

# 戦略的創造研究推進事業 CREST

研究領域「ナノ科学を基盤とした革新的製造技術の創成」

研究課題「再生医療に向けたバイオ/ナノハイブリッドプラットフォーム技術の構築」

## 研究終了報告書

研究期間 平成18年10月～平成24年3月

研究代表者：小寺秀俊  
(京都大学工学研究科、教授)

## § 1 研究実施の概要

### (1)実施概要

本プロジェクトは、当研究グループに属する研究者がこれまで開発してきた細胞計測技術や細胞内への物質導入および MEMS・NEMS の創製技術と再生医療および再生科学を担当するものが有機的に連携し、細胞・組織の再生に関する研究シーズ・ニーズを元に、新たな研究手法としてのマイクロ・ナノシステムの構造と原理およびその使用方法を組織・細胞の再生の的確な実現に向けて進めるものであり、それぞれの研究者が強固に連携して開発を進めた。具体的な目的としては、NEMS/MEMS を用いたナノ・マイクロハンドリング技術やナノ・マイクロバイODEバイスをを用いて、細胞の持つ分化増殖能(ボトムアップ)と人為的操作(トップダウン)の組み合わせによる再生医療のための基盤(バイオ・ナノプラットフォーム)技術を、特に再生医療において緊急の需要を持つ膵臓組織(膵島)をターゲットとして開発する。

再生医療においては、細胞の刺激応答・細胞間コミュニケーションなどの機構の解明と、その知見を利用した組織・臓器の人為的構築法の開発の、両面からのアプローチが必要になる。これをナノ・マイクロデバイスを用いて実現するため、本プロジェクトでは、2つのグループを構成し、それぞれで研究を進めるとともに、共に問題点を共有化するように知識・課題・技術の共有化を図りながら、以下の課題に関して研究開発を推進した。

- A. **細胞配列・相互作用計測グループ**: マイクロデバイス内に人為的に配置・配列した細胞を用い、特定の膵島細胞に外部刺激を与えた場合の、1細胞内での応答局在の時間・空間分解応答解析、および細胞間の相互作用解析。
- B. **再生・分化誘導グループ**: 細胞集合体としての臓器構築のための、マイクロカプセル形成・その中での細胞培養/毛細血管の再生・自発形成された毛細血管とマイクロ流路の接続、部品となる細胞の初期化・分化誘導のための、細胞内物質導入/細胞融合/細胞質移植法の開発。

各々の要素技術の開発および集積化デバイスの構築を行うとともに、細胞の配置/物質導入/細胞融合/細胞質移植技術を確立し、膵β細胞を対象に、細胞間相互作用の計測を行ってきた。その主な成果は以下の通りである。

#### A. 細胞配列・相互作用計測グループ

- ① 細胞の配列固定デバイスの開発を行い、グルコース・インシュリン等の刺激に対するカルシウムオシレーション等のその場観察を行う手法を確立した。
- ② GFP-インシュリン遺伝子を組み込んだ膵β細胞株を確立し、インシュリン放出過程の1細胞レベルでの4次元解析を可能にした。
- ③ 1細胞の局所のみを薬剤刺激するためのデバイスを作製、局在刺激に対する細胞応答の1細胞レベルでの4次元解析を可能にした。
- ④ 細胞周囲でのカルシウム・インシュリン濃度分布を計測するための、アレイ状センサを開発した。

#### B. 再生・分化誘導グループ

- ① ゲルカプセル内での膵β/血管表皮細胞の共培養を行い、毛細血管の再生を確認した。
- ② 膵β細胞を含有したゲルファイバーを移植し血糖制御機能を持つことを実証した。
- ③ 血管成長因子をパターンニングすることにより、マイクロ流路上に設けられたオリフィスに接続するような血管の形成を可能にした。
- ④ マイクロオリフィスを用い細胞内物質導入を行うオンチップエレクトロポレーションの手法を開発し、高収率・低侵襲での遺伝子やタンパク等の物質導入を実現した。
- ⑤ マイクロデバイスを用いた高収率細胞電気融合法を開発し、融合後過程の経時観察を可能にするとともに、細胞質移植の方法を開発した。

(2) 顕著な成果

1. K. Terao, A. Okonogi, A. Fuke, T. Okitsu, T. Suzuki, M. Washizu, H. Kotera: "Localized substance delivery to single cell and 4D imaging of its uptake using a flow channel with a lateral aperture", *Microfluidics and Nanofluidics* 12(1), 423-429 (2012)

概要: 局所的な薬剤刺激を受けた際の細胞内応答を、空間・時間分解能を有した観察で可視化する実験手法を開発した。局所刺激を与えるため、回転傾斜露光法によってガラス基板上に、微細オリフィスを有した微小壁で隔てられた細胞チャンバー、薬剤導入流路を一括で形成した。本デバイスにより、膵β細胞を吸引固定し、微細オリフィスを通して局所的に蛍光グルコースを与え、グルコースの細胞内の取り込みを計測した。本手法は様々な細胞応答計測への展開が期待される。

2. Y. Sugimoto, Y. J. Heo, H. Onoe, T. Okitsu, H. Kotera and S. Takeuchi. "Implantable hydrogel microfiber encapsulating pancreatic beta-cells for diabetes treatment", *Proceedings of the 15th International Conference on Miniaturized System for Chemistry and Life Sciences (micro-TAS) Oct 2-6; Seattle, Washington, USA (2011)*

概要: インスリン依存状態糖尿病に対して、血糖に応じてインスリンを分泌する細胞を生体に移植することで血糖の安定化を期待できる。本研究では免疫反応を制御し、かつ移植時の低侵襲化、移植後の位置同定を目的として、移植細胞のMIN6をコア、アルギン酸をシェルとするコアシェル型のマイクロファイバーを作製した。In vitro において細胞生存性およびインスリン分泌機能が保持されていることを確認した。実際にマウスを用いて移植実験を行い、マイクロファイバーが血糖制御機能を持つことを実証した。

3. M. Gel, Y. Kimura, O. Kurosawa, H. Oana, H. Kotera, and M. Washizu: "Dielectrophoretic cell trapping and parallel one-to-one fusion based on field constriction created by a micro-orifice array", *Biomicrofluidics* 4, 022808 (2010)

概要: マイクロオリフィスによる電界集中を用いた PDMS 製の融合デバイスを開発した。本デバイスは一つの壁によって仕切られた二つのチャンバーを持ち、それぞれのチャンバーには融合させたい別種の細胞を導入することができる。仕切りとなる壁には多数のマイクロオリフィスが構築されており、これらマイクロオリフィスにより細胞融合が行われる。本デバイスを用いることで、高い効率(95%以上)で多数の融合細胞を得られることを実証し、融合細胞の振る舞いを3日以上にわたり経時観察することに成功した。

