上することを明らかにした。しかし、SLM では製造コストが高く、製造サイズにも制限がある。本研究では、市販の SUS420J2 鋼の板材にレーザー熱加工処理を施し、SLM による積層造形体と同様に耐食性向上の効果が得られるかを検討した。

【実験】

試料にはマルテンサイト系ステンレス鋼である SUS420J2 鋼の板材を用いた。各試料に対して、試料表面が溶融する出力である 1650 W、2000 W、2500 W でレーザー熱加工を行った。耐食性の評価としてアノード分極試験を行った。試料の表面は (a) レーザー熱加工まま、(b) #800 までの湿式研磨によって表面層を除去した条件、および (c) 試料 (b) と同様の研磨後レーザー照射中心部のみが露出するように周囲を樹脂で被覆した条件とした。試験溶液は 0.1 M Na₂SO₄ + 0.585 M NaCl 水溶液、試験温度は 25°C とした。対極には Pt、参照極には標準銀/塩化銀電極 (飽和 KCl) を用い、電位掃引速度は 20 mV min⁻¹ とした。また、レーザー熱加工後の表面と断面について OM、LM、SEM による表面観察および EDS による元素分析を行った。

【結果と考察】

レーザー熱加工後の断面形状は、レーザー照射線の中心が盛り上がり、両端がわずかに凹んでいた。図 1 にアノード分極曲線の代表例を示す。レーザー熱加工まま試料 (a) の耐食性はレーザー熱加工を施していない試料と比較して低下した。レーザー熱加工後の試料表面は熱酸化により粗造化しており、表面に O、Si、Cr、Mn が偏析した最終凝固部が形成していた。この粗い表面が不働態皮膜の形成を阻害し、耐食性が低下したと考えられる。一方で、研磨によって表面の熱酸化層を除去した試料 (b) の孔食電位は、いずれの出力で加工した試料においても上昇した。さらに、研磨後にレーザー照射中心部のみを露出させた試料 (c) の孔食電位は、レーザー熱加工を施していない試料と比較して、いずれの出力で加工した試料においても数百 mV 上昇した。断面観察より、レーザー照射後試料の表層にはレーザー照射によって再溶解し急冷凝固した層 (再溶解部) が、再溶解部の周囲および内層側に、再溶解はしていないものの熱影響をうけ組織変化した層 (熱影響部) が形成していた。中心部のみつまり再溶解部のみが露出した試料 (c) でより高い耐食性を示したことから、再溶解部では介在物の形成が抑制されたと考えられる。よって、レーザー熱加工により、塩化物イオン環境におけるマルテンサイト系ステンレス鋼の耐局部腐食性が向上することが示された。

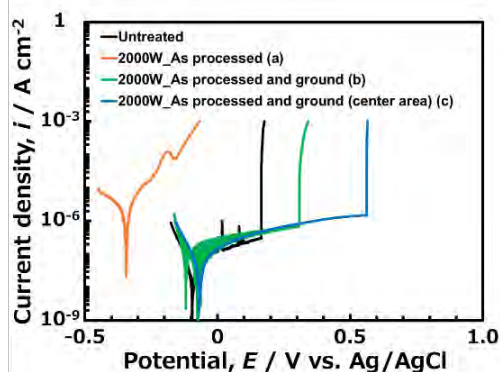


図 1 未加工および 2000 W のレーザー熱加工後の SUS420J2 の分極曲線

組織接着性粒子を用いた早期消化管がん除去後の穿孔閉鎖能評価

¹筑波大学大学院・数理物質、²物質・材料研究機構、³鹿児島大学大学院・医歯学総合研究科
○伊藤椎真^{1,2}、西口昭広²、佐々木文郷³、前田英仁³、樺山雅之³、井戸章雄³、田口哲志^{1,2}

【緒言】内視鏡的粘膜下層剥離術(Endoscopic submucosal dissection: ESD)は、消化管内に形成した早期がんを開腹することなく除去できる低侵襲な処置方法である。ESDにより消化管に形成した早期がんを除去できるようになっているものの、組織の薄い十二指腸や大腸に対しては、処置中に組織に穴が開いてしまう穿孔が高頻度で発生し、開腹手術に至る場合がある。これまで、当研究室では ESD 後の粘膜下層剥離部に接着してがん除去部を被覆するマイクロ粒子の設計と評価を行ってきた¹。一方、マイクロ粒子の穿孔閉鎖に関する知見については明らかになっていない。そこで本研究では、ESD 後の穿孔に対して有効な粒子の設計と機能について検討を行った²。

【実験】疎水化タラゼラチンとしてデシル化タラゼラチン(C10-ApGln)を選択し、タラゼラチンを2-ピコリンボラン存在下でデカナールを反応させることにより合成した。デシル化タラゼラチン粒子(C10-MPs)は、得られた C10-ApGln を用いてコアセルベーション法、凍結乾燥および熱架橋によって調製した。得られた粒子を十二指腸穿孔モデル(ピンホール径: 1 mm)に対して噴霧し、生理食塩水を添加後 30 分間膨潤させることによって十二指腸穿孔モデル上に粒子から成るコロイドゲル層を形成させた。その後、ASTM-F2392-04R により耐圧試験を行った。また、十二指腸穿孔モデル上に形成したコロイドゲル層の機械的強度・水中安定性・生体吸収性について評価した。

【結果と考察】ピンホールを開けた十二指腸組織上に MPs を噴霧後に耐圧強度を測定すると、C10-MPs は疎水化されていない粒子(Org-MPs)と比較して耐圧強度が 2.5 倍増加した。この結果は、C10-MPs が水和することにより粒子間で形成される疎水性相互作用によって強固に自己組織化し、安定なコロイドゲル層を形成したことに起因すると考えられる(Fig. 1)。また、修飾する疎水基の鎖長と導入率を制御することで疎水性の異なる粒子を作製し穿孔閉鎖能におよぼす効果も検討した。その結果、炭素数 10 のデシル基を導入し、かつその導入率が 47 mol%の条件で最大の穿孔閉鎖能を示すことが明らかとなった。一方、十二指腸穿孔モデル上に形成した Org-MPs コロイドゲルは生理食塩水中で 2 日以内に溶解したが、C10-MPs のコロイドゲルは 2 日後でも安定に十二指腸穿孔モデル上に被覆されることが明らかとなった。これらの結果から、C10-MPs は十二指腸の粘膜下層剥離部に存在する疎水性分子群(リン脂質膜、フィブロネクチン、エラスチン等)との疎水性相互作用により水環境下での安定な接着性を維持していると考えられた。C10-および Org-MPs をラットの背部皮下組織に埋入したところ、コロイドゲル周辺の過剰な炎症は見られず、2 週間以内に完全に分解されたことから、コロイドゲルの生体吸収性が示唆された。

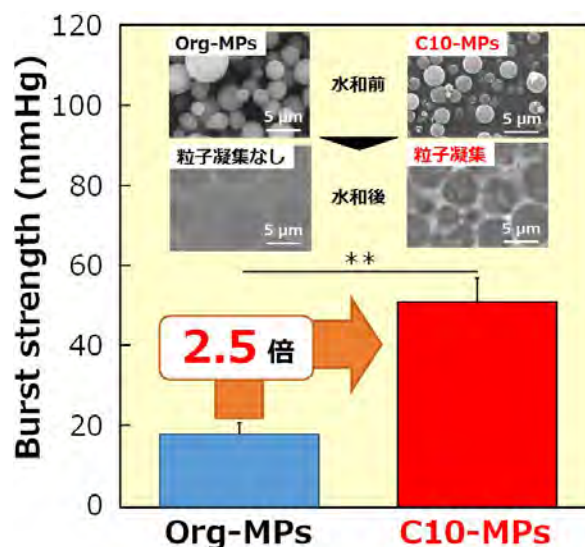


Fig. 1 Burst strength measurement of Org-/C10-MPs colloidal gel applied on duodenum perforation. Top images show Org-/C10-MPs before and after hydration. (**p<0.01)

【参考文献】

1. Nishiguchi, Y. Kurihara, T. Taguchi, *Acta Biomater.*, **2019**, 99, 387-396.
2. S. Ito, A. Nishiguchi, F. Sasaki, H. Maeda, M. Kabayama, A. Ido, T. Taguchi, *Mater. Sci. Eng. C*, **2021**, 123, 11199.

肺組織欠損部のシーリングを可能にする 疎水化タラゼラチンシートの開発

¹筑波大学大学院・数理物質科学研究群、

²国立研究開発法人物質・材料研究機構・機能性材料研究拠点 ポリマー・バイオ分野

○市丸 裕晃^{1,2}、水野 陽介^{1,2}、陳 曦²、西口 昭広²、田口 哲志^{1,2}

【緒言】

外科手術後の創部への貼付を目的とした医療用シートは、医療機器であるポリグリコール酸、不織布、医薬品であるフィブリンシート、再生医療等製品である細胞シートに分類される。これらの医療用シートは一定の性能・効果はあるものの、術後の湿潤環境における組織接着性、生体親和性およびコストに課題がある。一方、我々はこれまでに疎水化ゼラチンを主成分とした湿潤組織接着性接着剤^{1,2}を開発し、湿潤環境における生体接着性を有することを明らかにしている。

本研究では、水産加工廃棄物から抽出したスケトウダラ由来ゼラチン（以下、タラゼラチン（ApGltN））の一部に炭素鎖長 10 のデシル基（C10）を修飾した疎水化タラゼラチン（C10-ApGltN）を主成分とする組織接着性シートを調製し、物理化学的性質を評価した。また、肺胸膜組織、ラット摘出肺に対する接着性/耐圧強度および生体親和性について評価した^{3,4}。

【実験】

ApGltN 中のアミノ基に 2-ピコリンボラン存在下でデカナール（炭素鎖長 10）を導入し、C10-ApGltN を合成した。得られた C10-ApGltN をエレクトロスピンニング法によってシート状に成形し、減圧環境下で熱架橋を行った。シートの耐圧強度は、ブタ肺胸膜組織を用いて ASTM F2392-04（Standard Test Method for Burst Strength of Surgical Sealants）に従い測定した。さらにラット摘出肺に対する耐圧強度についても評価した。シートの生体吸収性は、ラット背部皮下にシートを埋入後、シートおよび周辺組織のヘマトキシリン・エオジン（HE）染色観察により評価した。

【結果と考察】

合成した C10-ApGltN を用いて、エレクトロスピンニング法により組織接着性シートを作製できた（Fig. 1a）。走査型電子顕微鏡を用いて、シート表面の微細構造を観察した結果、ファイバーの平均直径は、約 $2.3 \pm 0.4 \mu\text{m}$ であり、均一な構造が確認された（Fig. 1b）。一方、ブタ肺胸膜組織に対する耐圧強度試験を行ったところ、C10-ApGltN シートは、疎水基を修飾していないオリジナル（Org）ApGltN（Org-ApGltN）シートと比較して約 1.9 倍増加した。また、ラット摘出肺を用いた耐圧試験においても、C10-ApGltN シートは Org-ApGltN シートの約 2 倍の耐圧強度増加が認められた。肺組織表面に対する耐圧強度/接着強度の増加は、胸膜表面の構成成分である細胞外マトリックスおよび細胞成分と C10-ApGltN 中の C10 との疎水性相互作用が増加したためであると考えられた。さらに、ラット背部皮下にシートを埋入した結果、強い炎症反応を生じることなく、21 日間以内にシートが分解することが明らかとなった。

以上の結果より、得られた組織接着性シートは、湿潤組織接着性、生体親和性およびコスト面での課題を解決できる可能性が示唆された。

【参考文献】

- 1) Y. Mizuno, R. Mizuta, M. Hashizume, T. Taguchi, *Biomater. Sci.*, **2017**, 5, 982-989.
- 2) A. Nishiguchi, Y. Kurihara, T. Taguchi, *Acta Biomater.*, **2019**, 99, 387-396.
- 3) H. Ichimaru, Y. Mizuno, X. Chen, A. Nishiguchi, T. Taguchi, *Biomater. Sci.*, **2021**, 9, 861-873.
- 4) H. Ichimaru and T. Taguchi, *Int. J. Biol. Macromol.*, **2021**, 172, 580-588.

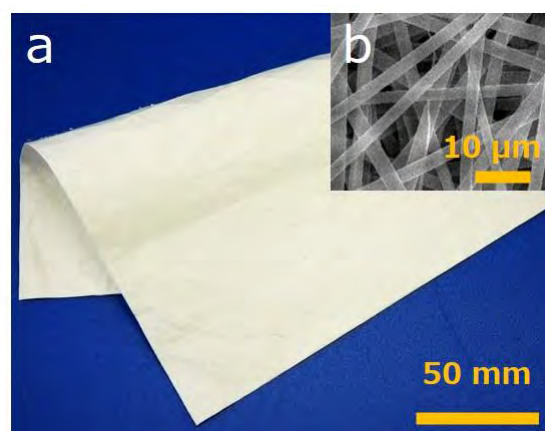


Fig. 1 A developed tissue adhesive fiber sheet fabricated by electrospinning. (a) Photo image, (b) SEM image of C10-ApGltN sheet.

新規生体接着剤タラゼラチンはフィブリンより高い神経接着強度と同等の生体親和性を示した.

Alaska pollock gelatin sealant shows higher bonding strength and equal biocompatibility for the resected nerve compared to the fibrin sealant.

¹ 慶應義塾大学・整形外科

² 慶應義塾大学医学部・スポーツ医学総合センター

増田 秀輔¹、鈴木 拓¹、木村 洋朗¹、松村 昇¹、佐藤和毅²、岩本 卓士¹

【緒言】

神経切断に対してフィブリン製剤を用いて神経接着強度を高める研究が、これまでに多く報告されている. 近年, 魚のタラ由来の生体接着剤 (タラゼラチン) が開発され, ブタの血管を用いた実験で, 従来のフィブリン製剤と比較して, 高い破断強度および生体親和性を示すことが報告された. 今回, 神経切断モデルを用いて, タラゼラチンの破断強度および神経の機能回復について, 従来の縫合およびフィブリン製剤と比較検討した.

【実験】

新鮮屍体の指神経を用いた強度試験とラットの坐骨神経を用いた機能試験を行った. 強度試験では指神経を切断し, 以下の4群における接着 (縫合) 法を行った後に最大破断強度を測定した (①縫合+タラゼラチン, ②縫合, ③タラゼラチン, ④フィブリン, 各群 n=20). 機能試験では, Wistar ラットの坐骨神経を切断し, 強度試験と同様の4群の処置を行った. 8週における神経の連続性の肉眼的評価, 2.4.6.8週での歩行解析, 8週での前脛骨筋重量比による機能回復 (各群 n=10) と, 免疫染色・電子顕微鏡による軸索の組織学的評価を行った (各群 n=3).

【結果と考察】

タラゼラチン群は, フィブリン群と比較して優位に破断強度が高かった (0.22 N vs 0.06 N, $p<0.001$). 一方でタラゼラチン群は, 縫合+タラゼラチン群 (1.37 N) や縫合群 (1.27 N) と比較すると有意に破断強度が低かった ($p<0.001$). 機能評価および組織学的評価において, タラゼラチン群は, 縫合群およびフィブリン群と同等の良好な坐骨神経の回復を示した. タラゼラチンは, 従来のフィブリン製剤と比較して, より高い接着強度と, 同等の生体親和性を持つことが示され, 今後フィブリン糊に変わって臨床に用いられる可能性が示唆された. 一方, タラゼラチンのみでは, 従来の縫合には強度が及ばず, 今後のさらなる改良が必要と考えられた.