## § 2. 研究構想

### (1) 当初の研究構想

本プロジェクトは、微細加工・微細操作などの MEMS/NEMS 技術に基づき、臓器を構成する細胞およびその有機的集合体である臓器を再生するための基盤技術(バイオ・ナノプラットホーム技術)を開発し、再生医科学の研究とMEMSの利用方法に関する新たな手法を実現し両者の研究・技術開発に革新をもたらすことを目的とする。開発するプラットホーム技術は、バイオテクノロジーとMEMS技術を融合する製造技術を実現するものであり、それを用いて、組織・細胞の再生を効率よく行うことができる。この製造技術は、MEMS技術を活用して今後のバイオナノテクノロジーを推進するための新たな製造技術として、汎用的なものに拡張できる。

臓器は、その発生段階において、増殖因子・分化因子・細胞間コミュニケーション等によりモジュレーションを受けた幹細胞が、それぞれの担うべき機能を持つ細胞に分化し、かつそれらがより高度の機能を発揮するよう自己組織化された究極のナノ・システムである。従って、再生医療に向けた臓器の人為的構築においては、

- ① 細胞および細胞システム計測: 増殖・分化因子や細胞間コミュニケーションの探索のための計測技術
- ② 細胞の増殖・分化技術: 細胞へのこれら因子の供給また転写因子の経時的逐次導入技術、およびそれを用いた細胞の分化制御技術と細胞の大量取得技術
- ③ 多細胞系の構築: 分化細胞の機能性組織体とするための配列構築技術

さらには、これらの技術を実現するための、

- ④ 細胞1個レベルでの微細操作やマイクロ・ナノ流体回路技術

が必要となる。これら①から④のテーマが図 1-1 に示すように、相互に有機的に連携・結合することで初めて、再生医療研究に利用可能なプラットホーム技術を構築でき、また同時に再生医療分野への利用を通じて、開発した技術の可能性を実証できる。

そこで、本プロジェクトでは、NEMS/MEMSを用いたナノ・マイクロハンドリング技術やナノバイオデバイスを用いて、細胞の持つ分化増殖能(ボトムアップ)と人為的操作(トップダウン)の組み合わせによる再生医療に向けたプラットホーム技術を、特に再生医療において緊急の需要を持つ膵臓組織(膵島)をターゲットとして、MEMS・NEMSとマイクロ TAS および再生医療の専門研究者が協力して、開発する。

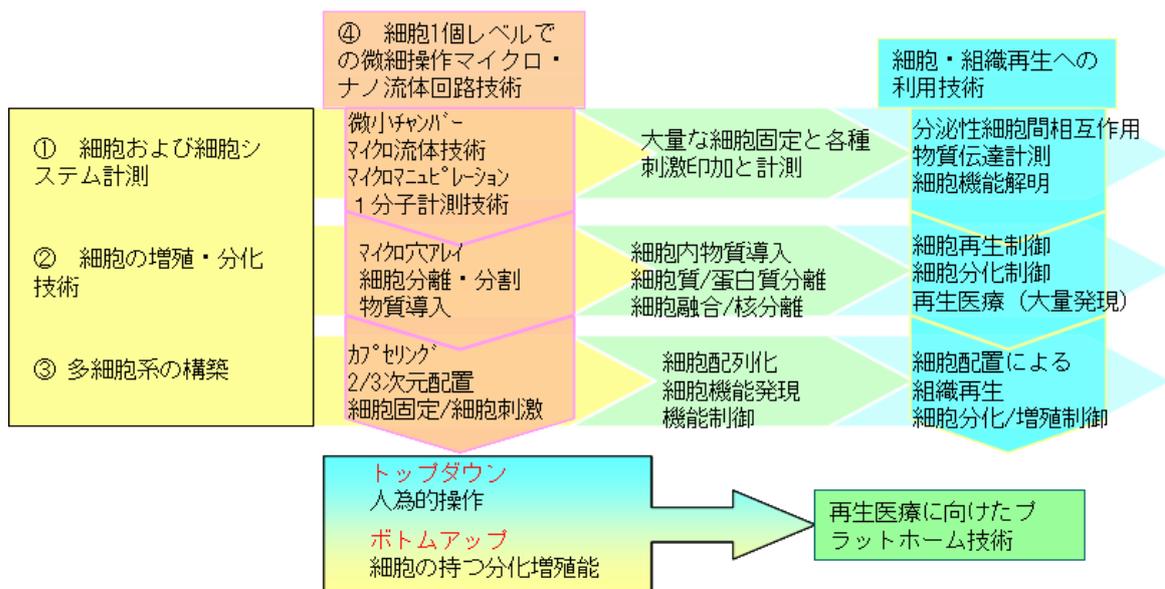


図 1-1 本プロジェクトが目指す、新たな研究手法としてのプラットホームと再生医療への可能性

最初の 3 年間で各々の要素技術の開発および集積化デバイスの構築を行うとともに、膵島細胞を構成する $\alpha$ 細胞・ $\beta$ 細胞・ $\gamma$ 細胞を対象に、細胞の分離技術さらに配置技術の開発、細胞間相互作用の計測を行う。後半の 3 年では、その計測結果を元に、膵島細胞の分化・増殖の制御を行い、さらに膵島の再構築を目指す。研究は、マイクロデバイス内に細胞を配列し、1 細胞レベルでの分泌・細胞間相互作用の計測を行うグループと、臓器構築のためのカプセル化・細胞集合体の形成・細胞自体の分化誘導等の研究を行うグループに分け、マイクロデバイス技術や相互の成果を共有化することにより共同研究を推進する。

## (2) 新たに追加・修正など変更した研究構想

当初の計画構想はほぼ修正を行うことなく推進された。この間、次のいくつかの新しい展開が得られた。

1. マイクロ流路内に正確に制御された微量の流体を流す技術を開発したため、細胞表面での流速と細胞の生育の関係についての研究が行えるようになった。
2. マイクロデバイス作製に用いるフォトレジスト系の材料について、新たに、細胞毒性が無く、かつ自家蛍光の少ない材料を開発した。
3. GFP-インシュリン融合タンパクを産生するMIN6細胞株を確立した。
4. 斜め露光・回転露光・自発メソカス法など、リソグラフィーを用いて簡便に3次元構造を作製する方法を開発し、これらを用いて細胞間・細胞内の物質移動の可視化を行った。
5. オンチップエレクトロポレーションにより、遺伝子を核に直接送達する方法を開発した。
6. 紐状ゲルを用いて細胞をカプセル化する方法を考案し、糖尿病マウスを用いてその有効性を実証した。

特に上記1.により、膵 $\beta$ 細胞がマイクロ流路内で受ける流れ場の影響を定量的に把握することができるようになり、さらに、6.の紐状カプセル化は、移植のみならず取り出しも可能であるという特長を有し、現在、共カプセル化した $\alpha$ ・ $\beta$ 細胞にて糖尿病マウスの血糖値制御を試みている。

ただし、A-5) MEMS技術を用いた細胞刺激・細胞内物質注入・細胞局所刺激・細胞手術デバイスの開発は、技術的困難により予定された研究期間内に実際に膵 $\beta$ 細胞の計測に用いることは困難であろうということ、および再生・分化誘導グループの細胞融合を用いた研究が予想外の面白い展開を見せており、ここに資源を投入したいこと、の2つの理由により、中止した。

### § 3 研究実施体制

#### A. 細胞配列・相互作用計測グループ

##### ① 研究参加者

氏名	所属	役職 (身分)	参加時期
小寺 秀俊	京都大学・工学研究科・マイクロエンジニアリング専攻	教授	H18.10～
岩田 博夫	京都大学・再生医科学研究所	教授	H18.10～
多田 高	京都大学・再生医科学研究所	准教授	H18.10～
興津 輝	京都大学・医学部	助教	H18.10～ H23.3
三浦 岳	京都大学・医学部	准教授	H18.10～
横川 隆司	京都大学・工学研究科・マイクロエンジニアリング専攻	助教	H21.4～
鈴木 孝明	香川大学・工学部・知能機械システム工学科	准教授	H18.10～
寺尾 京平	香川大学・工学部・知能機械システム工学科	助教	H19.4～
小此木 孝仁	京都大学・工学研究科・マイクロエンジニアリング専攻	特別研究員	H19.4～
大岡 正孝	京都大学・工学研究科・マイクロエンジニアリング専攻	特別研究員	H21.3～
清水 威志	京都大学・再生医科学研究所	特別研究員	H21.4～H21.6
山口 新平	京都大学・再生医科学研究所	特別研究員	H21.9～H23.5
河野 恵子	京都大学・工学研究科・マイクロエンジニアリング専攻	特別研究員	H22.1～H23.3
中井 隆介	京都大学・再生医科学研究所	特別研究員	H22.1～H22.3
堀内 美奈子	京都大学・工学研究科・マイクロエンジニアリング専攻	研究補助員	H19.8～H23.3
菊地 美奈子 (堀内より改姓)	京都大学・工学研究科・マイクロエンジニアリング専攻	研究補助員	H19.8～
福地 恵美	京都大学・再生医科学研究所	研究補助員	H19.4～
古川 鈴代	京都大学・再生医科学研究所	教務補佐員	H20.4～H20.9
山口 佳美	京都大学・医学研究科・形態形成機構学講座	技能補佐員	H23.4～
駒田 致和	京都大学・医学研究科	オフィス・アシスタント	H19.6～H20.3

金星 匡人	京都大学・医学研究科	オフィス・アシスタント	H19.6～H19.12
近藤 万祐子	京都大学・農学部 (B3)	オフィス・アシスタント	H19.6～H19.7
小森 由衣	京都大学・農学部 (B2)	オフィス・アシスタント	H19.8～H23.3
田中 亮吉	京都大学・理学研究科 (M2)	オフィス・アシスタント	H20.1～H21.3
趙 蘭英	京都大学・再生医科学研究所 (D2)	オフィス・アシスタント	H21.4～H22.3
神田 紘子	京都大学・農学部 (B3)	オフィス・アシスタント	H21.9～H23.3
小林 恵	京都大学・工学部情報学科 (B2)	オフィス・アシスタント	H23.4～
長田 翔伍	京都大学・医学研究科・医学専攻 (D3)	リサーチ・アシスタント	H21.4～
千歳 裕之	京都大学・工学研究科・マイクロエンジニアリング専攻 (M2)	学生 (M2)	H20.7～H21.3
北沢 裕子	京都大学・工学研究科・マイクロエンジニアリング専攻 (M2)	学生 (M2)	H21.4～H23.3

## ②研究項目

- 1) 細胞間相互作用解析のための集積化マイクロ化学分析システムの開発
- 2) 細胞内物質導入・細胞質移植を通じた分化・増殖の誘導と制御
- 3) 臓器組織の人為的構築

## B. 再生・分化誘導グループ

### ① 研究参加者

氏名	所属	役職(身分)	参加時期
藤田 博之	東京大学・生産技術研究所・マイクロメカトロニクス国際研究センター	教授	H18.10～
鷺津 正夫	東京大学・工学系研究科・バイオエンジニアリング専攻	教授	H18.10～
小穴 英廣	東京大学・工学系研究科・機械工学専攻	准教授	H18.10～
ゲル ムラト	東京大学・工学系研究科・機械工学専攻	助教	H18.10～
竹内 昌治	東京大学・生産技術研究所・マイクロメカトロニクス国際研究センター	准教授	H18.10～H22.9
橋口 原	静岡大学・電子工学研究所	教授	H18.10～H22.3
細木 真保	静岡大学・電子工学研究所	助教	H20.4～

			H20.12
横川 隆司	立命館大学・理工学部・ 機械システム系・マイクロ機械 システム工学科	講師	H18.10～ H21.3
黒澤 修	東京大学・工学系研究科・ バイオエンジニアリング専攻	特任研究員	H22.1～
木村 祐史	東京大学・工学系研究科・ バイオエンジニアリング専攻	特任研究員	H19.4～ H23.3
森 泰啓	東京大学・工学系研究科・ バイオエンジニアリング専攻	特任研究員	H21.4～ H22.3
新田 英之	東京大学・生産技術研究所・ 藤田研究室	(D3)	H19.4～ H20.3
久米村 百子	東京大学・生産技術研究所・ 藤田研究室	特任研究員	H20.4～ H20.8
佐藤 美智代	東京大学・生産技術研究所・ 藤田研究室	学術支援専 門職員	H21.4～ H21.5
永井 萌土	東京大学・生産技術研究所・ 藤田研究室	特任研究員	H21.10～ H22.3
永井 萌土	豊橋技術科学大学 工学研究科機械工学系	助教	H22.3～
朴 珉昱	東京大学・生産技術研究所・ 藤田研究室	D2 (2009年10 月よりD2)	H21.7～ H23.9
朴 珉昱	東京大学・生産技術研究所・ 藤田研究室	特任研究員	H23.10～
Mehmet Cagatay Tarhan	東京大学・生産技術研究所・ 藤田研究室	特任研究員	H22.4～
興津 輝	東京大学・生産技術研究所・ 興津研究室	特任准教授	H23.4～
鈴木 祥平	東京大学・工学系研究科・ 機械工学専攻	M2	H21.4～ H23.3
真柴 直見	東京大学・工学系研究科・ バイオエンジニアリング専攻	M1	H22.4～
西垣内 康宏	東京大学・工学系研究科・ バイオエンジニアリング専攻	M1	H22.4～
森本 雄矢	東京大学・生産技術研究所・ 竹内研究室	M2	H20.4～ H22.3
安達 亜季	東京大学・生産技術研究所・ 竹内研究室	M2	H20.1～ H22.3
森 宣仁	東京大学・生産技術研究所・ 竹内研究室	M2	H20.1～ H22.3
石原 宏尚	東京大学・生産技術研究所・ 竹内研究室	M2	H20.1～ H22.3
手島 哲彦	東京大学・生産技術研究所・ 竹内研究室	M2	H21.4～ H22.9
下山 雄土	東京大学・生産技術研究所・	M2	H21.4～ H22.9