がんの放射線治療のための標的指向性リン酸ハフニウムナノ粒子の作製

¹ 東京工業大学・物質理工学院・材料系

○石栄智貴¹、中川泰宏¹、生駒俊之¹

【緒言】

がんの治療の一つである放射線療法は手術を必要としない低侵襲性の治療であるが、照射可能な放射線量が限られている。本研究では、5 Gy 以下の線量で活性酸素を生成し、がん細胞を死滅させるナノ粒子の作製を目的とした。これまでに、酸化ハフニウム (HfO_2) は、その高い電子密度により低線量の照射で活性酸素を生成し、がん細胞を死滅させることが報告されている^[1]。しかし、 HfO_2 はがん細胞に取り込まれにくく、また体内に蓄積して毒性を示すことが懸念されている。そこで、生体適合性に優れたリン酸化合物に着目し、Ca(II)やNaを含有するリン酸ハフニウムナノ粒子を作製し、細胞毒性や放射線照射による細胞の死滅率などを評価した。また、粒子表面に三つのアミノ酸からなる RGD を修飾することでがん特異性を向上させることを目指した。

【実験】

リン酸ハフニウム化合物は、 $\text{M}_n\text{Hf}_2(\text{PO}_4)_3$ の組成で示される。化学量論組成は、 $\text{Ca}_{0.5}\text{Hf}_2(\text{PO}_4)_3$ や $\text{NaHf}_2(\text{PO}_4)_3$ である。この組成になるように各試薬を混合・反応させた。 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 水溶液または Na_2HPO_4 水溶液に HfCl_4 と CaCl_2 との混合溶液を加え、室温で 2 時間攪拌し、 180°C で 24 時間水熱処理を行った。試料名は、前者を Ca-HT、後者を Na-HT とした。また、 HfO_2 ナノ粒子は HfCl_4 水溶液に KOH 溶液を滴下し、pH12 に調整して沈殿させた。乾燥させた粒子は、走査型電子顕微鏡 (SEM) や粉末 X 線回折測定 (XRD)、フーリエ変換赤外分光光度計 (FT-IR) を用いて分析した。試料懸濁液 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) をがん細胞 (A549) に加えて細胞培養 (1、2、3 日) を行い、トリパンブルー (TB) で生細胞数を計測 ($n = 3$) した。粒子を添加していない対照試料を基準として生存率を算出した。さらに試料懸濁液 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を A549 に添加して、1 日後に γ 線 (5Gy) を照射し、TB で細胞の死滅率を算出 ($n = 4$) した。リガンド修飾は、Na-HT に (3-アミノプロピル) トリエトキシシラン、コハク酸、RGD を転倒攪拌で修飾し、がん細胞への取り込みを共焦点顕微鏡で観察した。

【結果と考察】

XRD パターンから、Ca-HT と Na-HT には 20° と $25\text{--}35^\circ$ に幅広い回折線が検出された。これは NASICON 型リン酸ハフニウムの回折線の角度と強度に類似していた^[2]。FT-IR を用いた結合状態の分析から、リン酸由来の吸収ピークが確認された。また、 HfO_2 の XRD と FT-IR の結果から、単斜晶系の構造に由来する回折線と吸収ピークが確認された。SEM 像では、各試料は紡錘形の粒子であり、平均粒子径はそれぞれ 100 nm 未満の粒子であることが分かった。Tukey-Kramer 法で細胞毒性の結果を統計解析したところ、1、2 日後では Ca-HT と Na-HT は HfO_2 に対して有意な差はなかったが、3 日後では、Ca-HT と Na-HT は HfO_2 に対して有意 ($P < 0.05$) に高い値を示した (Fig. 1)。一方、 γ 線照射時の HfO_2 、Ca-HT、Na-HT の細胞死滅率は 40%程度で、有意差は見られなかった (Fig. 2)。RGD を修飾した Na-HT は細胞内へ取り込まれていることが観察された。このことから作製したリン酸ハフニウムナノ粒子は、 HfO_2 と同等の高い抗腫瘍効果と低い細胞毒性を両立しており、表面修飾した粒子は標的指向性をもつことが確認された。この結果は、作製したリン酸ハフニウムナノ粒子が放射線療法を補完しうる新規ナノ粒子としての応用を強く支持するものである。

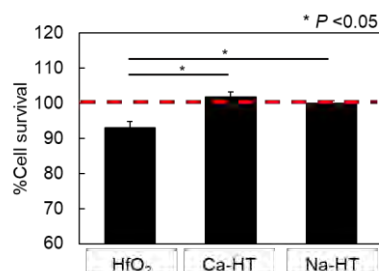


Fig. 1 Cell viability on day 3 at sample 100 mg/mL

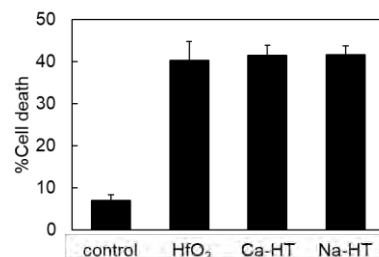


Fig. 2 Cell mortality at 100 mg/mL sample after gamma irradiation (5 Gy)

1) Chen, M. H. *et. al.*, *Acta Biomater.* 37, 165-173 (2016).

2) Brik, Y. *et. al.*, *MICROP M M.* 43, 103-112 (2001).

光熱治療へむけた星形 Au - Ag ナノ粒子の形態と光応答性の評価

¹ 東京工業大学・物質理工学院材料系
○會田 雄大¹、中川 泰宏¹、生駒 俊之¹

【緒言】

光熱変換機能を有するナノ粒子は特定波長の光を照射すると熱を発生してがん細胞に細胞死を誘導することが可能であり、ナノ粒子の送達部位や光の照射部位・タイミングを制御することで、がん温熱療法を行う上での時空間的制約を開放する可能性を有している。光熱変換を生体に利用する際には生体の光学窓^[1] (750~1200 nm) に高い吸収効率をもつナノ粒子が求められるため、構造由来の高い光吸収効率をもつ星形 Au-Ag ナノ粒子の設計と合成が期待されている^[2]。この星型ナノ粒子は、Au/Ag 比による形態制御や吸収波長・光熱変換効率の最適化が可能である。本研究では、合成した星型 Au-Ag ナノ粒子の形態観察と離散双極子近似 (DDA) による解析から生体の光学窓における光熱変換効率の向上を試みた。さらにナノ粒子の安定性向上のためにシリカを被覆した後、レーザー照射によって光熱変換効率を評価した。

【実験】

星形 Au-Ag ナノ粒子は、所定の Au/Ag モル比で調整した塩化金酸と硝酸銀を超純水に溶解した水溶液に、アスコルビン酸を添加して還元することで作製した。各試料は、電界放出型走査電子顕微鏡 (FE-SEM) や紫外可視分光光度計 (UV-vis)、動的光散乱測定器 (DLS) を用いて分析した。また、DDA により形態を変えた星形 Au-Ag ナノ粒子の光吸収性を評価し形態を特定した。さらに作製したナノ粒子の安定化剤として polyvinylpyrrolidone を溶液に加え、遠心分離により試料を濃縮した。エタノール、超純水の混合溶液を固相に加えて再分散させ、tetraethyl orthosilicate を加えて 30 分間攪拌し、さらにアンモニア水を滴下・攪拌 (1 時間) してシリカ被覆を行い、遠心分離を行った。試料を 5.0 mg / mL となるようにエタノールに分散させ、出力 600 mW、波長 750 nm のレーザーを照射し光熱変換効率の評価をした。

【結果と考察】

Au/Ag 比を 22/0、21/1、20/2、18/4、15/7 で作製した試料溶液の外観を Fig. 1 に示す。UV-vis の結果、最長波長側に最大吸収波長をもつ試料は 20/2 で作製した粒子で 680 nm であった。Fig. 2 に FE-SEM による二次電子と DDA での解析に用いた三次元モデル、並びに UV-vis による吸光度と DDA による吸収効率を示す。DDA により最大吸収波長が一致するように計算した結果、アスペクト比が 2.2 の角を 20 本もつ星形ナノ粒子と良い一致を示した。

また 20/2 で作製した試料にシリカ被覆を行った結果、最大吸収波長は 660 nm から 700 nm へとシフトした。レーザーを 5 分間照射すると 69.9°C まで温度が上昇した。温度上昇から、算出した光熱変換効率は 4.33% であった。この値は同条件で算出した金ナノ球の値 (3.88%) より大きく、星形 Au-Ag ナノ粒子が光熱療法に適用できることが示唆された。

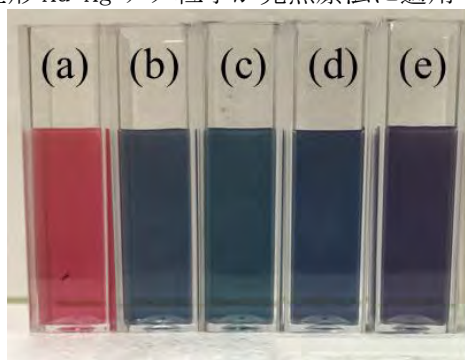


Fig.1 Appearance of colors of Au-Ag nanoparticles at Au/Ag ratio;
(a) 22/0, (b) 21/1, (c) 20/2, (d) 18/4, (e) 15/7

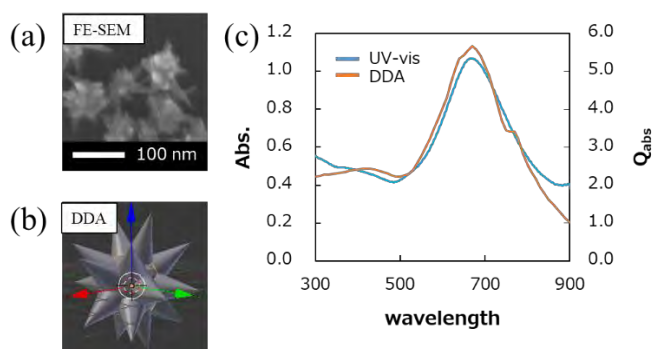


Fig.2 Morphology and light absorption;
(a) FE-SEM, (b) DDA,
(c) Absorbance and absorption efficiency

参考文献

- [1] Hemmer, E. *et al.*, *Nanoscale Horizons* **1**, 168-184 (2016).
[2] Bi, C. *et al.*, *Chem. Mater.* **30**, 2709-2718 (2018).

Diels-Alder 反応による温度応答性薬物放出制御ポリマーの設計

¹ 国立研究開発法人物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点, ² 筑波大学大学院 数理物質科学研究群, ³ 筑波大学 医学医療系・臨床医学域・放射線腫瘍学 (陽子線医学利用研究センター), ⁴ 東京理科大学大学院 先進工学研究科

○藤澤 七海^{1,2}、Chen Lili¹、松本 孔貴³、竹内 正之^{1,2}、荏原 充宏^{1,2,4}

【緒言】

がん治療の進歩により 5 年生存率は劇的に向上したが、一方で再発転移すると生存率は劇的に低下する。よって当研究室では原発性のがんに対する新規治療開発を目指し、温熱療法と化学療法を組み合わせる併用療法に着目した局所留置型デバイスを開発してきた^[1,2]。本研究ではそのデバイスの基質として、ポリマーに温度応答性動的

共有結合を介して抗がん剤を導入したシステムを考案した^[3]。このシステムは磁性ナノ粒子を担持しており、交流磁場の印加にตอบสนองして発熱する。温められた温度応答性動的共有結合は切断され、抗がん剤が放出される仕組みである。本発表では、温度依存的な動的共有結合を形成する Diels-Alder 反応による薬物放出制御システムの合成および評価について報告する。

【実験】

側鎖に diene を持つ poly(furfuryl methacrylate) (PFMA) を合成した。次に、PFMA と dienophile を持つ *N*-(3-aleimidopropionyloxy)-succinimide (Linker) をジクロロメタン中で diene と dienophile の DA 反応を介して結合させて PFMA-Linker を合成し、¹HNMR 測定によって DA 反応の進行度を算出した。また PFMA-Linker を 1,1,2,2-tetrachloroethane-*d*₂ 溶液に溶解させ、加熱下(25, 37, 45, 90 °C)で ¹HNMR 測定を行うことで、rDA 反応を経時的(5 分毎 1 時間)に観察した。最後に抗がん剤である gemcitabine (GEM) を PFMA-Linker と反応点等量で 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP) 中、室温で 24 時間反応させ、PFMA-L-GEM の生成を ¹HNMR 測定と FTIR で確認した。

【結果と考察】

側鎖の furan 基に対する DA 反応を介した Linker の導入率は、反応の進行によって新規に表れる 3.70 ppm (endo 体) と 3.38 ppm (exo 体) の積分値の増加より算出した。25 °C、120 時間の反応で Linker 導入率(DA 反応進行度)は最大 61.5 %であった。同様に積分値の減少から rDA 反応の進行度を算出したところ、図 2 に示すように 90 °C で 30 分間の反応時間で Linker がポリマー側鎖から完全に脱離したことが観測された。また、薬物放出試験では温度加速的な薬物放出が確認された。細胞毒性試験においては熱の影響を避けるため、予め放出された L-GEM を含む上澄み溶液をヒト由来すい臓がん細胞である MIA PaCa-2 に添加したところ、薬物放出試験と相関のある結果となった^[3]。今後は水中での薬物放出を評価するため、ポリマーに親水性を持たせたシステムを構築する。

References

- [1] E. Niiyama *et al.*, *Polymers*, **10**, 1018, 2018. [2] L. Chen *et al.*, *Int J Mol Sci*, **22**, 2542, 2021. [3] N. Fujisawa *et al.*, *Sci Technol Adv Mater*, **22**(1), 522, 2021.

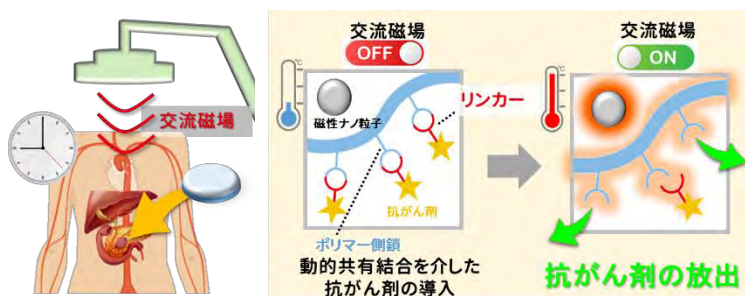


図 1 温度応答性薬物放出システムのイメージ。

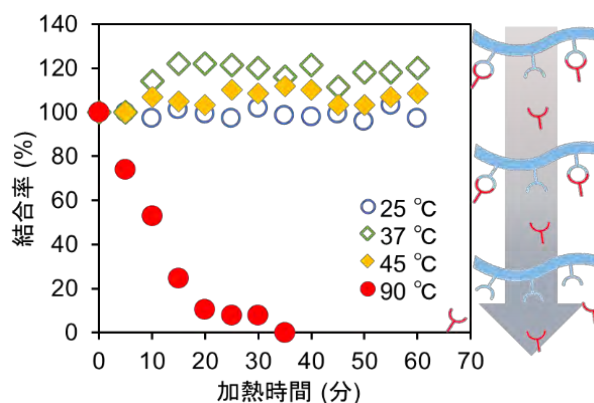


図 2 温度に依存した rDA 反応の進行。

IoT 医療デバイスを目指した 電気駆動型形状記憶ポリマーの開発

¹東理大院先進工・²物材機構機能性・³筑波大院数理物質
○中村和沙^{1,2}・菊池明彦¹・荏原充宏^{1,2,3}・宇都甲一郎²

【緒言】これまで、熱駆動型の形状記憶ポリマーが新たなアクチュエータとして盛んに開発されてきたが⁽¹⁾、近年 IoT 技術との融合によって駆動するアクチュエータの開発に注目が集まっている。本研究では、電気刺激による温熱作用（ジュール熱）で駆動する電気駆動型形状記憶ポリマーをデザインすることで、体外から動作制御可能な医療用アクチュエータの開発に取り組む（Fig. 1）。既存の電気駆動型形状記憶ポリマーは、屈曲形状が回復する程度の形状変化しか達成されておらず、大変形条件下での駆動を実現した系は存在しない^(2,3)。そこで、大変形条件下でも高い形状固定・回復特性を有する電気駆動型形状記憶ポリマーの実現を目指し、銀ナノワイヤを形状記憶ポリマーに組み込んだ電気駆動型形状記憶ポリマーハイブリッドの作製および機能性評価を行った。

【方法】開始剤である 1,4-butanediol を用いて ϵ -caprolactone (CL)を開環重合した後、acryloyl chloride との反応によりポリマー末端にビニル基を導入した PCL マクロモノマーを合成した⁽⁴⁾。次に、ポリオール法により銀ナノワイヤを合成した⁽⁵⁾。合成した二つの材料を用い、銀ナノワイヤを組み込んだ形状記憶ポリマーハイブリッドを作製した。作製したハイブリッド材料は示差走査熱量計(DSC)により熱的特性を評価した。また、繰返し形状変化させた際の、直流電流印加に対する発熱や形状記憶特性評価についても検討した。

【結果・考察】得られた銀ナノワイヤと形状記憶ポリマーとのハイブリッド材料の電気応答性を評価した（Fig. 2）。ハイブリッド材料に 300%ひずみを与え、その変形状態を一時的形状として固定した。ひずみ固定化ハイブリッド材料に 1.7 V の電圧を印加すると、固定化されたひずみが解放され元の形状へと戻り、その形状回復率は 90%程度であった。この形状固定/回復を 3 回繰返し行ったら、高い形状固定/回復能が再現よく維持されることが確認された。また、銀ナノワイヤの含有量の違いによって、形状変化に対するハイブリッド材料の抵抗測定を行った結果、銀ナノワイヤの量をコントロールすることで、300%伸縮時の大変形状態における抵抗値の上昇を抑制可能であることを明らかとした。以上の結果より、大変形条件下でも繰返し形状固定/回復可能な電気駆動型形状記憶ポリマーの作製に成功した。一般に電気駆動型形状記憶ポリマーは、形状記憶合金と比較して柔軟性を有するため、生体組織との力学的適合性に優れ、脳などの軟組織や屈曲部位にも適用可能であるという利点を有する。また、電気駆動化により、遠隔操作性を付与することができ、任意のタイミングで刺激を印加することが可能な新たな医療用アクチュエータとして期待できる。

【参考文献】(1) K. Wang, *et al.*, *Front. Chem. Sci. Eng.*, **2017**, 11(2), 143-153. (2) C. Kim, *et al.*, *Compos. Sci. Technol.*, **2017**, 152, 173. (3) F. Zhang, *et al.*, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2018**, 10, 35526-3553. (4) M. Ebara, *et al.*, *Adv. Mater.*, **2012**, 24, 273-278. (5) Y. Sun, *et al.*, *chem mater.*, **2002**, 14, 4736-4745.

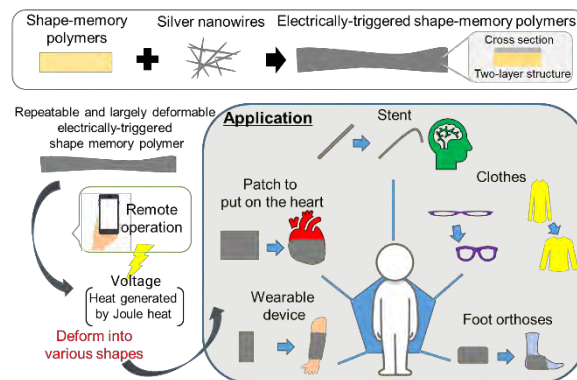


Fig. 1 Schematic illustration of electrically-triggered shape-memory polymeric devices.