	竹内研究室		
外岡 大志	東京大学・生産技術研究所・ 竹内研究室	M2	H21.4～ H22.9
倉員 智瑛	東京大学・生産技術研究所・ 竹内研究室	M2	H21.4～ H22.9
杉本 晋介	東京大学・生産技術研究所・ 竹内研究室	M1	H22.4～ H22.9
堀 正峻	東京大学・生産技術研究所・ 竹内研究室	M1	H22.4～ H22.9
田中 理沙	東京大学・生産技術研究所・ 竹内研究室	M1	H22.4～ H22.9
平山 佳代子	東京大学・生産技術研究所・ 竹内研究室	D1	H22.4～ H22.9

②研究項目

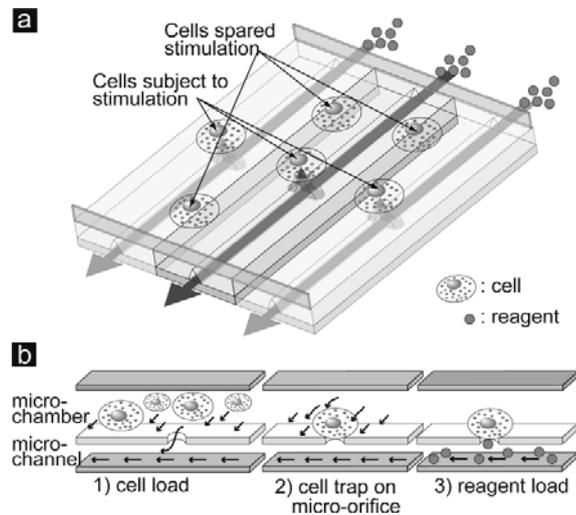
- 1) 細胞内物質導入・細胞質移植法の開発と細胞分化・増殖の誘導・制御
- 2) 半導体マイクロ・ナノ加工技術の細胞並列同時操作と分子計測への応用

## § 4 研究実施内容及び成果

### A. 細胞配列・相互作用計測グループ

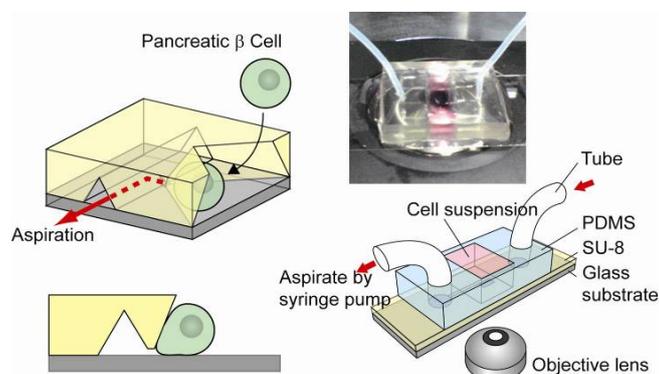
細胞配列・相互作用計測グループは、細胞の刺激応答・細胞間コミュニケーションなどの機構の解明の手法とそれに用いるナノ・マイクロデバイスの開発を行った。この目的のため、本グループは、下記のそれぞれの項目について研究を進めた。

**A-1) 細胞間相互作用解析(小此木・鈴木) :**細胞間コミュニケーション機構の解明をめざし、図A-1に示すように、開口部を持つ埋め込まれた流路を基板上に複数本作り、細胞を開口部に吸引固定し、特定の流路に刺激物質を流すことにより、その流路の開口部の上の細胞のみを刺激し、その時の各々の細胞の応答を計測するためのシステムの開発を行った。



図A-1 細胞間相互作用計測デバイスとその原理

**A-2) 細胞内局所刺激応答計測(寺尾) :**生体内の膵島は、血管に接した面でグルコースと液性細胞間伝達物質による刺激にさらされる。このような細胞表面に局在化した刺激に対する細胞内での応答を空間分解能を持って計測するシステムを確立するため、生体内の微小環境を模倣した局所刺激と細胞内応答解析デバイスの開発を行った。すなわち、図A-2に示すように、膵β細胞1個を流路側面に吸引固定し、流路から細胞側面の一部分にグルコース刺激を与えた時の細胞の応答を、インシュリン顆粒の運動や細胞内Ca<sup>2+</sup>イオン濃度分布などを指標として、時間・空間分解応答計測を行った。



図A-2 細胞内局所刺激応答計測デバイスとその原理

**A-3) 細胞内刺激応答解析のための可視インシュリン産生分泌MIN6-m9株の作成(多田・興津・寺尾):**A-2においてインシュリン顆粒の運動を可視化するため、遺伝子組み換えによりGFP融合インシュリンを産生・分泌するβ細胞株を確立した。

**A-4) オンチップ細胞培養法の開発(小此木・横川):**上記のような細胞応答・機能の経時解析をチップ内で行うためには、細胞の生理活性を損なわずに細胞機能を長期にわたり維持するような培養方法が必要になる。ここでは、チップへの細胞の導入機能と、培養液の循環によりチップ内に生着した細胞の培養環境の恒常性を保つ機能とを1つのポンプで兼ねることができる、溶液内の浮遊細胞を圧潰しない特殊なペリスタポンプ及びその周辺システムを開発した。

**A-5) MEMS技術を用いた細胞刺激・細胞内物質注入・細胞局所刺激・細胞手術デバイスの開発(橋口):**細胞表面の形状を計測し、その特定形状の部位を局所刺激する、あるいは特定部位からの分泌物を取得する(たとえばインシュリン顆粒は細胞表面のピットの底部から放出されるという報告がある)ことをねらいとし、AFMカンチレバーと一体化したナノピペッティングデバイスの開発を行った。