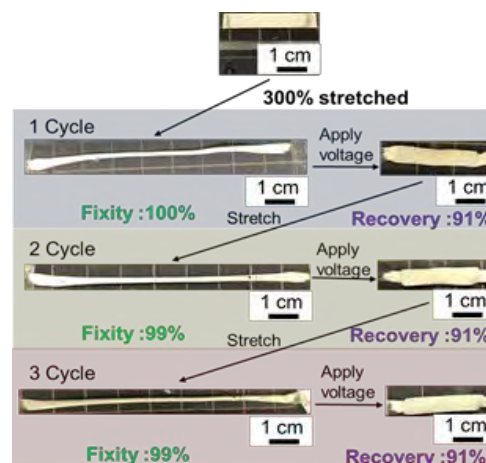


Fig. 2 Photographs of repetitive electrically induced shape-memory actuations of AgNW-PCL hybrid materials.

インドキシル硫酸吸着除去のための“Grafting from”法による タンパク質—スマートポリマー複合体の設計

¹筑波大学院数理物質、²物材機構機能性、³小山高専物質、⁴東理大院先進工
○吉原栄理佳^{1,2}、佐々木信^{1,2}、Ahmed Nabil²、飯島道弘³、荏原充宏^{1,2,4}

【緒言】

一般にタンパク質に高分子を修飾する方法として、高分子をカップリング反応によって結合させる“Grafting to”法と、タンパク質を重合開始点にし、そこからモノマーを重合する“Grafting from”法の二種類が存在する。特に

“Grafting from”法では反応条件の制御および直接的な構造解析等が困難であるため、報告例が少ない¹⁾。しかし“Grafting from”法では、一段階の *in situ* での合成および精製が可能であるため技術的な簡略化が期待される。現在、肝不全の治療法として MARS (Molecular Absorbent Recirculating System) が注目を集めている。この治療法では、アルブミンを透析液として用いることで、アルブミン結合物質である毒素 (インドキシル硫酸: IS など) の除去を行う²⁾。本研究では、アルブミンに温度応答性高分子を導入することで、アルブミンの簡便な回収が可能であると考えた。そこで、“Grafting from”法を介してタンパク質—温度応答性高分子複合体を作製し、合成条件の最適化および熱濃縮による高効率な IS の回収を目指す。

【実験】

Bovine serum albumin (BSA) をモデルタンパク質として使用し、“Grafting from”法を介して温度応答性高分子である poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAAm) を導入し、BSA-PNIPAAm 複合体の合成条件の検討および熱濃縮効率の評価を行った。

【結果と考察】

合成した BSA-CTA を重合開始点とし、NIPAAm を重合し BSA-PNIPAAm を合成した。初めに、CTA 導入量を固定し、モノマー比率の条件検討を行った。各測定結果からモノマー比率を変えることで、分子量を制御し熱沈殿効率を向上させる可能性を示した。次にモノマー比率を固定し、CTA 導入量の検討を行った。各測定結果から、BSA-CTA を合成する際の N-ヒドロキシエステル (NHS)-CTA の添加量を変えることで、熱沈殿効率に影響を及ぼしていく可能性が高いことを確認し、導入されるポリマーの本数が制御出来ることが示唆された。また、これらの条件を基に human serum albumin (HSA)-PNIPAAm 複合体を作製し、IS の吸着能評価を行った。結果として未修飾 HSA と同様の吸着能を示し、IS と結合したアルブミンを熱沈殿により回収することが可能であることを示した。この方法はアルブミンのみならず多様なタンパク質に適用可能なため、様々な生体分子の分離精製法として期待される。

【参考文献】

- 1) I. Cobo, *et al.*, *Nat. Mater.* **2015**, 14, 143–159.
- 2) F. Saliba, *Crit Care.* **2006**, 10, 1, 118.

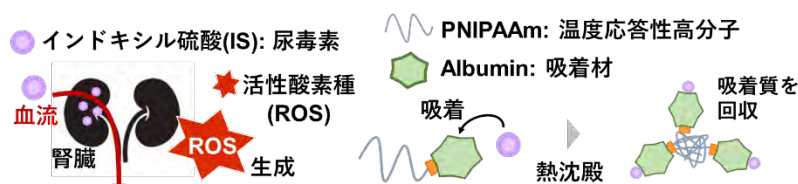


Fig. 1 Schematic diagram of this study.
(IS can be adsorbed on albumin-PNIPAAm and recovered.)

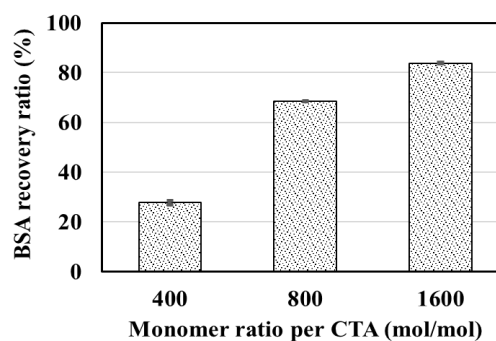


Fig. 2 Effects of monomer ratio to CTA on BSA recovery ratio.

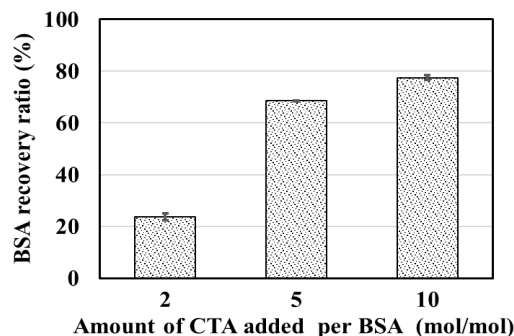


Fig. 3 Effects of CTA ratio to BSA on BSA recovery ratio.

悪性グリオーマの治療を目的とした 温熱/化学療法併用スマートナノファイバーメッシュの作製

¹筑波大学大学院 数理物質科学研究群, ²物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点,

³筑波大学 医学医療系 臨床医学域 放射線腫瘍学

○大江 笑北^{1,2} 藤澤 七海^{1,2} 松本 孔貴³ 荏原 充宏^{1,2}

【緒言】

原発性脳腫瘍のおよそ 25%を占める悪性グリオーマは、手術での完全摘出が難しく、再発率が高い腫瘍である^[1]。現在の治療方法として、手術により可能な限り腫瘍を摘出した後、放射線治療と化学治療の併用が一般的であるが、画期的な治療方法は未だ存在していない。そこで本研究では、悪性グリオーマの治療を目的とした、局所で抗がん剤の長期徐放が可能な温熱療法/化学療法併用スマートナノファイバーメッシュの開発^[2]を目指す(Fig.1)。このメッシュは、外部からの交流磁場(AMF)の印加によって磁性ナノ粒子 (MNPs)が発熱し、内包された抗がん剤の放出が促進される仕組みである。今回の実験では、ナノファイバーメッシュに抗がん剤と MNPs をそれぞれ担持させ、抗がん剤の放出挙動とナノファイバーメッシュの発熱挙動を測定した。

【実験】

ファイバーを構成するポリマーである poly(ϵ -caprolactone)(PCL)、悪性グリオーマの治療に用いられている抗がん剤 Temozolomide(TMZ)、MNPs を混合させたポリマー溶液から、電界紡糸法(25kV, 1.0mL/h, 25-gauge)によってナノファイバーメッシュを作製した。その後作製したナノファイバーメッシュの AMF 印加に伴う発熱挙動や、内包した TMZ の放出挙動を評価した。

【結果と考察】

電界紡糸法により作製したナノファイバーメッシュのファイバー径は 680 ± 300 (nm)であった(Fig.2(a))。このファイバーメッシュに TMZ を内包させ、放出試験をおこなった。この結果、ファイバー径と TMZ 内包量の変化に伴い TMZ 放出量は変化し、ナノファイバーメッシュの材料設計条件の変化に伴い、TMZ 放出量を制御することに成功した。続けて、MNPs のみを内包したナノファイバーメッシュを作製し、AMF 印加時の発熱挙動を測定した(Fig.2(b))。この結果、MNPs 内包量が増加するにつれナノファイバーメッシュの発熱温度は増加した。MNPs 含有量が 30wt%のときナノファイバーメッシュの温度は 42°C まで上昇し、温熱療法($42^{\circ}\text{C} \sim 45^{\circ}\text{C}$)に適した発熱を示した。これらより、発熱と薬物放出を制御可能な本ナノファイバーメッシュは、悪性グリオーマ治療のための温熱/化学併用可能な治療用材料として期待できる。

【参考文献】

1. M. Westphal et al., *Neuro-Oncology*, **5**(2), (2003) 79-88.
2. E. Niiyama et al., *Adv. Healthcare Mater*, 1900102, (2019).

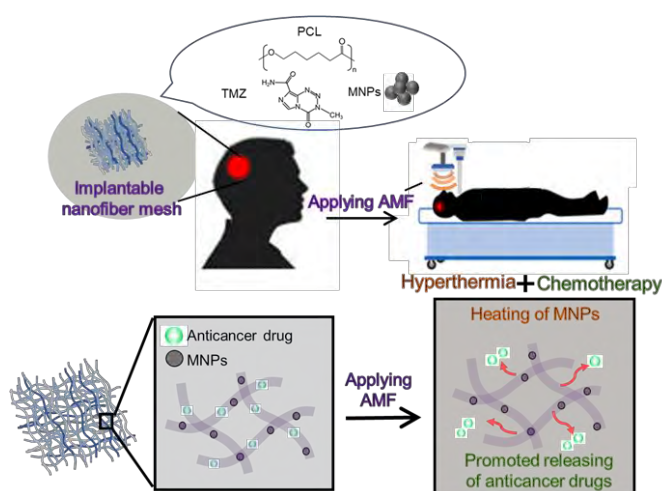


Fig.1 Schematic of drug release mechanism from implantable PCL nanofiber mesh.

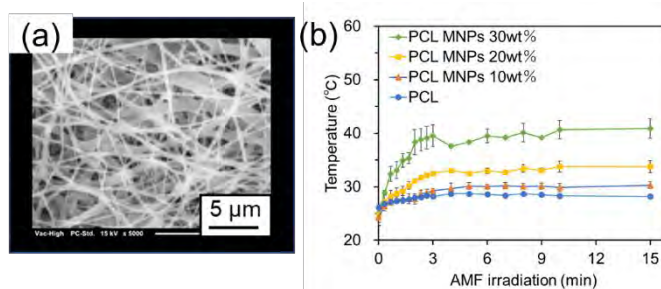


Fig.2 (a) SEM image of TMZ loaded PCL nanofiber.

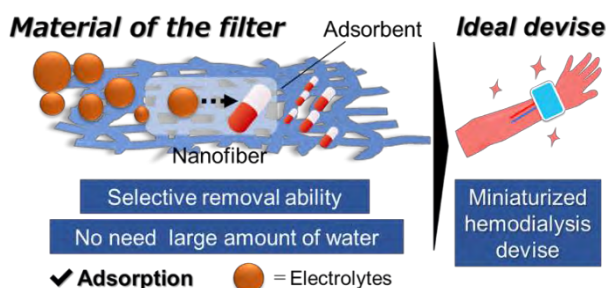
(b) Heating profiles of the nanofiber mesh with different MNPs contents in an AMF.

腎不全患者の過剰電解質の除去を目指した 吸着ナノファイバーメッシュの設計

¹ 国立研究開発法人 物質・材料研究機構(NIMS)・機能性材料研究拠点、
² 筑波大学大学院・数理物質化学研究群、³ 東京理科大学大学院・先進工学研究科
 ○高橋 可保^{1,2}、荏原 充宏^{1,2,3}

【緒言】

電解質代謝異常は体内の水分や電解質のバランスが乱れる状態のことを指す。電解質は通常、腎臓の調節機能によって血中濃度は一定に保たれている。「慢性腎不全」により腎臓が衰弱すると、体内の電解質のリン酸に着目した場合、血中リン濃度が上昇し「高リン血症」を発症させる。現在はリン吸着薬である炭酸ランタンを用いた内服治療が行われているが、胃中でランタ



ンが沈着することで、粘膜障害を呈する

Fig. 1 Schematic image of phosphoric acid removal by EVOH/Adsorbent nanofiber.

可能性がある。この解決手法として、Nanofiber mesh (NM) 中にリン吸着薬を含有させる方法に注目した (**Fig. 1**)。当研究室では、NM を用いた血液中の尿毒素や過剰水の除去に成功しており^[1]、リン吸着薬を NM 中に含有・固定化することで、血中への流出を防ぎ、ランタン沈着症のリスクを軽減することができると期待される。本研究では、現在飲み薬としても使用され、リン吸着薬としての効力が高い炭酸ランタンと炭酸カルシウムの2つの吸着剤を含有した poly (ethylene-co-vinyl alcohol) (EVOH)NM を作製後、NM のリン酸吸着能について評価した。

【実験】

EVOH を 5 wt% の濃度で、1,1,1,3,3,3-hexafluoroisopropanol (HFIP) に溶解させ炭酸ランタン・炭酸カルシウムを 0.9、4.9、9.1、16.7、33、50 wt% の濃度で分散させた。この溶液を用い電界紡糸(25 kV, 23G, 15 cm, 1 ml/h)を行うことで、吸着剤含有の NM の作製を試みた。作製した NM を 0.1、1 mM のリン酸水溶液に浸漬し、37°C で振とうさせた後、上澄みのリン酸濃度を測定することで、NM のリン酸吸着性能を評価した。

【結果と考察】

電界紡糸法により作製した炭酸ランタン、炭酸カルシウム含有 NM を、走査型電子顕微鏡 (SEM) により観察した (**Fig. 2(a)**)。その際の最大含有量は、それぞれ 50、33 wt% となった。

次に、作製した吸着剤含有 NM のリン酸吸着性能を評価したところ、炭酸ランタン含有 NM がより高い吸着性能を示した

(**Fig. 2(b)**)。炭酸ランタン 50 wt% 含有 NM を用いて、リン濃度減少を確認したところ、リン酸濃度は透析時間の目安となる 3 時間後において 1.0 mM から 0.5 mM にまで濃度減少が確認された。また、TG-DTA

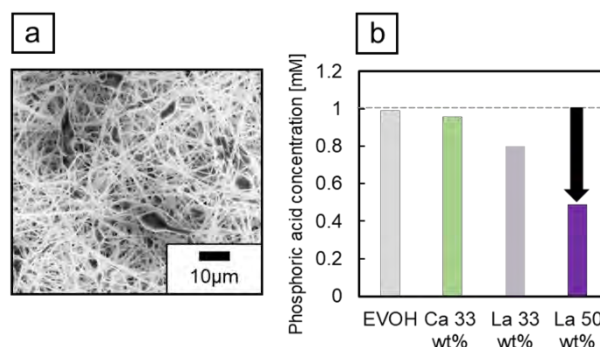


Fig. 2 (a) SEM images of $(\text{La})_2(\text{CO}_3)_3$ incorporated EVOH nanofibers. (b) Phosphoric acid concentrations after 3 hours adsorption.

測定結果により、吸着試験前後で吸着剤が溶液中に漏れ出していない事が確認された。

以上から、作製した NM はリン酸を吸着可能であることが確認された。今後は、慢性腎不全治療への応用を目指し、吸着性能および毒性に関するより詳細な評価を行う。

【参考文献】 [1] K. Namekawa, *et al.*, Biomaterials Science, 2, 674-679 (2014)

血中尿素の除去を目指したウレアーゼ固定化ナノファイバーの開発

¹物質・材料研究機構・機能性材料研究拠点、²筑波大学大学院・数理物質科学研究群、

³東京理科大学大学院・先進工学研究科

○佐々木 信^{1,2}、Yihua Liu¹、荏原 充宏^{1,2,3}

【緒言】

慢性腎不全の主な治療法である血液透析は、一回の治療に約 120 L の大量の水を必要とするため、低インフラ地域や災害時には治療の実施が困難となる。そこで本研究では、血液透析に代わる新たな治療法として、大量の水を使用せずに血中老廃物を除去可能なナノファイバーの開発を行ってきた^{[1][2]}。これらのナノファイバーは吸着により老廃物を血中から除去するが、老廃物の一つである尿素は、吸着が困難な物質である。したがって本研究では、尿素を加水分解する働きがあるウレアーゼを固定化することで、血中尿素を分解・除去可能なナノファイバーの開発を行った。しかし、それにより生じるアンモニアも有害な物質であるため、吸着材としてゼオライトを用いることで、尿素の分解とアンモニア吸着の両方を達成するナノファイバーの開発を目指した (Fig. 1)。

【実験】

Poly(ethylene-co-vinyl alcohol) (EVOH) とキトサンから成るナノファイバーを、電界紡糸法により作製した。グルタルアルデヒドを架橋剤として用い、作製したナノファイバーとウレアーゼ間で化学架橋を形成させることで、ウレアーゼの固定化を行った。

【結果と考察】

電界紡糸法により作製した EVOH/キトサンナノファイバーを、走査型電子顕微鏡 (SEM) により観察した (Fig. 2(a)~(c))。キトサン濃度が 0.4 wt% においては滑らかなナノファイバーの形成を確認したが、キトサン濃度の増加と共にビーズ構造が顕著に現れ、1.6 wt% においてナノファイバーは形成されなかった。これは、キトサン由来の環状構造やアミノ基の正電荷により、ポリマー鎖の絡み合いが阻害されたことが原因であると考えられる。

作製したナノファイバーにウレアーゼを固定化し、尿素分解性能を評価したところ、ナノファイバー内のキトサン濃度と共に分解性能も向上することが確認された (Fig. 2(d))。このことから、キトサン濃度が大きいほどより多くのウレアーゼが固定されていたことが示唆される。また、異なる組成を有する 8 種類のゼオライトのアンモニア吸着能を調べたところ、シリカアルミナ比が 40 において最大となった (Fig. 2(e))。これは、シリカアルミナ比によりゼオライト表面の極性が変化し、アンモニアとの間に働くファンデルワールス力に影響を与えたためであると考えられる。

以上から、作製したナノファイバーは尿素を分解可能であることが確認された。今後は毒性評価や動物血液を用いた実験を行い、慢性腎不全治療への応用を目指す。

【参考文献】

- [1] K. Namekawa, *et al.*, *Biomater. Sci.*, **2014**, 2, 593
[2] M. Sasaki, *et al.*, *Fibers*, **2021**, 9, 37

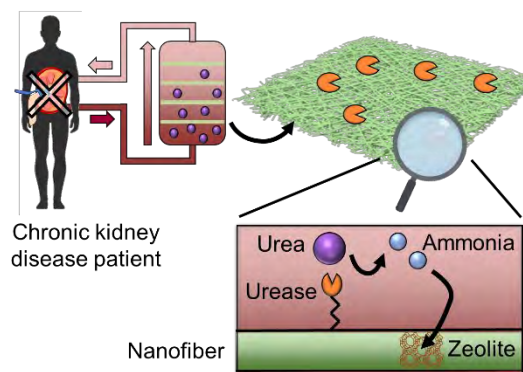


Fig. 1 Schematic image of urea removal from chronic kidney disease patient's blood by urease immobilized nanofibers.

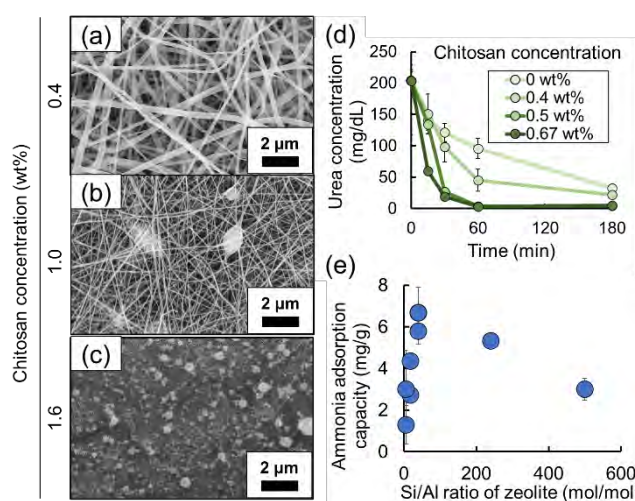


Fig. 2 SEM images of EVOH/Chitosan nanofibers at each chitosan concentration: (a) 0.4, (b) 1.0, (c) 1.6 wt%. (d) Urea concentration changes with time by urease immobilized EVOH/Chitosan nanofibers ($n = 3$). (e) Ammonia adsorption capacity of zeolites with different Silica/Alumina ratio ($n = 3$).

A Simplified In vitro Blood Vessel Disease Model for Investigation of Angiogenic Effect of MSCs with CAD and PAD

¹筑波大学大学院 生命環境科学研究科 生命産業科学専攻、²筑波大学大学院 生命環境系
○文 淞湖¹、伊藤 弓弦²

【実験】

近年再生医療の分野では様々な治療法が研究されており、特に循環器系疾患、血管損傷に対する治療法に関しては幅広い研究が行われている。その中でも様々な分化能を持つ多能性幹細胞(iPSC)やヒト間葉系幹細胞(MSC)を用いた治療法が期待されており、既に従来の治療法との比較も行われている。だがいずれに関しても治療効果のバラつきが激しく、安定した血管再生は望めていない。これは血管再生能を発揮できる細胞選別の明確な基準がないことが原因とされている。安定した血管再生による再生医療を実現するためには、「MSC が有する血管再生能の多様性」が生み出されるメカニズムを解明することが重要である。しかしながら、明確な血管再生能を持つ MSC を選別するための「血管再生能検証モデル」は構築されていない。

本研究では循環器疾患の症例で見られる類似した血管の不全とサイトカイン分泌の変化に注目し、「疾患下の血管再生能検証モデル」を構築することを試みた。特にサイトカインの中でも内皮細胞の生育と血管形成に関与する VEGF 及び IGF、そして heparin の変動が多くみられることから、冠状動脈疾患 (CAD) 及び末梢動脈疾患 (PAD) の共通因子としてこの 3 つの因子を選別した。これら因子の低減は病症発現と有意に連動していると報告されている^{[1][2][3]}。これに注目し血管の *in vitro* モデルで標準的に用いられる臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を基に、上記 3 つの因子を欠乏させた疑似的 CAD/PAD モデルを用いて血管形成能力を調べたところ、血管網の構築に有意な機能低下が確認された。これは *in vitro* におけるより簡潔な病症再現モデルとして有効であり、血管の再生を目指した研究をより分かりやすく検証できる環境を提供する。

[1]Yusuke Higashi et al., IGF-1 and Cardiovascular Disease, Growth Hormone & IGF Research, Volume 45, April 2019, 6-16

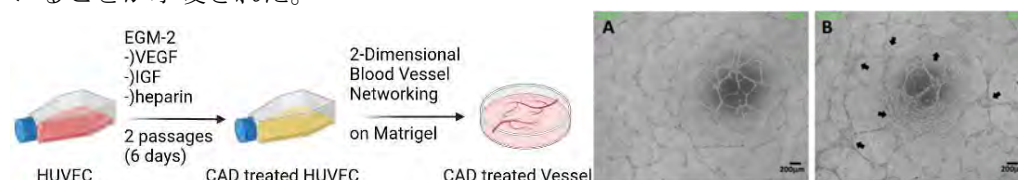
[2]Yohei Shibata et al., Balance between angiogenic and anti-angiogenic isoforms of VEGF-A is associated with the complexity and severity of coronary artery disease, Clinica Chimica Acta, Volume 478, March 2018, 114-119.

[3]L Wallentin, Low molecular weight heparin in unstable coronary artery disease, Expert Opin Investig Drugs, 2000 Mar;9(3):581-92.

【結果と考察】

CAD の *in vitro* 再現モデルで HUVEC の血管網形成能力が低下する

CAD を参照した条件下で HUVEC を培養し、標準的血管網形成実験を行うことで細胞へのダメージと能力の変化を解明することを試みた。結果、正常な HUVEC と比べ、CAD 処理後の HUVEC では血管網の作り方に有意な変動が見られた。血管網の構造が安定せず、更には血管網の形成に組み込まない余った細胞が多くみられ、細胞の輸送能力と細胞外マトリックスとの連動機能が低下していることが示唆された。



↑左)CAD 培養モデル。右) (A) 正常な HUVEC、(B)CAD 処理後の HUVEC を用いた血管網形成能変化。血管網形成能が低下した箇所は黒矢印で表示。

CAD 処理後の HUVEC は培養条件によって回復でき、MSC 等の性能評価にも適用できる

CAD 処理を行った HUVEC は血管形成能力の低下を見せたが、これが不可逆的なものである場合は治療法開発に向けた再生能力の検証が難しくなる。従って CAD 処理後の HUVEC を用いた機能回復実験を行い、その変動を調べた。結果、正常 HUVEC や CAD 処理状態のものと比べて回復実験を行ったものでは正常状態と同程度の血管網形成能力を見せることを確認した。これは *in vitro* で血管再生療法の開発に適した病症再現による実践的な評価法を提供できることを示唆する。

肝特異的な機能発現を目指した自立浮遊スフェロイド培養系の構築

¹筑波大学大学院 グローバル教育院、²産業技術総合研究所 細胞分子工学研究部門
 ○露久保 淳^{1,2}、須丸 公雄²、森下 加奈²、金森 敏幸^{1,2}

【緒言】

医薬品開発において、動物試験により候補化合物の安全性や有効性が評価される。しかし、種差による薬物応答性の違いや倫理的観点等から、動物試験代替法の開発が強く望まれている。そこで、iPS 細胞等の幹細胞研究の進展に伴い、ヒト培養細胞による *in vitro* 評価(細胞アッセイ)が近年注目されている。従来、足場依存性細胞の培養において、ポリスチレン等の樹脂材料からなる基材上での単層培養系が用いられてきた。これは最も簡便な培養系である一方、培養環境はヒト生体内と大きく異なるため、培養細胞の臓器特異的な機能が抑制されてしまうことが指摘されてきた。そこで、我々は一部が基材に固定されたまま培地中で自立的に浮遊するハイドロゲル膜(自立浮遊ハイドロゲル膜)を開発し、これを細胞の培養足場として用いたスフェロイド培養系を構築した(**Figure 1**)。本培養系では、細胞への柔軟な足場の提供、ハイドロゲル膜を介した細胞への酸素・栄養分の供給、三次元的な細胞間相互作用の亢進といった利点が期待され、従来培養で抑制されていた臓器特異的な機能の向上が見込まれる。本発表では、自立浮遊ハイドロゲル膜上での、ヒト肝がん由来株化細胞 HepG2 からなるスフェロイド培養系の構築、本培養系による肝特異的な機能への影響について報告する。

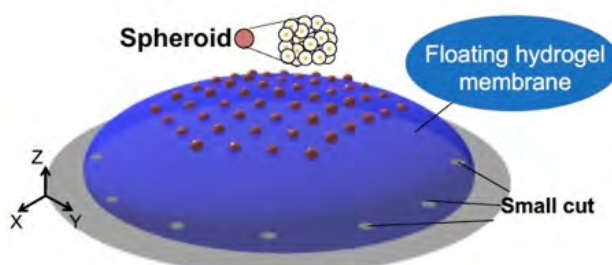


Figure 1. Cell spheroid culture system using floating hydrogel membrane as cell culture scaffold.

【実験】

Poly (acrylic acid)(PAAc)溶液をポリスチレン(PS)基材表面にスピンコート後、水で縁部分の PAAc を洗浄除去し、犠牲層を形成させた。Hydroxypropyl cellulose(HPC)と酸触媒架橋剤、 H_2SO_4 を含む溶液をオーバーコート後、 85°C で加熱することにより、架橋 HPC 層を形成させた。架橋 HPC 層に poly [(methyl methacrylate)-co-(7-(4-trifluoromethyl) coumarin methacrylamide)](PCMM)溶液をオーバーコートしてドットパターンの紫外光を照射後、70%エタノールと水を用いて未架橋の PCMM と、PAAc からなる犠牲層を洗浄除去した。形成した培養足場に HepG2 細胞を播種し、細胞接着性を確認した。約 2 週間の培養後、培地中のグルコース消費量及び乳酸産生量を測定し、細胞の呼吸代謝を評価した。さらに、ヒトの肝臓で発現される薬物代謝酵素 cytochrome P450(CYP)に関する mRNA 発現量を RT-PCR により測定した

【結果と考察】

70%エタノールと水での洗浄後、PAAc のコート領域でのみ架橋 HPC が PS 基材から剥離した一方、PAAc が除去された領域では基材に固定され、液中で自立的に浮遊する柔軟なハイドロゲル膜が形成された。また、coumarin の光二量化反応により、PCMM がドットパターン状に架橋、架橋部位にのみ HepG2 が接着することが確認され、自立浮遊ハイドロゲル膜上でのスフェロイド培養系が構築された。また、フォトリソのパターンを変更することにより、任意の大きさ及び間隔で HepG2 スフェロイドを膜上に調製できることが示された。回収した培地から算出したグルコース消費量に対する乳酸産生量の比(L/G)はスフェロイド培養と単層培養の両方において、固定膜上よりも浮遊膜上の方が低かった。よって、固定膜上に比べて浮遊膜上では、細胞への酸素供給性が向上し、好気呼吸がより活発に行われたことが示唆された。また、スフェロイド培養と単層培養の両方において、浮遊膜上の方が CYP1A2 に関する mRNA 発現量が向上した。さらに、単層培養と比較して、スフェロイド培養において、発現量の向上が確認された。以上より、構築された本培養系は、HepG2 細胞の肝特異的な機能発現に寄与することが示唆された

謝辞：本研究は科研費(基盤(B)：19H02578、特別研究員奨励費：21J13119)の助成を受け、実施されたものである

IV 型コラーゲングルを利用した 平滑筋細胞の収縮型形質転換機構の解析

¹北九州市立大学大学院国際環境工学研究科

○樋室 堯也¹、森田 亜希¹、木原 隆典¹

【緒言】

平滑筋細胞は血管や胃など緩やかに収縮する器官に存在する筋細胞である。平滑筋細胞は環境に応じてその形質を、筋収縮可能な収縮型と増殖可能な増殖型とで転換し、筋組織としてのみならず器官の恒常性の維持に働く。正常な器官では平滑筋細胞は収縮型を示すが、障害時には増殖型へと転換し、コラーゲンや炎症性サイトカインを分泌し、器官の修復を誘導する。一方で、慢性炎症時では増殖型となった平滑筋細胞が過度に活性化し、器官の硬化やさらなる炎症を引き起こす。そのため平滑筋細胞の形質を制御する機構の研究が行われているが、いまだ解明には至っていない。本研究は、細胞培養系で増殖型を示す平滑筋細胞を収縮型形質へと転換する IV 型コラーゲングル培養系を利用し、その過程の解析を行うことで、平滑筋細胞の増殖型から収縮型への転換機構を明らかにすることを目的とした。

【実験】

平滑筋細胞はニワトリ 15 日胚の砂嚢（胃の一種で平滑筋細胞に富む）からコラーゲナーゼ処理により採取し、FBS 含有培地で培養し増殖型としたものを用いた。また実験では全て 10% FBS を含む DMEM を用いた。IV 型コラーゲングルは IV 型コラーゲンを化学架橋することで作製した。平滑筋細胞の形質は、細胞増殖、細胞形態、細胞間の連結長、平滑筋細胞特異的タンパク質（SM-MHC, calponin）の免疫染色にて評価した。

【結果と考察】

ニワトリ胚から採取し血清存在下で培養した平滑筋細胞は増殖し、平滑筋細胞特異的タンパク質が消失した。この平滑筋細胞を IV 型コラーゲングル上で培養すると、細胞の伸長、増殖能の低下、SM-MHC と Calponin の発現を確認できた。これらは全て収縮型平滑筋細胞が示す特徴であり、IV 型コラーゲングル上で培養することで、平滑筋細胞の形質が転換したことがわかる。

次に、この培養系を用いて、平滑筋細胞内でどのようなシグナル伝達経路の活性化が生じているか、各種シグナル分子の阻害剤を用いて調べた。その結果、細胞増殖等で重要な役割を担う MAPK の阻害によって収縮型形質がより発達すること、細胞増殖や生存シグナルに重要な PI3K の阻害によって収縮型形質への転換が阻害されることが見いだされた。さらに、インシュリンを添加することで、収縮型形質が発達した。以上より、IV 型コラーゲングル上で平滑筋細胞を培養することで、MAPK の低下、PI3K の活性化が生じ、それによって平滑筋細胞の形質が収縮型へと転換していることがわかった。さらに、こうしたシグナルをアゴニスト・アンタゴニストで調整することで、より顕著に転換させることが明らかとなった。

そこで、I 型コラーゲングル上で培養した平滑筋細胞に、これらアゴニスト・アンタゴニストを作用させることで、平滑筋細胞の形質がどのように変化するかを検討した。平滑筋細胞は I 型コラーゲングル上で一定レベルの増殖能の低下、細胞伸長を示すことが知られている。I 型コラーゲングル上にアゴニスト・アンタゴニストを添加して培養することで、細胞の伸長が誘導されることを確認できた。その一方で、平滑筋細胞特異的タンパク質の発現は確認できなかった。そこで、さらに IV 型コラーゲンによる刺激を模倣するため、I 型コラーゲングル上で培養した平滑筋細胞に IV 型コラーゲンを添加し、その形質を調べた。その結果、一層の細胞伸長を確認することができた一方、さらなる細胞増殖抑制効果、また平滑筋細胞特異的タンパク質の発現は確認できなかった。

以上より、平滑筋細胞の収縮型形質転換時には MAPK, PI3K のシグナル伝達経路の変化が生じていること、さらに IV 型コラーゲングル特異的な作用により、平滑筋細胞特異的タンパク質の発現が誘導されていることが明らかとなった。

光刺激で微生物を活性化しバイオ水素生成促進の検討

¹筑波大学・生物資源科学、²筑波大学・生命環境系○森長 熙¹、刘 知远²、楊 英男³

【実験】

近年、急速な人口増加に伴い、地球温暖化やエネルギー枯渇が問題視され、エネルギー変換効率が高くクリーンな水素エネルギーの需要が高まっている。その解決法の一つは有機性廃棄物を用いた嫌気性消化によるバイオ水素の生産である。この方法は安価で環境負荷が小さく、操作が容易であり、また廃棄物処理と同時にクリーンエネルギーも得られる。しかし、従来の嫌気性発酵に微生物の活性が弱く、水素生産量が低いこと、また、安定性や持続発酵期間が短いといった問題点があった。先行研究として、当研究室は CPE と鉄で修飾されたゼオライトを組み合わせた Fe ハイブリッドバイオリアクターを開発し、その性能は従来のものと比べ水素発酵効率は格段に向上した。一方、同じく嫌気性消化であるメタン発酵において、先行研究ではメタン発酵における高温環境下での間歇的な光刺激は微生物が活性化され、メタン変換効率を上がった。そこで、水素発酵の性能をさらに向上させるためにバイオリアクターに間歇的な光刺激を与えることでリアクター内の微生物の活動をより活性化させ水素生産量を向上できるとの仮説を立てた。光は光子の集合体であるため光子数 (N_R) を光刺激の大きさの指標として用いた。 N_R は光子密度と照射時間とリアクターの体積から計算することができ、単位は $10^4 \mu\text{mol} \cdot \text{day}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ である。先行研究のメタン発酵における高温環境下での間歇的な光刺激は N_R 1.16–1.86 の範囲で有効に働き、1.25 の時メタンの生産量が最も高いことが分かった。しかし、温度管理がしやすく菌叢が豊富な中温環境下での水素発酵における間歇的な光刺激に対する促進効果やその有効光子数範囲、とメカニズムは未だ特定されていない。