**A-6) 膵β細胞のモニタリングのためのMEMSセンサの開発(藤田・朴):**チップ内で、細胞周囲でのカルシウム・インシュリン濃度分布をリアルタイムで計測するために、カンチレバー振動型インシュリンセンサ、および電気化学的Ca<sup>2+</sup>イオンセンサアレイの開発を行った。

**A-7) 低自家蛍光の光硬化性樹脂の開発(小此木・圓尾):**マイクロ流路の構造構築に用いる光硬化性樹脂が細胞へダメージを及ぼすかどうかに関して検討するとともに、細胞の蛍光観察時に問題となる材料の自家蛍光が観察時の課題となる。そこで、用いる材料(光硬化性樹脂)の細胞への影響を検討するとともに、自家蛍光のほとんどない新たな樹脂の開発を行い、新たな材料の細胞への影響も検討を行った。

## 研究実施内容成果・今後の期待される効果

以下、上記の各項目の(1)研究実施内容および成果、(2)研究成果の今後期待される効果について述べる。

### A-1) 細胞間相互作用解析

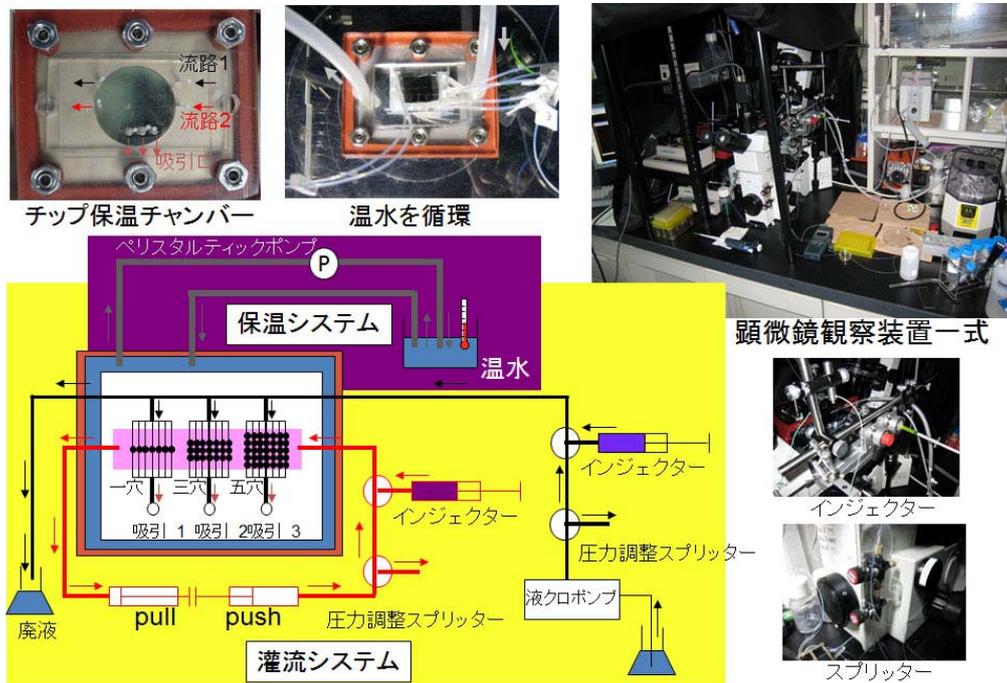
#### (1)研究実施内容および成果

細胞を用いた実験に使うチップは、コンタミネーションを防ぐために、使い捨てであることが望ましい。そこで、本研究では、少ない工程数で製作できる傾斜露光法によるチップ作製法、およびこれと送液系とを簡単に接続できるようなモジュール構造による恒温顕微鏡下観察システムの構築を行った。傾斜露光法は、使える材料がSU-8に限定されるので、作製したSU-8製チップの細胞毒性試験を、実験で用いる膵β細胞(MIN6-m9)を用いて行い、細胞が通常と変わらず付着進展することを確認した。

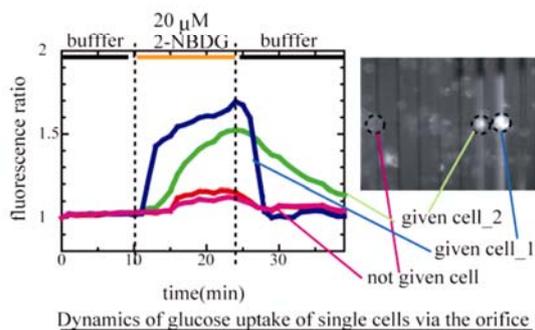
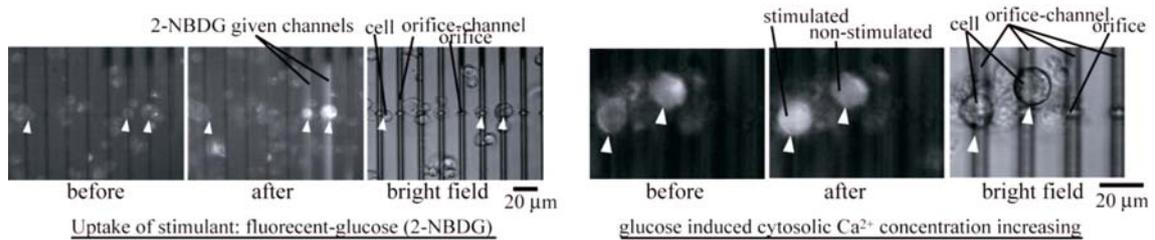
デバイス内で細胞を扱うためには、流路内の液を適切な圧で制御し細胞の位置制御をする必要があるが、従来の送液系は微小流路に低圧で流れる溶液の陽圧-陰圧の測定および制御が技術的に困難であるため、細胞に傷害を与えない適圧下での細胞操作ができなかった。本実験系では、柔軟なPDMS流路に圧力センサを貼り付けることで流路壁面にかかる圧力の増減から溶液の陽圧-陰圧の測定ができるようになった(図A-3)。その細胞に傷害を与えずに細胞を長時間にわたり基板上に把持できる特性により、以下に述べる薬剤刺激による細胞応答反応の経時変化を捕らえることに成功した。

実験に用いたデバイスは、図A-4,5の写真に示すように、独立に薬剤を供給できる複数本の流路(写真中で縦に走る)を持ち、各々の流路は、中央に開口を持つ。まず、この開口に細胞を吸引固定した細胞を選択的に刺激できることを確認するため、細胞内に取り込まれて発色する蛍光色素を、図A-4の写真に矢印で示した。刺激は右から2番目と3番目の流路のみに供給し、細胞の蛍光