本研究では Fe ハイブリッドバイオリアクターに中温環境下で間歇的な光刺激を与えることによって、水素生成の促進効果、最適光刺激条件、そのメカニズムを明らかにし、将来はより高効率、低コストの水素エネルギー生産システムの構築を目的とした。

実験方法としては、種菌として消化汚泥を 90℃ で 50 分熱処理し、接種率を 15% に設定した。初期 pH は 5.5、グルコース 10g/L、微量金属溶液 200ml/L、アンモニウムイオン 200mg/L、リン酸二水素カリウム 16mg/L を基質として用いた。中温 (35℃) 条件を設定し、バイオリアクターに N_R 0、1.25、 $3.75 \times 10^4 \mu\text{mol} \cdot \text{day}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ の照射条件で水素発酵実験を行い、水素濃度、生産量と収率、また各リアクター内微生物の ATP を測定した。

【結果と考察】

各リアクターの水素濃度、水素生成量は光刺激強度増加と共に上がり、暗条件に比べ、 N_R 3.75 のリアクターが 1.2 倍も高い水素収率が得られた。また、各リアクターのグルコース 1g あたりの水素生産量、ATP の測定結果も同じ傾向が見られ、このことから仮説通り、光刺激によってリアクター内の微生物の活性量が向上したことがわかった。

シリコン固定型光触媒担持ビーズの開発

¹筑波大学・生物資源科学、²筑波大学・生命産業科学、³筑波大学・生命環境系
○矢野 南珠¹、Sharma Aditya²、楊 英男³

【背景と目的】

近年、社会発展に伴い工業化が進行している。その廃水の流出による水質悪化が問題視され、汚染水処理の必要性が高まっている。新たな技術として、光触媒を用いた処理が比較的安価で安全であるため注目されている。通常粉末状光触媒は、汚水に懸濁し紫外線光を照射することで強い酸化力を持ち、汚染物質を分解処理できる。しかし、処理後の水と光触媒の固液分離は時間やコストもかかる上に光触媒の損失が大きい。このような背景から、光触媒を様々な基板に固定化する技術開発の研究が進んでいる。従来の光触媒固定化技術として、溶媒沈着法[1]やゾルゲル法[2]が挙げられる。どちらも光触媒を膜状で支持体に固定化する。しかし、光触媒の支持体への付着力が十分でなく落下してしまうため、耐久性と高効率を求めた実用化に課題が残っている。これらの問題点を改善するために当研究室では自己接着性を持つシリコン系高分子材料を利用した新たな光触媒固定化技術を開発した。シリコンは強力な接着性を有しており、安価で毒性がなく、耐水性や耐紫外線という利点を持つ。また、ガラスビーズは安全・安価で光反射性も優れているため、本研究の光触媒支持体として選ばれた。自己接着性を持つシリコン系高分子材料により光触媒粉末を物理化学的に支持体に固定するという今までにない技術であり、従来の光触媒固定化方法との比較に関する研究もなされていない。

本研究では、シリコン固定型光触媒担持ビーズを作製し、その材料と従来の代表的な固定化方法である溶媒沈着法とゾルゲル法を用いた光触媒担持ビーズの光触媒活性と耐久性の比較を行い、高効率・安全・安価・耐久性に優れる光触媒固定方法を開発することを目的とした。

【実験】

光触媒は P25、支持体は直径 2mm 程度のガラスビーズを使用した。シリコン固定法においては、ガラスビーズにシリコン接着剤を塗り、その上から P25 をふるって接着させることで製作した。溶媒沈着法とゾルゲル法において溶媒はそれぞれメタノール、PVA とし、溶質は P25 とする溶液をガラスビーズにコーティングし、それぞれ 500℃、180℃で 2 時間焼結して製作した。製作したビーズを 10cm のガラスチューブに充填し、連続流動方式で行った。廃水のモデル物質を RhB (2 ppm、50 ml)、光触媒投与量を 126 ~ 161 mg、流速を 150 ml / 分、光源を太陽光 (550 W/m²) として分解試験と連続使用耐久試験を行った。製作したビーズの特性解析は SEM と AFM による形態観察、接触角測定によって評価した。

【結果と考察】

RhB 分解実験の結果、シリコン固定型法は、30 分で約 90 %の分解率を示し、溶媒沈着法とゾルゲル法と比較し、それぞれ 1.6 倍、2 倍以上の高い分解率が得られた。連続使用耐久性試験の結果、10 サイクル使用後もシリコン固定法は約 90 %の分解率を維持したのに対し、他の固定化方法では分解率が低下した。この理由として、シリコン表面に光触媒粒子が埋め込まれ、強固に固定されていたこと、また、シリコン系高分子材料は疎水性であることから流動の影響を受けず、光触媒表面が安定していたためだと考えられる。このことより、シリコン固定法が最も優れた耐久性と効率をもつ光触媒固定化方法であると考えられる。

【参考文献】

- [1] A. Bouarioura, *J. Environ. Chem. Eng.*, 5 (2017), 1565-1574.
- [2] H.K. Melvin Ng, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.*, 578 (2019).

Characteristics of Hydroxyapatite Microparticles Bound with Virus Capture Polymer

¹*Yuhan LIU, ¹Yasuhiro Nakagawa, ¹Toshiyuki Ikoma.

¹Department of Materials Science and Engineering, Tokyo Institute of Technology

[Introduction]

Virus infections are a significant health challenge worldwide. Traditional antiviral therapies, such as vaccines and chemotherapy, have some limitations due to possible side effects and drug resistance. Therefore, alternative antiviral therapies should be considered. In this study, a novel antiviral compound which could be used to purify blood was fabricated. Hydroxyapatite (HAp), a biocompatible inorganic material, was chosen as substrate for the antiviral compound. In order to impart antiviral property to HAp, copolymers containing benzoxaborole as a virus capture and ethylene glycol methacrylate phosmer as a bond to HAp were polymerized, and modified on the surface of HAp.

[Experiments]

HAp suspension was prepared by a wet method and then HAp microparticles were fabricated by a spray dry method. The morphology of the HAp microparticles was observed with a scanning electron microscopy (SEM). Crystalline phase and crystallinity of HAp were characterized by X-ray powder diffraction (XRD; CuK α). Virus capture polymer (benzoboroxole) was prepared with a reversible addition-fragmentation chain transfer polymerization method; 5-methacrylamido-1,2-benzoxaborole (MAAmBO), 2-acrylamido-2-methylpropane sulfonic acid (AMPS), 4,4'-azobis (4-cyanovaleric acid) (ACVA) and 4-cyano-4-[(dodecylsulfanylthiocarbonyl)sulfanyl]pentanoic acid were dissolved into dimethylformamide (DMF) under a nitrogen atmosphere and polymerized at 70°C for 24 h (Poly(M-A)). Following this, poly (M-A), phosmer and ACVA were dissolved into DMF and water (1:1) solution under a nitrogen atmosphere and also polymerized at 70°C for 24 h (Poly(P-M-A)). Polymers were characterized with a nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR). Adsorption tests of Poly(P-M-A) in pure water on HAp were carried out; 30 mg of the HAp microparticles was dispersed into 3.0 ml of Poly(P-M-A) solution with different concentrations (0.5, 1, 2, 5, 10 mg/ml) and then stirred for 1 h. After centrifugation and washing with pure water, the sediment was analyzed with a Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR).

[Results and Discussion]

The spray-dried HAp microparticles had a spherical morphology ($D = 4.9 \mu\text{m}$). The X-ray pattern exactly matched with the characteristic peaks of pure HAp without any other phases. It indicated the successful synthesis of HAp microparticles. Figure 1 shows the structure of virus capture polymer. From the NMR spectrum of Poly(P-M-A), the peak (Bn) from MAAmBO was observed at $\delta = 7.2\text{--}7.8 \text{ ppm}$, the peak ($-\text{CH}_2\text{O}$) from Phosmer was at $\delta = 3.9\text{--}4.2 \text{ ppm}$, the peak ($-\text{CH}_2-$) from AMPS was at $\delta = 3.0\text{--}3.4 \text{ ppm}$. From integral area of these peaks, the molar ratio was determined (MAAmBO: AMPS: Phosmer = 9:67:24 (mol%)). Figure 2 shows FT-IR spectra of HAp adsorbed with Poly(P-M-A) at different concentrations. Peaks of C=O and C-O vibrations derived from the polymer were detected at 1730 cm^{-1} and 1235 cm^{-1} , and the intensity of these peaks was increased with the initial concentrations of Poly(P-M-A). However, there was no wavelength shift after adsorption, indicating that there was no interaction between the C=O/C-O groups and the HAp surfaces. The interfacial interaction of HAp and polymer is due to the high affinity of organic phosphates of phosmer on the HAp surfaces via electrostatic bonding.

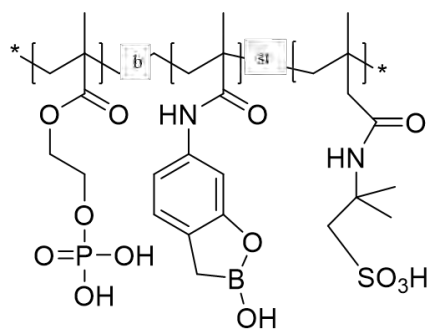


Figure 1. The structure of virus capture polymer

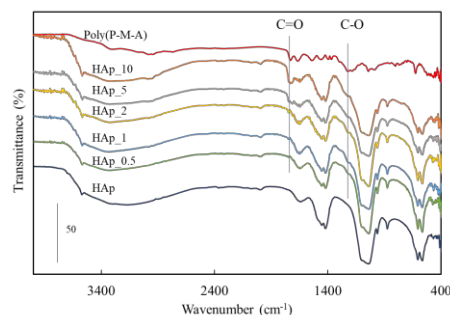


Figure 2. FT-IR spectra of polymer adsorbed HAp

Temperature-Dependent Structure Transition of Sarcosine-Based Bola-Type Amphiphilic Polypeptide

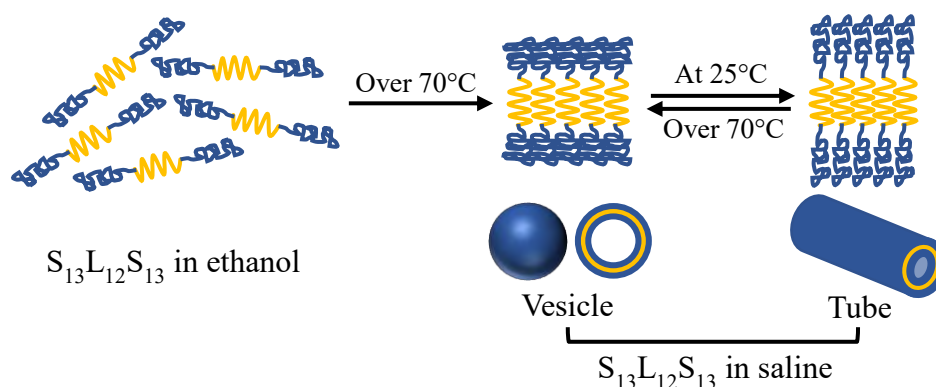
^{1,2,3} * Mohamed S. Elafify, ² Nermeen A. Elkasabgy, ² Sinar Sayed, ^{1,4} Yoshihiro Ito, ^{1,4} Motoki Ueda

¹RIKEN Cluster for Pioneering Research (CPR)

²Department of Pharmaceutics and Industrial Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Cairo University

³Department of Pharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Menoufia University

⁴RIKEN Center for Emergent Matter Science (CEMS)



[Introduction]

In the nanomedicine field, from a platform perspective, the fabrication of materials with intense anti-biofouling features will pave the way to augment their clinical translation. In early studies, PEG was deemed to be biologically inert, and PEGylation has been considered the most effective strategy. However, recently drawbacks associated with anti-PEG antibodies (Abs) generation were reported, in form of immunogenicity and accelerated blood clearance phenomena. In this regard, there is a pivotal need for alternatives. Water-soluble, non-ionic, non-proteinogenic, human natural amino acid material known as Sarcosine was emerged as promising stealth material, having an expected limited protein interaction and non-immunogenic *In-vivo* behavior. It has been reported that the high dense coating of polysarcosine (PSar) on materials prevents the anti-PSar Abs. On the other hand, the high-dense polymer brush of some polypeptoids is known to have a temperature-responsive LCST-like transition from solution state to aggregation state. In this present work, we aimed to investigate the molecular self-assembly behavior and the temperature-responsivity of sarcosine-based bola-type amphiphilic polypeptide $S_nL_{12}S_n$ for further implementation in biomedical applications.

[Experiments]

Initially, we synthesized $PSar_n-(1\text{-Leu-Aib})_6\text{-PSar}_n$ by incorporating two PSar arms as hydrophilic segments to leucine-based α -helical hydrophobic block via ring-opening polymerization of sarcosine N-carboxyanhydride (SarNCA). Then, the nano-assembly was prepared by the ethanol injection method. The assembly behavior in saline at different temperatures was elucidated by transition electron microscope (TEM) observation and dynamic light scattering (DLS) measurements. In addition, the membrane fluidity of the constructed assembly was examined using 1-(4-trimethylammoniumphenyl)-6-phenyl-1,3,5-hexatriene p-toluene sulfonate (TMA-DPH), an outer membrane-localized fluorescence probe.

[Results and Discussion]

$S_{13}L_{12}S_{13}$ synthesis was confirmed by 1H NMR spectroscopy and matrix-assisted laser desorption time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). The TEM results revealed the formation of a thermodynamically unstable large vesicular structure in saline, which was transformed into a small tube over time while stored at low temperature. These findings were confirmed by the molecular assembly size change obtained by DLS. Moreover, it was observed that the TMA-DPH polarization significantly changed over 70 °C, indicating a more rigid outer interfacial surface at higher heating temperatures. This phenomenon could be demonstrated by, sarcosine entanglement displayed via sarcosine dehydration with heating that affects the leucine hydrophobic interaction during the assembly.

Micropattern-controlled chirality of focal adhesions regulates the cytoskeletal arrangement and gene transfection of mesenchymal stem cells

^{1,2}*Yongtao Wang, ^{1,2}Yingjun Yang, ¹Toru Yoshitomi, ¹Naoki Kawazoe, ^{1,2}Guoping Chen
¹Research Center for Functional Materials/National Institute for Materials Science, ²Department of Materials Science and Engineering/University of Tsukuba

[Introduction]

Chirality is a general phenomenon in nature. Cell chirality is important for the left-right asymmetric development of organisms, and breaking chirality may result in mortality or diseases. Molecular chirality and structures have been designed to regulate cell chirality and functions. Chiral surface structures can affect protein adsorption, which has been considered one of the prominent causes of the effect of chirality on cell functions. Although cells can sense chiral structures and demonstrate differential behaviors on chiral surfaces through adsorbed proteins, it is not clear how the adsorbed proteins on chiral surface structures affect the cytoskeleton and therefore regulate gene transfection.

[Experiments]

A photo-reactive derivative of poly(vinyl alcohol) (PVA) was synthesized by introducing azidophenyl group of 4-azidobenzoic acid into PVA (Figure 1). The photo-reactive PVA solution was casted onto 1.5×1.5 cm² tissue culture polystyrene plates and then dried overnight in the dark. The photo-reactive PVA-coated polystyrene plates were covered with a pre-designed photomask containing micropatterns of different adhesion area, chirality and swirling angle and exposed to UV light to generate different micropatterns. hMSCs were cultured on the micropatterned surfaces. Cationic liposome/GFP-plasmid DNA complexes were added in the culture medium for transfection into the hMSCs. Transfection efficiency was compared by using the fluorescent images. BrdU staining, uptake of nanoparticles and actin staining were conducted to investigate nuclear activity, cell-nanoparticle interaction and cytoskeleton structure.

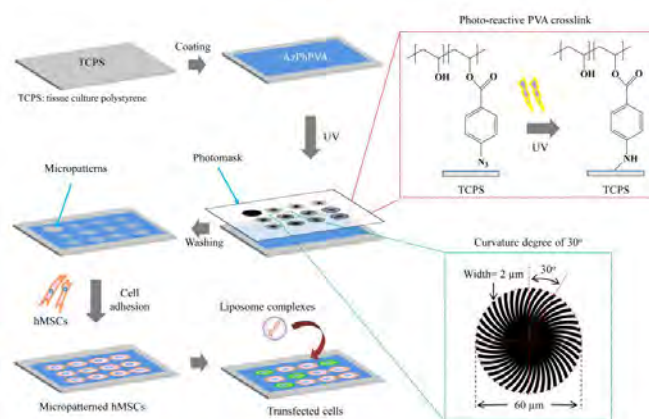


Figure 1 Flowchart for preparation of micropatterns and gene transfection of lipoplexes into hMSCs.