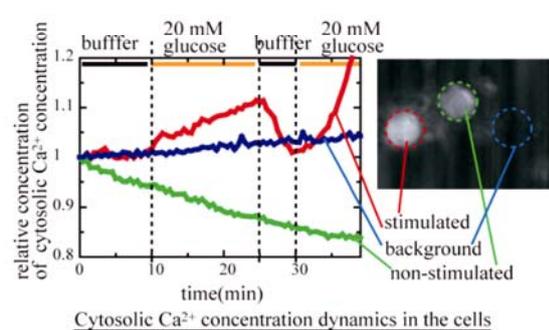
発光を計測した。その結果、図A-4の下の写真およびグラフに示すように、色素を供給した流路の開口部に固定された細胞にのみ蛍光が見られ、このデバイスにより細胞を選択的に刺激できることが確認された。



図A-3細胞間相互作用を計測するための実験装置および開発したデバイス



図A-4 デバイス上に固定された特定細胞刺激



図A-5 デバイス上膵β細胞のグルコース応答

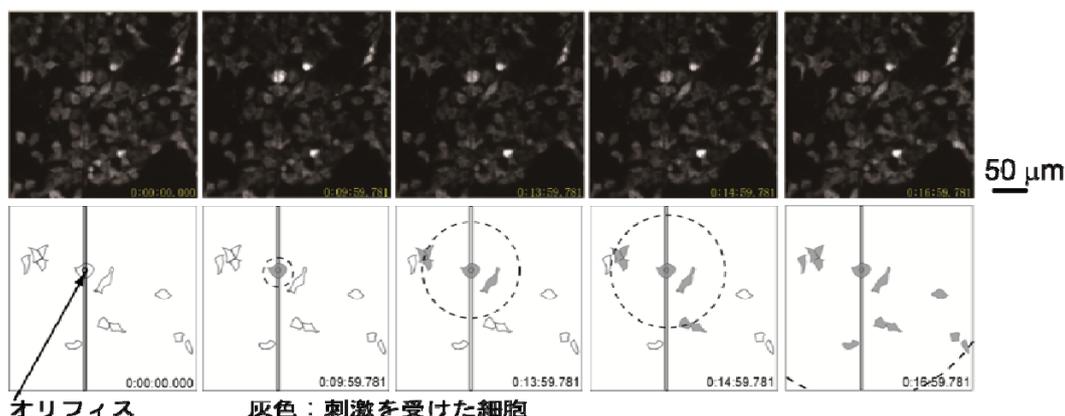
次に、このデバイスに膵β細胞を固定し、特定の細胞をグルコースで刺激した時にその細胞が応答するかを、細胞内Ca<sup>2+</sup>指示薬(Fluo-8)を用いてCa<sup>2+</sup>濃度を蛍光測定することにより確認した。その結果が図A-5で、図中一番左の流路のみにグルコースを流すと、この上の細胞のみの蛍光輝度が徐々に上がり、流路のグルコースを取り去ると輝度が下がるという現象がはっきりと観察された。

従って、このデバイスに固定された直後の膵β細胞は、グルコース応答機能を失っていないことが確認された。

しかし、本集積化デバイスを使用して、液性または接触性細胞間コミュニケーションの観察を行なったところ、微小流路内の培養液が培養皿のように静止した状態だと膵β細胞(MIN6-m9)周囲の養分が速やかに枯渇し8時間程度で細胞死が起り、生理活性を維持することが困難であることがわかった。細胞間コミュニケーションの観察において細胞が正常に成育し生理活性を維持していることが重要である。そこでA-4)で述べるように、微速(流速500nl/min)で吐水できるペリスタリックポンプを新たに作製し流路内の溶液を循環させる培養システムを用いたところ微小流路内でMIN6-m9細胞を正常に成育し生理活性を維持させることができた。

マイクロオリフィスに細胞を吸引・固定・培養し、マイクロ流路を用いて細胞を刺激し、細胞からの拡散および細胞を固定した流路における流れ場により生ずる細胞間相互作用の計測を行った。細胞にグルコース刺激およびインスリン刺激を与えることにより、細胞から放出されるインスリンにより刺激を受けていない他の細胞が反応するかを計測した。反応の計測には、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇とインスリン顆粒の分泌を指標にして蛍光顕微鏡観察を行った。目標とする膵島細胞1個のみにグルコース刺激を与えることが可能であるこのデバイスを用いて、刺激を与えた細胞から周囲の細胞へ刺激応答の反応(細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度上昇)の伝播が計測可能であることが実証された(図A-6)。この伝播は細胞同士の接触性の相互作用によるものと考えられる。

刺激を与えた細胞から周囲の細胞へ刺激応答の反応の伝播



図A-6 細胞間相互作用の計測: 蛍光輝度が上昇した応答細胞を灰色で示す。グルコース液に直接接触していない細胞で蛍光の上昇が観察されたことから細胞間相互作用による反応の伝播が生じたと考えられる。

## (2)研究成果の今後期待される効果

この計測系により細胞刺激および応答計測、さらに特定細胞を刺激したときの周囲の細胞の応答の計測が実証されたことから、細胞間相互作用の計測のプラットフォーム技術として今後展開できる可能性が示された。また本研究で開発した細胞培養に適した微小流路の流体制御の要素技術は様々なバイオ計測分野において有効な技術であり、製品化へ向けた研究へつながることが期待される。

## A-2) 細胞内局所刺激応答計測

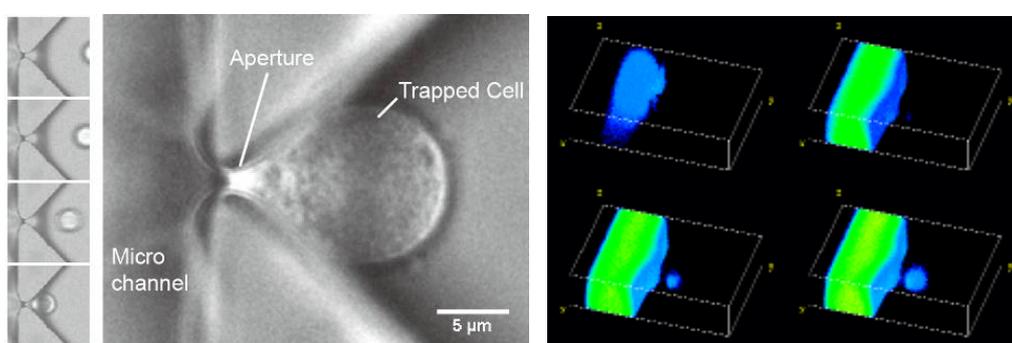
### (1)研究実施内容および成果

細胞を局所的に刺激した時の細胞内応答の伝播を観察するためには、顕微鏡下で観察している細胞の側面から刺激を与える必要がある。そこで、まず、図A-2のような側面に開口を持つ埋め込まれた流路を、傾斜露光法を用いて基板上に一括形成するプロセスの開発を行った。次に、作

製のデバイスを、4次元観察(空間3次元+時間)を可能にする高速スキャン共焦点顕微鏡上に配置し、シリンジポンプによる送液コントロールを利用して、細胞の吸引固定と局所刺激を試みた。

まず、このデバイスにおいて、細胞の局所刺激が正しく行われるかを評価するため、流路に蛍光グルコースを導入して、その時の細胞内蛍光強度の変化を観察した。その結果が図A-7である。右図は、共焦点顕微鏡により得られた各焦点面の蛍光画像を立体構築し、それをさらに時間経過毎に並べたものである。この図は、マイクロ流路内の蛍光グルコースが、細胞の一端から取り込まれ、かつそれが徐々に細胞内に拡散していく様子を示している。

しかし、図A-7のデバイスは、その形状が平面から構成されているため、細胞を吸引固定した時に角に隙間が残り、刺激物質のリークが避けられない。リークが生じると、細胞の狙いの部位以外にも刺激が与えられてしまうことになる。また、製造過程そのものも比較的複雑で、製造の歩留まりもあまり高くない。一方、B-2-2)に後述する自己形成メニスカスを用いた3次元オリフィスの作製法によれば、原理的に真円度の高いオリフィスが得られる。そこで、以降このオリフィスを用いて、計測を行った。



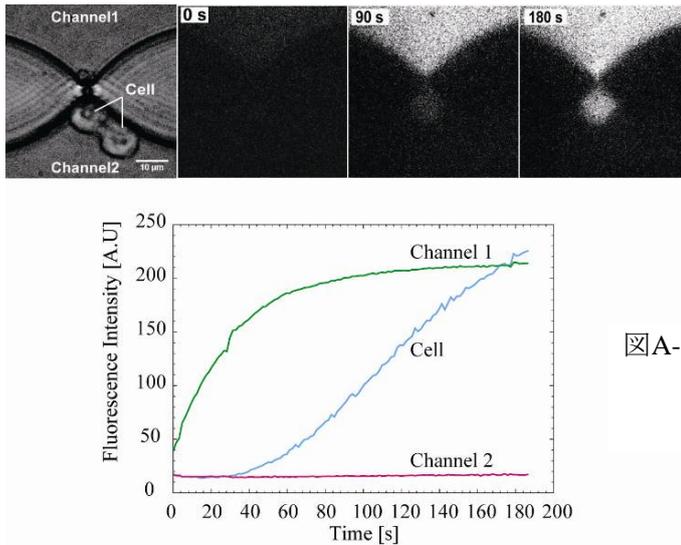
図A-7 細胞内へのグルコース取込の4次元観察  
左:吸引固定された細胞の光学像 右:蛍光グルコース取込の計測結果(10sec/frame)

まず、細胞膜透過性蛍光試薬(Calcein-AM Red Orange)の細胞内への導入を行い、細胞の吸引固定及び細胞への物質導入が可能であることを確認した。図A-8は、図中で上側の流路に導入した蛍光試薬が、吸引固定された細胞内に徐々に拡散していく様子を示している。図中のグラフは上下流路(緑、赤)の蛍光輝度と細胞内(青)の蛍光輝度の経時変化を示したものである。この作製法によれば、リークの少ない、的確な局所刺激ができるものと期待される。

次に、局所刺激デバイスを実際の刺激実験に用いるため、デバイス内での細胞培養を検討し、さらにA-3)で確立したインシュリン-GFP安定発現株を用いてグルコース局所刺激に対する細胞内応答についてデータを取得した。具体的には、流路内の圧力調節が容易なデバイスを設計し、PDMS(ポリジメチルシロキサン)により製作し、A-4)で得られた知見を生かし、流路内での隣細胞の安定培養を実現した(図A-9)。本デバイスを用いて、局所グルコース刺激に対する細胞内インスリン総量の変化をモニタする実験を行い、表面積比10%程度の局所刺激であっても表面全体刺激と同等のインスリン量変化応答を示すという新たな知見が得られた(図A-10)。本デバイスにより生体内環境を模倣した一個の細胞の局所への薬剤刺激が可能であることを実証した。

## (2)研究成果の今後期待される効果

本デバイスによる局所刺激に対する細胞内応答の解析を進めることで、生体内の細胞応答に関する生物学的な発見に繋がることが期待され、刺激時間・溶液環境に対する細胞内応答の変化や、細胞内シグナル局在化や伝搬などの極性形成に関する知見が得られると考えられる。それらは膵臓等の臓器人工組み立てに新たな設計指針を与え、再生医療分野に貢献することが期待される。



図A-8 自己形成メニスカスデバイスによる細胞吸引固定と細胞内への物質取り込み

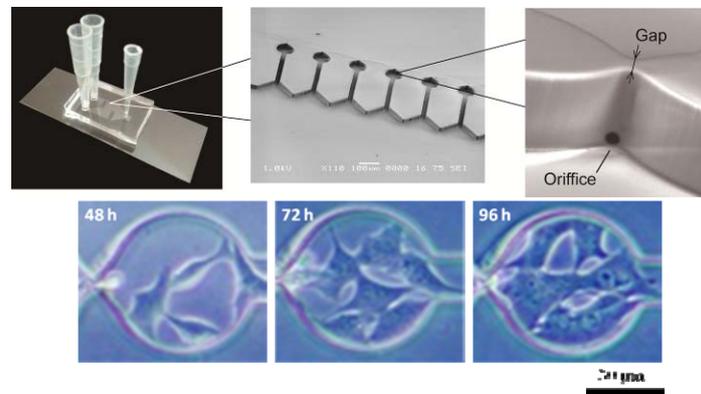


図 A-9 局所刺激応答計測デバイスと細胞培養結果. 上: デバイス外観及び流路 SEM 像、下: 膵β細胞培養結果(96 時間)