[Results and Discussion]

Formation of polystyrene micropatterns of different adhesion area, chirality and swirling angle that were surrounded with PVA areas was confirmed by observation with optical microscopy and atomic force microscopy. Micropatterns were coated with fibronectin to enhance cell adhesion. The chiral micropatterns induced the formation of chiral focal adhesions and chiral cytoskeletal structures. Gene transfection efficiency was enhanced with increasing adhesion area, while hMSCs on left-handed and right-handed swirling micropatterns showed the same level of gene transfection. When the swirling angle was changed from 0°, 30°, and 60° to 90°, the gene transfection efficiency at a swirling angle of 60° was the lowest. BrdU staining and uptake of cationic nanoparticles showed that cell nuclear activity and uptake capacity of nanoparticles could be affected by cell adhesion area and swirling angle, while had little change with the chirality. Staining of actin filaments showed that thick and well-organized actin filament stress fibers could generate high cell stiffness. Therefore, the influence of cell chirality on gene transfection was strongly associated with cellular uptake capacity, DNA synthesis and cytoskeletal mechanics.

Collagen scaffolds with interconnected pore structures for cartilage tissue engineering

^{1,2}*Yan Xie, ¹Naoki Kawazoe, ¹Yoshitomi Toru, ^{1,2}Guoping Chen

¹Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science, Tsukuba, 305-0044, Japan, ²Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, 305-8577, Japan. Guoping.CHEN@nims.go.jp

[Introduction]

Articular cartilage is avascular, aneural and alymphatic tissue with limited natural healing capability. Damaged articular cartilage leads to joint pain, immobility and breakdown, which greatly affect the daily life of patients. Autologous chondrocyte-based cartilage tissue engineering has been developed as a promising treatment option for cartilage regeneration and restoring joint function. A three-dimensional (3D) scaffold provides necessary support for autogenous chondrocytes attachment and proliferation, which defines the ultimate shape of engineered cartilage. Cartilage tissue engineering requires homogeneous cell distribution throughout the scaffolds to guarantee regeneration of functional cartilage tissue. To achieve homogeneous cell distribution throughout the scaffolds, interconnected pore structures of scaffolds are required for cell penetration and immigration. In this study, collagen scaffolds with interconnected structures were prepared using sacrificial templates.

[Experiments]

Poly(D, L-lactide-co-glycolide) (PLGA) templates were prepared by solvent casting/particulate leaching. Six types of PLGA templates were prepared by using different sizes of NaCl particles and PLGA/NaCl ratios. The obtained PLGA sponges were soaked in collagen type I solution under a reduced pressure, freeze-dried, and then cross-linked to obtain PLGA-collagen composite sponges. PLGA templates were selectively removed by immersion in ammonia solution. After removal of PLGA templates, collagen sponges were prepared. The collagen sponges prepared with sacrificial PLGA templates were referred as T-collagen sponges. Control collagen sponges were prepared by the same method without using PLGA templates and referred as C-collagen sponges.

[Results and Discussion]

SEM observation showed that the T-collagen sponges had highly porous structures with well interconnected pores throughout the scaffolds. Removal of the sacrificial PLGA templates left their negative replicas, which contributed to the interconnected pore structures in T-collagen sponges. Chondrocytes were seeded in the collagen scaffolds and cultured in vitro for 6 weeks. SEM observation and nuclear staining indicated that the cells distributed more homogeneously in the T-collagen sponges than in the C-collagen sponges (Fig.1). The T-collagen sponges facilitated cell proliferation, expression of cartilaginous genes and sulfated glycosaminoglycan (sGAG) production more significantly than the C-collagen sponges. The results suggested that the T-collagen sponges may be a useful scaffold for cartilage tissue engineering.

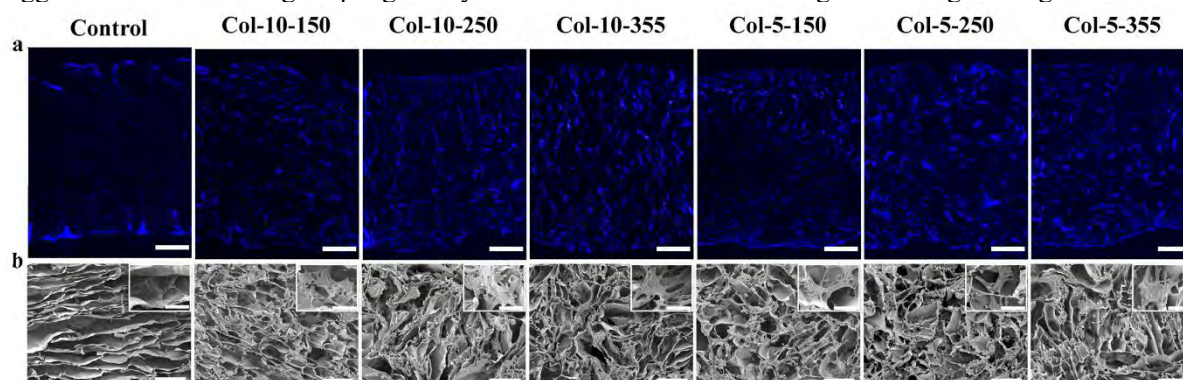


Fig. 1 (a) Nuclear staining of chondrocytes cultured in the scaffolds for 1 day. Cell nuclei were stained blue. Scale bar: 500 μ m. (b) SEM images of the cross-sections of the cell/scaffold constructs after 1 day of culture. Scale bar: 200 μ m. The inserts show the magnified SEM images. Scale bar: 50 μ m.

[Acknowledgements]

This research was supported by JSPS KAKENHI Grant Number 19H04475 and 21H03830.

NANOPARTICLE MEDIATED DELIVERY OF CRISPR/CAS9 FOR MACROPHAGE POLARIZATION

Prem Singh Anant and Chinmaya Mahapatra*

Department of Biotechnology, National Institute of Technology Raipur, Raipur, Chhattisgarh 492010, India.

*Corresponding author

Email: cmahapatra.bt@nitrr.ac.in

Abstract:

Macrophages are cells responsible for providing innate immunity and are found in almost every tissue. The TRMs (tissue resident macrophages) originate from fetal liver and yolk cells during development from the hematopoietic stem cells. Their major role is in antigen presentation and phagocytosis. Macrophage genetic programming is a critical topic in current molecular and cellular drug delivery. Controllable macrophage activation towards desired phenotypes in vitro and in vivo studies will give viable therapies for a variety of proliferative and inflammatory illnesses. Macrophages are regarded to be important in the regulation and control of tissue and organ homeostasis, atherosclerosis, cancer and, various autoimmune disorders. Based on the microenvironment the macrophages are present in, they are classified into two types M1/M2 paradigm which are pro-inflammatory and anti-inflammatory respectively. If there is not any external signal, they maintain their M0 state that is naïve state. M1 is characterized by expression of CD80, CD86, TLR-2 and, TLR-4; M2 is characterized by the expression CD206 and CD163. In proliferative disorders, the induced M1 polarization of macrophages promotes inflammation and cell death, whereas, in inflammatory diseases, the induced increase in M2 macrophage content promotes angiogenesis, regeneration and, extracellular matrix remodeling. The importance of macrophages in cell therapy as an agent or a target cannot be overstated. Macrophages benefit greatly from genome editing since it allows researchers to better understand their roles, metabolic characteristics, migratory capacity, and intercellular connections. Genome editing induces stable change, allowing for the long-term effects of total or partial gene suppression to be assessed. CRISPR/Cas9 complexes, which are made of Cas9 nuclease, which creates a double-stranded break in DNA, and guide RNA (gRNA), whose sequence dictates the position of break, are perhaps the best technique to achieve a particular knockout. The benefit of this strategy is the great specificity of the guiding combined with the high efficiency of alteration. In macrophages, a CRISPR/Cas9-mediated knockout of the NLRP3 gene drastically decreased the quantity of activated caspase-1 and generally interfered in vivo inflammasome formation.

The delivery of CRISPR/ Cas9 nanoparticle-based delivery strategies have piqued the interest of researchers due to their enormous potential for combination treatments, ease of large-scale manufacture, large insertion size, and efficient in vivo application.

Keywords: CRISPR/ Cas9, Nanoparticle, Delivery, Macrophage Polarization

Structurally-discovered KLF4 variants accelerate and stabilize reprogramming to pluripotency

^{1,2*}Borisova, E., ²Nishimura, K., ¹An, Y., ^{1,2}Takami, M., ^{1,2}Li, J., ¹Song, D., ¹Matsuo-Takasaka, M., ¹Luijckx, D., ²Aizawa, ^{3,4}S., Kuno, A., ⁵Sugihara, E., ⁵Sato, T., ⁶Yumoto, F., ⁷Terada, T., ²Hisatake, K., ¹Hayashi, Y.
¹iPS cell advanced characterization and development team/RIKEN, ²Laboratory of Gene Regulation, Faculty of Medicine/University of Tsukuba, ³Department of Anatomy and Embryology, Faculty of Medicine/University of Tsukuba, ⁴School of Integrative and Global Majors/University of Tsukuba, ⁵Research and Development Center for Precision Medicine/University of Tsukuba, ⁶The Institute of Materials Structure Science, High Energy Accelerator Research Organization in Tsukuba, ⁷Department of Biotechnology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences/The University of Tokyo

[Introduction]

Non-genetically modified somatic cells can only be inefficiently and stochastically reprogrammed to pluripotency by exogenous expression of reprogramming factors. Low competence of natural reprogramming factors may prevent the majority of cells to successfully and synchronously reprogram. Here we screened DNA-interacting amino acid residues in the zinc-finger domain of KLF4 for enhanced reprogramming efficiency using alanine-substitution scanning methods. Identified KLF4 L507A mutant accelerated and stabilized reprogramming to pluripotency in both mouse and human somatic cells.

[Experiments]

To examine the role of KLF4 DNA-interacting residues in iPSC reprogramming, we generated iPSCs from MEF (mouse embryonic fibroblasts), which carry Nanog-GFP (Nanog-promoter-driven green fluorescent protein) transgene, using KLF4 ZnF alanine substitution mutants (19 mutants generated by substituting wild-type residue with alanine via site-directed mutagenesis). Nanog-GFP-positive colonies were observed and counted by a fluorescent microscope. On days 15 and 25 after transduction, more GFP-positive iPSC colonies were found in L507A mutant conditions than WT conditions. Next, we generated human iPSCs with these vectors from human fibroblasts using SeVdp vector system. The results suggested that SeVdp vector carrying L507A mutant stably produced more homogenous high-quality human iPSC clones without residual SeVdp vectors or the aberrantly high expression of differentiation-defective markers. Next, we screened all natural amino acid residue variants at L507 position in MEF iPSC reprogramming to determine how each amino acid residue affected iPSC generation efficiency. The results indicated that KLF4 variants at L507 position with smaller amino acid residues acquired higher reprogramming activity. Then, we examined the molecular mechanisms of the enhancing effect of KLF4 L507A on iPSC reprogramming by accessing protein expression levels and/or stability. For this, we evaluated (WT and L507A mutant): the protein half-life by cycloheximide chase assay and the protein thermal stability by cellular thermal shift assay. Results showed similar expression levels and protein stability of KLF4 L507A mutant to WT protein. To dissect pathways related to enhanced reprogramming by KLF4 L507A, we compared iPSCs generation between OSKM or OSK[L507A]M with six putative pro-reprogramming factors. The results suggested that the effect of L507A in reprogramming was epistatic to GLIS1 and Klf5, further suggesting possibility of partially shared common mechanisms between L507A with GLIS1 and Klf5. Next, we examined the KLF4 L507A genome-wide DNA binding pattern by ChIP-Seq and global gene expression pattern by RNA-Seq during reprogramming. The results suggested that the KLF4 L507A might show distinct patterns of DNA binding from WT protein during reprogramming and specifically enhance mesenchymal-to-epithelial transition. We also performed MD simulation analysis that predicted the L507A mutant to acquire a unique conformation of protein-DNA complex with additional DNA interaction.

[Results and Discussion]

We demonstrated the first generation of KLF4 ZnF variants with enhanced reprogramming activity and showed that one amino acid modulation in a reprogramming factor can markedly improve natural transcription factor function further providing cost-effective advantages in future scientific and medical applications. Our study provides new insights on molecular mechanisms of transcription factor DNA-binding with possible implications in protein bioengineering technology to design artificial transcription factors.

Figure. KLF4 ZnF domain



Mechanomics Biomarker for Cancer Cells Unidentifiable through Morphology and Elastic Modulus

¹*Zhang, H., ²Wang, H., ³Kano, J., ³Nakagawa, T., ³Noguchi, M.

¹Research Center for Advanced Material Characterization/National Institute for Materials Science,

²Research Center for Functional Materials/ National Institute for Materials Science, ³Department of Diagnostic Pathology/ University of Tsukuba

[Introduction]

Cellular mechanical properties are potential cancer biomarkers used for objective cytology to replace current subjective method relying on cytomorphology. However, heterogeneity among intra/inter cellular mechanics and the interplay between cytoskeletal prestress and elastic modulus obscured the difference detectable between malignant and benign cells.

[Experiments]

In this work, we collected high density nanoscale prestress and elastic modulus data from a single cell by AFM indentation to generate a cellular mechanome. Such high dimensional mechanome data was used to train a malignancy classifier through machine learning. The classifier was tested on 340 single cells of various origins, malignancy, and degrees of similarity in morphology and elastic modulus. (Figure 1)

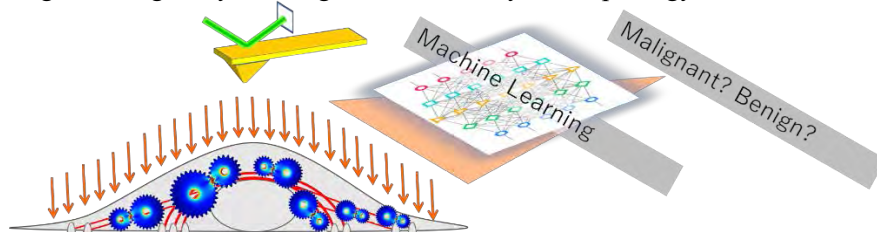


Figure 1. An AFM tip sensing the tensional force in the cytoskeletal tensegrity for cell malignancy diagnosis.

[Results and Discussion]

The classifier showed instrument-independent robustness and classification accuracy of 89% with AUC-ROC value of 93%. Signal-to-noise ratio 8 times that of human cytologist-based morphological method was also demonstrated, in differentiating precancerous hyperplasia cells from normal cells derived from the same lung cancer patient. (Figure 2)

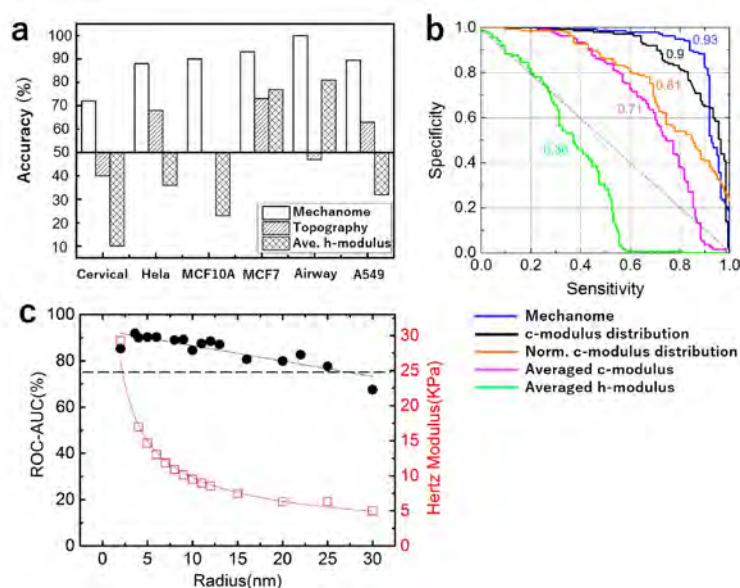


Figure 2. a. malignancy classification accuracy obtained by classifiers trained with mechanome data, topography data and averaged Hertz modulus data. Threshold: 50%; b. ROC of classifiers trained with different mechanical data types. AUC was labelled.; c. Black round points show ROC-AUCs of mechanome biomarker with intentionally erroneous input of AFM tip radius. Red square points show h-modulus values.

Exploring the effect of viscosity on osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells on micropatterned surfaces

^{1,2}*Jing Zheng, ^{1,2}Yongtao Wang, ¹Naoki Kawazoe, ^{1,2}Guoping Chen

¹ Tissue Regeneration Materials Group, Research Center for Functional Materials, National Institute for Materials Science, 1-1, Namiki, Tsukuba, ² Department of Materials Science and Engineering, Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba, 1-1-1, Tennodai, Tsukuba

[Introduction]

Recent studies have discovered that along with other mechanical cues of the cellular microenvironment, viscosity also has an influence on stem cell fate. However, how cells sense the viscosity of microenvironment remains elusive. Here, we explored the effect of viscosity of culture medium on osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells (hMSCs). By culturing hMSCs on micropatterned surfaces, the cell morphology was precisely controlled to compare how cell morphology and viscosity synergistically affect osteogenic differentiation.

[Experiments]

Micropatterns having circles of different size (30, 40, 60 and 80 μm diameter) and 60 μm diameter circle of different aspect ratio (1:1, 2:1, 4:1 and 8:1) were prepared on tissue culture polystyrene (TCPS) discs using photoreactive poly(vinyl alcohol)(PVA). The hMSCs were cultured on the micropatterns in viscous osteogenic induction media. The viscosity of the media was adjusted by adding 1wt% of PEG of different molecular weight. Actin filament was stained after hMSCs were cultured for 24 hours. After culture for 2 weeks, alkaline phosphatase (ALP) staining was performed to examine osteogenic differentiation.

[Results and Discussion]

On the micropatterned TCPS surface, the morphologies of hMSCs were well controlled by the micropattern structure with the shape of circles and ellipses (Fig. a and b). After 2 weeks culture in the induction media with different viscosity, the ratio of ALP positive cells was counted. For large cells (40, 60, and 80 μm), ALP-positive cells increased with increase of viscosity. Small cells (30 μm)

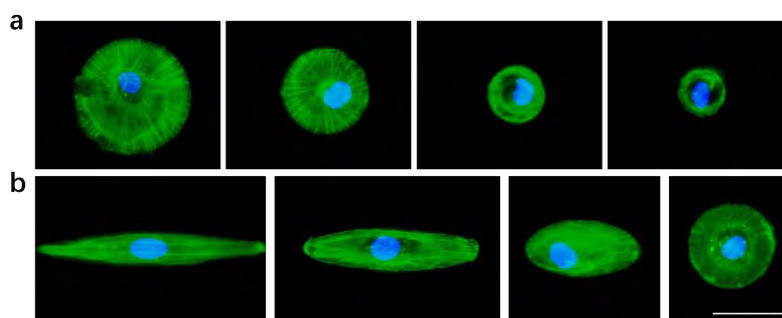


Figure 1. F-actin staining of MSCs cultured on micropatterns with various (a) size and (b) aspect ratios. Scale bar : 50 μm .

showed the same level of ALP activity in different viscosity. When hMSCs were cultured on the 60 μm circle and ellipse micropatterns with a fixed size but changing aspect ratio, the number of ALP-positive cells increased with viscosity. High viscosity further enhanced the promotive effect. The results indicated that viscosity of culture media could affect osteogenic differentiation of hMSCs with large spreading area, but not hMSCs with small spreading area. Aspect ratio could further enhance the promotive effect of viscosity. Medium viscosity and cell morphology showed synergistical effects on promotion of osteogenic differentiation of hMSCs.

Green and sustainable photocatalytic disinfection by highly reusable immobilized TiO₂-based composite

^{1,2*}Liu, N., ¹Yu, D.F., ²Yang, Y.N.

¹Department of Biomedical Engineering, Chengde Medical University, China, ²Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, Japan

[Introduction]

Photocatalytic disinfection technology has attracted a great attention in order to process microbial contamination due to its superior oxidation ability, low cost, nontoxicity and stability. Until now, although there are countless studies about applying photocatalysis in environment, the commercialization of photocatalytic reactors has not been widespread yet. The main constraint of applying photocatalytic disinfection in large-scale industry is the tedious post-separation of photocatalyst powder after disinfection. To avoid this shortcoming, fixing catalyst particles in a solid matrix has become a promising option. Until now, various studies have been reported about immobilizing catalysts in or on different solid matrix, such as glass, cement, paints, cellulose, and clay. Nevertheless, most of these methods are limited to specific types of substrates, require complex processes, hazardous chemicals and instruments, or suffer from industrial adaptability and scalability. As such, for the practical application of photocatalysis technology, there is an urgent need to develop a facile catalyst immobilization method suitable for large-scale preparation and application. Alternatively, binders like silicone glue could be a promising candidate for coating the catalyst particles on plates. Silicone glue as an excellent adhesive possesses many useful characteristics: thermal stability (-100 to 250°C); UV, water, and ozone resistance and cured at room temperature. It has been applied in many fields, including electrical, electronic, household, office machines, airplane, medicine, and dentistry. While, to date, there are few studies available for applying it in the photocatalyst field. According to the previous report in our lab, a novel visible-light driven TiO₂-based heterogenous photocatalyst (P/Ag/Ag₂O/Ag₃PO₄/TiO₂ denoted as PAgT) has been successfully developed and exhibited remarkable ability for organic substances degradation, *E. coli* inactivation and water splitting. Hence, in this study, a silicone glue-immobilized photocatalytic system based on this novel visible-light-driven PAgT composite was developed for the continuous-cycle water sterilization.

[Experiments]

PAgT photocatalyst was successfully prepared by hydrothermal method. A commercially available silicone glue was selected as a binder to immobilize the photocatalysts in a clear plastic Petri dish (SHARP CHEMICAL IND. CO.LTD., Japan). *E. coli* was used as model bacteria with an initial concentration around 10⁵ cfu/mL. In order to test the stability of the glue immobilized photocatalyst, the inactivation was conducted in five consecutive cycles. Moreover, SEM and XRD were used to observe the morphology and crystal structure of the prepared glue immobilized samples.

[Results and Discussion]

In this research, a highly reusable silicone glue-immobilized PAgT was successfully developed in this study with efficient antibacterial activity under visible light irradiation. The results showed that silicone glue as a binder was able to provide a very strong intact between the solid matrix and catalyst particles thus making the immobilized PAgT possessed excellent reusability during the cycling test. More strikingly, it was found that the enhanced antibacterial performance of immobilized PAgT system was due to a synergistic effect of disinfection mechanism combining the improved photocatalysis on the introduction of heterojunction structure, and the mechanical stress driven from the composite sharp edge morphology. Therefore, taking into account its facile preparation, good stability, free of post-separation, and high efficiency, the present newly developed silicone glue-immobilized PAgT could be a promising candidate for sustainable practical application in a wide range, such as real water sterilization, anti-biological fouling, air purification, and food preservation.

Light stimulation strategy for promoting bio-hydrogen production in a hybrid-Fe bioreactor

¹*LIU ZHIYUAN, ¹ZHU YUNXIN, ¹Yang Yingnan.

¹ Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba

[Introduction]

Population growth in recent decades has caused many environmental problems, such as the emission of greenhouse gases and energy depletion. Therefore, the demand for clean energy has increased. Hydrogen is a kind of clean energy that has high energy content, and the only combustion product is water. Recently, dark fermentation process has been widely discussed because of its simple bioreactor and easy operation. However, this process still has some limitations (e.g., the low hydrogen productivity and low stability), resisting its further application. To solve these problems, our lab has developed a hybrid-Fe bioreactor that effectively stabilized the fermentation process and promoted the hydrogen production efficiency during long-term operation. Furthermore, light stimulation strategy under effective photon number (N_R) conditions was found to be effective increasing microbial activity and could promote the methane fermentation performance. Hence, whether the light stimulation strategy could further promote the hydrogen fermentation process in developed hybrid-Fe bioreactor is worth of study. Thus, the objective of this research is to investigate the promotion efficiency of light stimulation strategy on hydrogen fermentation using N_R as monitoring factor.

[Experiments]

To investigate the optimal N_R condition for efficient H_2 production, batch experiment was set up in hybrid-Fe bioreactors under intermittent illumination with varied N_R condition. To further understand the light stimulation effect on H_2 fermentation process, VFAs (Volatile Fatty Acids), ATP and NADH (Nicotinamide adenine dinucleotide) were investigated which were crucial factors that reflecting the metabolic pathway and microbial activity. Microbial community analysis was conducted to understand the variety of microbial community structure and the functional microbes for affecting hydrogen fermentation performance. Long-term operation was further set-up for investigating the effectiveness of light stimulation strategy with optimal N_R condition of $3.75 \times 10^4 \mu\text{mol} \cdot \text{day}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$. VFAs, ATP, NADH for understanding the metabolic pathway and microbial activity during the operation were investigated. Sludge conductance was further analyzed to reflect the electron transfer efficiency.

[Results and Discussion]

Light stimulation using N_R as controlling factor were effective for promoting H_2 fermentation in the developed hybrid-Fe bioreactor. The optimal N_R condition for H_2 fermentation was $3.75 \times 10^4 \mu\text{mol} \cdot \text{day}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ (L3.75) and contributed to 1.4 folds H_2 yield compared to the dark condition. Furthermore, proposed N_R condition effectively promoted the acetic pathway with higher H_2 production. The ATP value suggested that the optimal N_R condition could effectively increase the microbial activity and further promote the acetic pathway. The lowest NADH concentration under the optimal N_R condition proved that the NADH-dependent pathway was promoted and resulted higher H_2 production. *Thermoanaerobacterium*, *Fervidobacterium* and *OPB95* were proved to be the dominant species under genus level in the L3.75 group. These species could promote the efficient H_2 -producing pathway that further improve the H_2 production efficiency. Moreover, long-term operation carried out under the optimal N_R condition of $3.75 \times 10^4 \mu\text{mol} \cdot \text{day}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ showed higher H_2 production efficiency compared with dark condition. The increased microbial activity and sludge conductance strongly proved that the light stimulation strategy under the optimal N_R condition showed superior H_2 productivity and had great potential for long-term application.

Enhanced bio-methane production via illuminated iron modified OLMZ fixed bioreactor during ammonium-rich anaerobic digestion

SUN MINGYUAN, LIU ZHIYUAN, ZHU YUNXIN, CHEN YUJIA, Yang Yingnan
Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba

[Introduction]

Anaerobic digestion (AD) is considered to be a promising strategy to treat livestock waste and produce biogas for satisfying the energy demands. However, high concentration of ammonium could limit the process efficiency. To mitigate the inhibition, our laboratory has developed an effective bioreactor by incorporating the chlorinated polyethylene (CPE) fixed oyster shell and lignite modified zeolite (OLMZ) with light stimulation strategy. Trace mental, as micro-nutrients, is necessary for metabolic activity and stability of the digestion process. Among trace mentals, Fe is a key element in constructing majority of the enzymes and co-factors, plays an important role in methanogenic process. Previous results showed that Fe in the OLMZ material was used up after fermentation, suggesting appropriate supplementation of Fe is necessary for the further promotion of system efficiency. Therefore, the objective of this research is to modify the OLMZ with Fe (Fe-OLMZ) and construct highly efficient illuminated bioprocess for enhancing methane production under ammonium-rich condition.

[Experiments]

Firstly, the modification of OLMZ was performed with Fe. The ammonium nitrogen sorption capability of synthesized Fe-OLMZ was evaluated via kinetic and isotherm models based on the adsorption experiments. Then, batch fermentative experiment using Fe-OLMZ was conducted in developed bioreactor under favorable intermittent illumination (Fe-OLMZ-I) with ammonium-rich substrate ($\text{NH}_4^+\text{-N}=4000 \text{ mg/L}$). The digestion performance and microbial activity was analyzed to investigate the effectiveness of Fe-OLMZ for enhancing the methane bioconversion efficiency.

[Results and Discussion]

Fe-OLMZ illustrated advanced ammonium adsorption capacity compared to OLMZ, suggesting that Fe-OLMZ might be a favorable adsorbent for ammonia uptake. As for the digestion performance, the Fe-OLMZ fixed bioreactor under illumination (Fe-OLMZ-I) resulted in the highest methane yield (272 mL/g-DOC removal), contributing to 132% increment compared to the bioreactor with original OLMZ in darkness (OLMZ-D). Correspondingly, Fe supplementation in Fe-OLMZ-I showed increased ATP and coenzyme F_{420} , implying the effective activation of microbes and methanogenic productivity with suitable micro-nutrient supplementation incorporate with light stimulation. Moreover, the conductance of sludge in Fe-OLMZ-I bioreactor was 38% higher than in OLMZ-D bioreactor, reflecting a strengthened electron transfer between the anaerobes. Therefore, the Fe-OLMZ fixed bioreactor coupled with intermittent light stimulation shows great potential in practical application for bioconversion of ammonium-rich livestock waste.

Effective photocatalytic inactivation of novel Ag/Ag₂O/BiPO₄/Bi₂WO₆ composites for *Escherichia coli*: Mechanism and Applicability

*MING JIE, SUN XIANG, Yang Yingnan

Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba

[Introduction]

Biohazards (such as bacteria, protozoa, fungi, viruses and prions) in drinking water are the leading cause of various waterborne diseases, which result in infectious diseases and even massive death. Traditional water disinfection methods including ozonation, ultraviolet radiation and chlorination have been reported to be effective for water disinfection, but limited by insufficient performance and toxic by-products. Therefore, efficient and environmental-friendly disinfection technology for waterborne bacteria is necessary. Nowadays, photocatalytic disinfection technology has attracted tremendous attention for its nontoxicity and great potential to utilize solar energy. In the previous study, a solar-light-driven Ag/Ag₂O/BiPO₄/Bi₂WO₆ photocatalyst with excellent performance for organic degradation, was firstly synthesized in our lab. However, there is limited information about its application for water disinfection. Hence, the main purpose of this study is to investigate the disinfection efficiency, bactericidal process and mechanism as well as the adaptability to environment of Ag/Ag₂O/BiPO₄/Bi₂WO₆ under simulated solar light irradiation, in the hope of providing more useful information for its further practical application.

[Experiments]

Gram-negative *Escherichia coli* (*E. coli*) was chosen as model bacteria for disinfection experiments. The photocatalytic disinfection experiment was conducted under simulated solar light (370 nm~780 nm) with 50 mW/cm² light intensity. The bactericidal process was investigated based on enzyme activities (Catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD)), intracellular component leakage (K⁺, proteins and nucleic acid) and scanning electron microscopy (SEM) images of *E. coli* cells. The contributions of different active species involved in the disinfection process were determined by scavenger experiments. In order to assess the practicability, effect of environmental factors (light intensity, pH, temperature and humic acid), and stability of Ag/Ag₂O/BiPO₄/Bi₂WO₆ photocatalyst were investigated.

[Results and Discussion]

The Ag/Ag₂O/BiPO₄/Bi₂WO₆ exhibited remarkable bactericidal activity, and could completely inactivate 2.5×10⁷ cfu/mL of *E. coli* within 20 min with the optimal catalyst loading of 0.5 g/L. To avoid the oxidative attack by ·O₂⁻ and h⁺, *E. coli* increased the activities of CAT and SOD at the early stage. With the accumulation of oxidative damage, the activities of antioxidant enzymes decreased. After their activities were overwhelmed, the cell membrane was damaged progressively, which caused the leakage of intracellular components (K⁺, proteins and nucleic acid), and then resulted in the final collapse of bacterial cells. In addition, the novel composites exhibited high adaptability in a wide range of environmental factors (light intensity, pH, temperature and humic acid), and showed high safety and excellent stability, indicating great potential for water disinfection. Our work indicated a great potential of composite Ag/Ag₂O/BiPO₄/Bi₂WO₆ for water disinfection process.

Growing of Bi₂WO₆ Crystal with Assistance of Graphene Oxide for Strongly Enhanced Visible-light Photocatalytic Water Disinfection

¹* MA QIANSU, ¹ MING JIE, ¹ LIU ZHIYUAN, ¹ Yang Yingnan

¹ Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba

[Introduction]

Recently, waterborne diseases have caused plenty of troubles to human. Many drinking water sources are not only contaminated by various hazardous chemicals, but also polluted by many pathogenic microorganisms. Among all the pathogenic microorganisms, *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Enterococcus* have been commonly found in food products and drinking water, which are very harmful to human. Chemical disinfection, especially chlorination, is the most popular sanitization technique for water purification. However, evidence continue to grow that chlorine residue can produce significant amounts of harmful disinfection by-products, posing a serious risk to public health. Photocatalysis has attracted considerable attention for water and wastewater disinfection in recent years, mainly due to its favorable efficiency, relatively low toxicity, and potential capability of using solar energy directly. Bi₂WO₆ photocatalyst has been a promising alternative for wastewater treatment due to its narrow bandgap, low cost, and visible-light-driven property. Nevertheless, the high recombination rate of the generated electron-hole pairs limited the efficiency of the Bi₂WO₆ photocatalyst. To solve this problem, Ag, Ag₂O, and Ag₃PO₄ has been doped with Bi₂WO₆ to fabricate a novel heterogeneous photocatalyst with high photocatalytic performance. To further enhance the photocatalytic efficiency of Bi₂WO₆, graphene oxide (GO) is used to synthesize Bi₂WO₆ based composite photocatalyst. GO has been widely used as a light absorber and electron acceptor, which can reinforce light harvesting and electron-hole separation. Besides, the unique 2D structure of GO will promote the transfer of photo-generated charge carriers, which improves the photocatalytic activity. Ag/Ag₂O/Ag₃PO₄/Bi₂WO₆ was synthesized by a two-step hydrothermal method, Bi₂WO₆ was formed in the first hydrothermal process, Ag, Ag₂O, and Ag₃PO₄ were doped on Bi₂WO₆ in the second hydrothermal process. It is hypothesized that GO adding in different hydrothermal process will affect the crystal formation of Ag/Ag₂O/Ag₃PO₄/Bi₂WO₆. Herein, GO adding in 1st and 2nd hydrothermal process of Ag/Ag₂O/Ag₃PO₄/Bi₂WO₆ were synthesized separately to optimize its photocatalytic disinfection performance.

[Experiments]

GO was purchased from TCI Ltd. Co. Bi₂WO₆ based photocatalyst was prepared by a two-step hydrothermal method from the previous study. For the preparation of GO-Bi₂WO₆ based photocatalyst, GO was added in both the two hydrothermal process respectively and marked as GO1 and GO2 to obtain the best condition. Characterization test (UV-Vis, PL, Raman spectra, FT-IR) and photocatalytic activity experiments were conducted to find the most optimal condition of GO modifying Bi₂WO₆ based photocatalyst. Photocatalytic disinfection activity was determined by photoinactivation of 10⁷ cfu/mL *E. coli* and *Enterococcus*.

[Results and Discussion]

It indicated that GO2-Ag/Ag₂O/Ag₃PO₄/Bi₂WO₆ photocatalyst possessed highest visible light absorption, lowest generated electron-hole recombination rate, highest photocurrent density. Besides, clear chemical bond of GO can be observed from FT-IR and Raman spectra. Characteristic peaks in XRD patterns showed that GO-Bi₂WO₆ were synthesized successfully. From the result of the release of Ag⁺ ions, it indicates that the quick inactivation of *E. coli* should result from photocatalytic performance instead of the released Ag. In summary, GO modified Bi₂WO₆-based photocatalyst in the second hydrothermal process was successfully fabricated and exhibits high photocatalytic inactivation activity, and it shows promise for practical application in wastewater treatment.

Light-induced biomethane conversion from ammonium-rich feedstock: Optimization and applicability

*ZHU YUNXIN, LIU ZHIYUAN, Yang Yingnan

Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba

[Introduction]

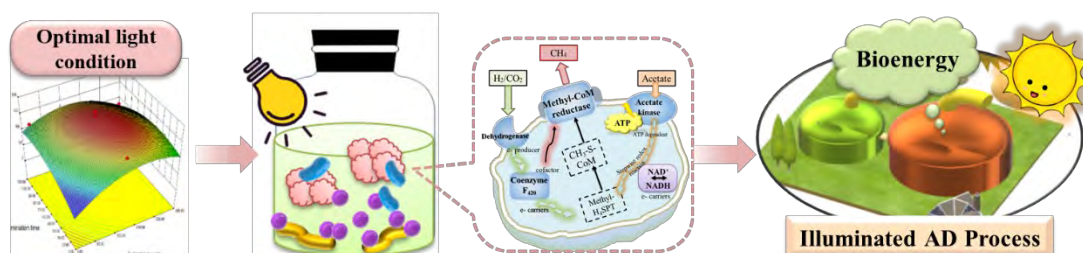
Anaerobic digestion (AD) of ammonium-rich waste into biomethane has become attractive strategy for pollution control and bioenergy conversion. However, excess ammonia generated during the process often acts as a strong inhibitor for anaerobes, and thus repressed the bioconversion efficiency. Previous studies have reported that light-stimulation was an effective strategy in overcoming ammonia inhibition, while little attention focuses on optimizing the light condition to further enhance the digestion performance for scale-up application. On the other hand, solar, as a promising light source, could be an eco-friendly alternative for future commercialization of developed system. In this research, the objective was first to optimize a novel light-assisted bioprocess for promoting methane conversion from ammonium-rich feedstock. To provide scaling-up guidance with solar light application in the future, this study further revealed the practical effectiveness of proposed bioprocess and the light-activation mechanism.

[Experiments]

To identify the optimal light condition, 13 runs fermentation experiments were carried out under different light conditions with ammonium-rich substrate ($\text{NH}_4^+\text{-N}$ concentration = 2500 mg/L) based on response surface methodology (RSM). The possible light-stimulating mechanism was revealed in view of key coenzyme activities, electron transfer capacity and sludge properties. Moreover, to confirm the practical effectiveness of proposed condition, batch experiments were conducted with different ammonium levels (2500-8000 mg $\text{NH}_4^+\text{-N/L}$) and light sources (simulated solar light and incandescent light). Finally, a 2 months semi-continuous experiment was carried out to verify the long-term effectiveness of proposed process.

[Results and Discussion]

The optimized light condition (225 W/m^2 with 63 min/day) contributed to doubled methane yield compared to the dark group. The effectively boosted digestion performance under optimized light condition regardless of ammonia levels demonstrated the robust effectiveness of proposed light-assisted process for waste treatment. A comparable performance under both simulated solar light (UV cut) illumination elucidated its practical feasibility with sunlight illumination in the future. Moreover, the proposed condition led to a well-performed bioprocess with enriched methanogenic microbiome during the 2 months operation, suggesting its sustainability for long-term efficacy. Mechanistic insight into enhancement revealed that the proposed light condition could effectively improve the microbial activity, promote the methanogenic pathway and favorable sludge properties (hydrophobicity and electroactivity). Therefore, it is promising to construct an innovative illuminated process for sustainable waste-to-energy conversion during practical application.



Development of a solar-controllable reactor for high-efficiency photocatalytic wastewater treatment under real sunlight

*C. Zhang, Y. Yang

Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba

[Introduction]

Solar-energy-enabled photocatalysis is promising for wastewater treatment. However, due to the solar motion and variable weathers, providing optimized light and temperature under actual weather remains a technical difficulty. So far, some researchers have attempted to provide photocatalysis with sunlight by using photoreactors such as Inclined Plate Collector (IPC). However, since IPC is fixedly installed, it can only passively receive sunlight to provide the variable and non-optimized light and temperature, which limits the photocatalytic activity. Therefore, the solar energy controllable photoreactor is needed to optimize the light and temperature. Linear Fresnel (LF) is traditionally applied in the solar thermal engineering. Its structure mainly includes segmented mirrors and light receivers, and the number and operation of mirrors determine the solar energy amount collected in LF. If LF has suitable mirror number and could be flexibly controlled, it is possible to effectively optimize the light and temperature under real sunlight. Therefore, the objective of this study is development of a Linear Fresnel Photoreactor (LFP) to effectively control solar energy for high-efficiency photocatalytic wastewater treatment and study on its practical application prospects.

[Experiments]

First, since light irradiance and temperature are two key factors affecting photocatalytic activity, the optimal light irradiance and temperature were identified. Then, since the mirror number and mirror operation determine the light irradiance and temperature provided by LFP, the mirror number and its control system were designed. Subsequently, LFP and IPC (as control) were manufactured. The photocatalytic wastewater treatment capacity of LFP and IPC was evaluated by the degradation experiment of various organic pollutants (Rhodamine B (Rh B), Amoxicillin (AMX) and *Escherichia coli* (*E. coli*)) under actual weathers. The global applicability of LFP was evaluated based on data from the Japan Meteorological Agency. The economy feasibility of LFP was evaluated by comparing it with IPC and several typical traditional wastewater treatment plants (Activated Return Sludge Plant (ARSP), Waste Stabilization Pond (WSP), Integrated Anaerobic-Aerobic Plant (IA-AP)).

[Results and Discussion]

The designed LFP could achieve effective adjustment of sunlight through programmatically controlling mirrors according to solar motion and weathers. On sunny condition, LFP could always maintain the optimized light and temperature, and on overcast condition it could provide the light irradiance and temperature as favorable as possible. In the comparative experiments between LFP and IPC, the Rh B degradation efficiencies in LFP were 2.19 folds, 1.5 folds and 2.28 folds higher than control under the temporarily overcast, totally to slightly overcast and sunny conditions, respectively. In addition, the efficiencies of AMX degradation and the *E. coli* disinfection in LFP were also 2 folds and 1.37 folds higher than control in sunny conditions, respectively. Moreover, the whole-year estimation indicated that LFP could achieve much more superior light and temperature for high-efficiency wastewater treatment than IPC. The economic evaluation also proved that LFP has lower initial investment and operating costs than traditional wastewater treatment plants (ARSTP, WSP and IA-ATP). Based on above results, LFP showed great potential for realizing high efficiency photocatalytic wastewater treatment under real sunlight for practical applications in the future.

Effect of oxygen vacancy and its quantity on H₂ evolution by using P/Ag/Ag₂O/Ag₃PO₄/TiO₂ under solar light

*SUN XIANG, MING JIE, Yang Yingnan,

¹*Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba*

[Introduction]

Solar light driven P/Ag/Ag₂O/Ag₃PO₄/TiO₂ (PAgT) photocatalyst developed in our lab has been determined as an efficient material in water splitting process. In another aspect, defect engineering such as oxygen vacancy (OVs) is a promising strategy to improve the activity of photocatalyst under solar light irradiation. Hence, the construction of OVs onto PAgT composite has great potential to further improve its H₂ evolution efficiency under solar light irradiation. However, it has been reported that the amount of OVs has a huge influence on the photocatalytic behavior, OVs with proper amount is beneficial to promote photocatalytic performance, while excessive OVs would give a negative effort on the photocatalytic activity as it would be the recombination center for charge pairs. Therefore, it is necessary to determine the optimal amount of OVs in PAgT to successfully promote its H₂ evolution rate. Therefore, the objective of this study is to construct optimum amount of OVs onto PAgT photocatalyst and evaluate its H₂ generation rate under solar light irradiation.

[Experiments]

The OVs modified PAgT composite photocatalyst was synthesized by two steps. Firstly, the pure PAgT sample was fabricated through hydrothermal method with molar ratio of Ti to Ag was 10:1. Then, various quantities of OVs were introduced into PAgT via a facile photoreduction method. The as-prepared samples were designated as OVs-PAgT-X, where X was the dosage of PAgT during the photoreduction process (X= 16, 12, 8, 6, and 4 g/L). The obtained samples were characterized by XRD, Raman, FT-IR, XPS, UV-vis and PL. The activities of OVs-PAgT-X were evaluated by the H₂ evolution experiment using deionized water containing 5 vol% methanol as hole-scavenger under simulated solar light irradiation. Then, the stability of OVs-PAgT-8 sample was further studied by cyclic H₂ evolution experiments.

[Results and Discussion]

The existence of OVs in modified PAgT samples was confirmed by XRD, Raman, FT-IR and XPS in detail. In particular, a similar shift attributed to the formation of OVs could be clearly observed in XRD, Raman and FT-IR spectra of OVs-PAgT sample compared with original PAgT sample. Moreover, the appeared Ti³⁺ peaks in Ti 2p XPS high-resolution spectra of OVs-PAgT samples could further determine the successful introduction of OVs. Meanwhile, the above data revealed the OVs were mainly took place in the TiO₂ component rather than Ag₂O and Ag₃PO₄. This phenomenon might be caused by following three possible reasons: (1) the energy required for constructing OVs onto Ag₂O and Ag₃PO₄ is higher than that of TiO₂; (2) the photo-generated electrons prefer to accumulate in conduction band of TiO₂, leading to formation of Ti³⁺ and OVs; (3) the high percentage of TiO₂ in PAgT composite photocatalyst due to higher Ti molar ratio. Additionally, the amounts of OVs in each sample were calculated based on the XPS data, and the results shown that the amounts of OVs increased from 3.48% to 10.01% with decreasing the dosage of PAgT during the photoreduciton process. UV-vis and PL results indicated the formed OVs could successfully enhance the light absorption ability and suppress the e⁻-h⁺ pair recombination of modified samples. Specially, OVs-PAgT-8 with the optimum amount of OVs (6.01%) exhibited the strongest light absorption capability and rapidest e⁻-h⁺ separation rate, leading to 1.67 folds H₂ evolution rate (783 μmol·h⁻¹·g⁻¹) compared with original PAgT. Besides, OVs-PAgT-8 could also maintain excellent H₂ yield during 10 recycles, indicating its good stability and great potential for practical application. Our work will provide new insight into designing of efficient defect-engineered composite photocatalyst for the related solar-to-hydrogen (H₂) conversion processes.

Fabrication of Ag/Ag₂O/BiPO₄/Bi₂WO₆/g-C₃N₄ Z-scheme photocatalyst

*ZHANG HONGJIAN, SUN XIANG, MING JIE, Yang Yingnan

Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba

[Introduction]

Recently, photocatalytic technology has attracted wide attention for its simple operation and high efficiency to deal with pollution. During photocatalytic reaction, e^-h^+ pairs are generated when photocatalyst is illuminated by a light energy greater than its band gap. Once excited, the e^- will jump into the conduction band, leaving the h^+ in the valence band, which could further generate various reactive oxygen species by a variety of redox reactions, contributing to pollutant degradation in wastewater. Among the various photocatalysts, Bi₂WO₆ as a visible-light-driven photocatalyst, has been researched extensively due to its high efficiency of solar utilization. However, fast recombination of the photogenerated e^-h^+ pairs limit its practical application. In our lab, Bi₂WO₆ was firstly modified with Ag, Ag₂O, and BiPO₄ to form a heterojunction Ag/Ag₂O/BiPO₄/Bi₂WO₆ photocatalyst (Ag-BWO), which exhibited enhanced charge carrier separation and outstanding organic degradation performance. On the other hand, compared with the traditional heterojunction, Z-scheme heterostructure photocatalyst has attracted increased attention because of its superior redox ability resulted by the unique electron flow. Graphitic carbon nitride (g-C₃N₄), as a new type of metal-free polymer photocatalyst, has aroused great concern due to its high thermal/chemical stability and high specific surface area. In addition, g-C₃N₄ possesses matched band structure with Ag-BWO to form new type Z-scheme photocatalyst. Furthermore, the different mass ratio of g-C₃N₄ to Ag-BWO could influence its photocatalytic activity by affecting the generation of active species. Therefore, the objective of this research is to successfully synthesize Ag/Ag₂O/BiPO₄/Bi₂WO₆/g-C₃N₄ (Ag-BWO/g-C₃N₄) Z-scheme photocatalyst and investigate its photocatalytic efficiency for organic pollution with different mass ratio.

[Experiments]

Firstly, g-C₃N₄ was prepared by calcination of urea powder at 550°C for 4 hours. Secondly, Ag-BWO/g-C₃N₄ composite was synthesized by a two-step hydrothermal method. The composites with theoretical mass ratios of 10:1, 25:1 and 50:1 were prepared by adjusting the adding amounts of Ag-BWO and g-C₃N₄ in the precursor solutions, and denoted as ABC₍₁₀₎, ABC₍₂₅₎ and ABC₍₅₀₎, respectively. Then the prepared composites were characterized by SEM, EDS, XRD, XPS and FTIR. Finally, the organic dye degradation experiments (Dyes: Rhodamine B, Methylene blue and Methylene orange) were conducted under the simulated solar light (60 mW/cm²) with wavelength of 370~780 nm. In addition, the enhanced photocatalytic activity was clarified by UV-vis, PL, EIS, photocurrent density and scavenger experiments.

[Results and Discussion]

The Ag-BWO/g-C₃N₄ composite was successfully synthesized with homogeneous element distribution, high purity and strong chemical interaction between Ag-BWO and g-C₃N₄, which was confirmed by EDS, XRD, XPS and FTIR. A clear morphology of Ag-BWO/g-C₃N₄ composite was observed by SEM with Ag-BWO nanosheets grown on chiffon-like ripples and wrinkles nanosheets of g-C₃N₄. Compared to Ag-BWO, g-C₃N₄, ABC₍₁₀₎ and ABC₍₅₀₎, ABC₍₂₅₎ exhibited the highest photocatalytic efficiency for dye degradation including Rhodamine B, Methylene blue and Methylene orange. The admirable activity of ABC₍₂₅₎ was primarily attributed to the enhanced light adsorption in visible light region, excellent charge separation and transfer ability, resulting from the close contact of ultrathin nanosheets and the formation of Z-scheme heterojunctions, which was discovered from UV-vis, PL, photocurrent density and EIS results. In addition, the scavenger experiments demonstrated that photogenerated $\cdot OH$, h^+ and $\cdot O_2^-$ played significant roles in organic degradation following the order of $\cdot O_2^- > h^+ > \cdot OH$. Moreover, the Z-scheme heterojunction was proved by combing the scavenger results with band potential of different components in the Ag-BWO/g-C₃N₄ composite.

Impact of Homogeneous Operation on Biomethane Production in Illuminated Anaerobic Reactor

*CHEN YUJIA, Yang Yingnan

University of Tsukuba, Degree Programs in Life and Earth Sciences

[Introduction]

Anaerobic digestion (AD) is a widely applied wastewater treatment to decompose organic waste and produce renewable energy for the sustainable development. However, one of the main challenges of AD process is ammonia inhibition during the digestion of ammonium-rich waste. In previous study, the illuminated bio-zeolite fixed-bed system has been developed as an effective ammonia alleviating practice. In order to ensure the effective and stable performance of the developed system, homogenous light-stimulation is prerequisite. Considering the practical application in the future, stirring strategy is a promising homogeneous method, and the stirring condition required to be controlled carefully. Until now, there is no study focused on developing an efficient and homogeneous illuminated bioreactor via optimal stirring operation under high ammonia concentration. Therefore, the objective of this research is to investigate the effect of stirring strategy on illuminated bio-zeolite fixed-bed reactor for effective light-stimulation and promoted biomethane conversion.

[Experiments]

Firstly, the effect of constant and intermittent stirring on the illuminated bioprocess during daily illumination (90 min/day) was compared with no mixing condition under ammonium-rich condition ($3000 \text{ NH}_4^+\text{-N mg/L}$). Secondly, the optimal condition of intermittent stirring was investigated by varying the stirring time (stirring for 1,3,5,7 min per 15 min interval). Finally, the possible mechanism of enhanced methane production from homogeneous-illuminated system with optimal stirring condition was elucidated by ATP value, coenzyme F_{420} concentration and sludge conductivity result.

[Results and Discussion]

Suitable stirring strategy could function as an effective homogeneous operation for illuminated anaerobic digestion process. Compared with constant stirring, the intermittent stirring could be a more suitable strategy for developed illuminated system. With optimal stirring condition (stirring for 3 min per 15 min interval), 1.34-fold of methane yield was obtained compared with no mixing group. Meanwhile, the improved microbial activity, enzyme activity and sludge conductivity suggested the importance of uniform light stimulation for developing an efficient homogeneous-illuminated reactor. This study demonstrates the effectiveness of illumination incorporated with mixing strategy for an efficient AD system for practical application in the future.

つくば医工連携フォーラム 2022 予稿集

発行日 2022 年 1 月 14 日

編集・発行 つくば医工連携フォーラム 2022 事務局

〒305-0044 茨城県つくば市並木 1-1

国立研究開発法人物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点
生体組織再生材料グループ内