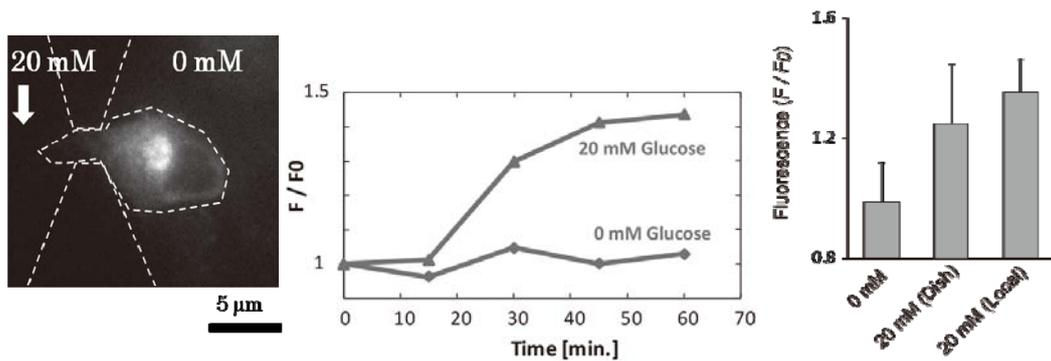
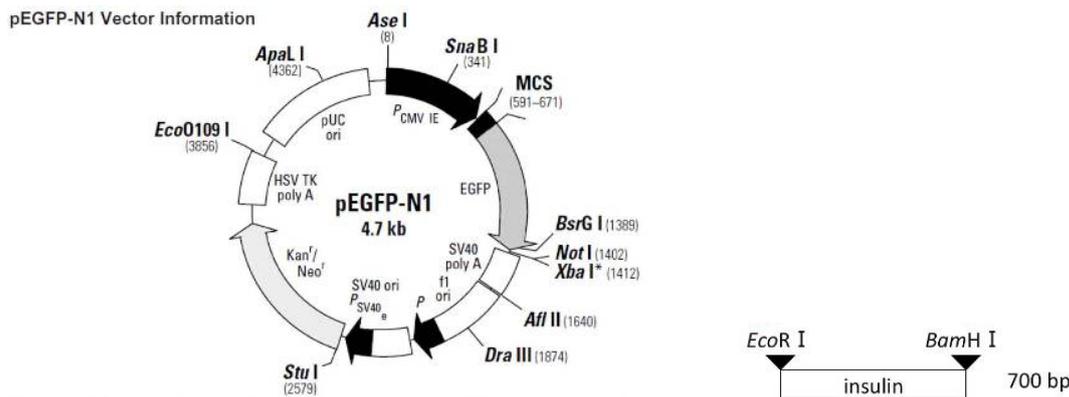


図 A-10 グルコース局所刺激に対する細胞内インスリン量変化. 左: インスリン GFP 蛍光像. 膵β細胞の一部が 20mM グルコースで刺激される. 中: グルコース局所刺激後の細胞内インスリン量時間経過. 右: 刺激前後の細胞内インスリンの変化量の比較 (0 mM: 刺激なし、20 mM Dish: ディッシュ内の細胞全面への刺激、20 mM Local: 本デバイスを使った局所刺激)

### A-3) 細胞内刺激応答解析のための可視インシュリン産生分泌MIN6-m9株の作成

#### (1) 研究実施内容および成果

グルコース刺激に対する応答である細胞内でのインシュリン分泌顆粒の動態をデバイス中で効率的に計測することを可能とするために、GFP-インシュリン融合タンパクを産生するMIN6細胞株(膵β細胞)の樹立を行った。まず、GFP-インシュリンをコードするプラスミド(図A-11)をMIN6-m9にリポフェクションにより導入、ネオマイシンによるセレクションを行った後、限外希釈法によりGFP-インシュリンを発現する6クローン(C1-C6)を単離した(図A-12)。実験に有用と考えられる細胞株をGFP-インシュリン発現量とグルコース刺激に対するGFP-insulin放出量からC4を選択した。



図A-11 GFP-インシュリン プラスミド

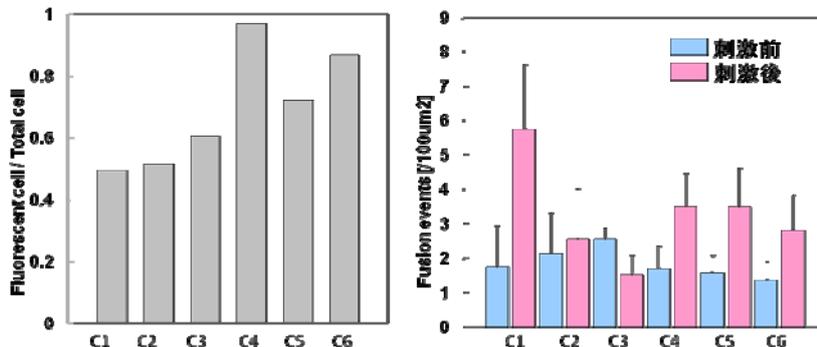


図 A-12 MIN6-m9 Ins-GFP クローン(C1-C6)機能評価,  
左図:GFP 発現細胞数の比較、右図:グルコース刺激前後の分泌放出回数の比較

図A-13は、共焦点顕微鏡により一細胞内のインシュリンGFPの蛍光像を取得し3次元構築したものである。ここでは、インシュリン分泌顆粒の発する複数の輝点がブラウン運動をしているのを観察することができた。このようなインシュリン分泌顆粒の一つ一つを全反射顕微鏡により観察したものが図A-14で、細胞膜に結合した分泌顆粒からインシュリンGFPが放出されて細胞外に拡散する様子、および文献で報告されている2種類の分泌過程 (Resident, Newcomer) を観察することができ、また、グルコース刺激により分泌現象の頻度が上昇することが確認された。これらの結果から、この細胞株はグルコース応答・インシュリン放出能を有していること、および分泌顆粒の可視化できることが確認された。

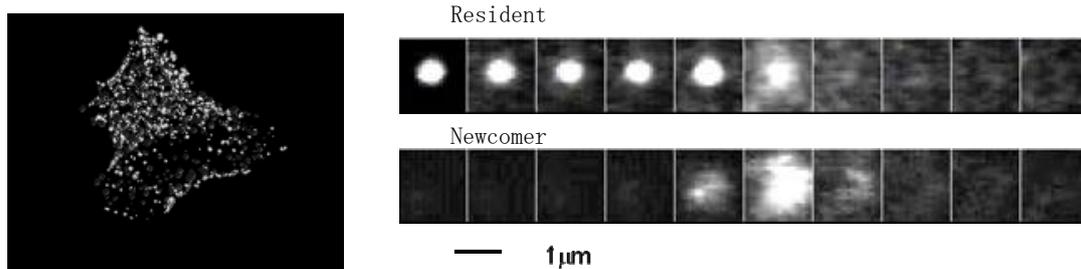


図 A-13 インシュリン顆粒 図 A-14 インシュリン顆粒からのインシュリン放出の観察

(2)研究成果の今後期待される効果

この株は分泌顆粒を計測する実験系として非常に有用であり、様々な膵β細胞の機能解析実験に利用することができる。これまで分泌顆粒を効率的に直接可視化できる実験系は存在しなかったことから、特に基礎研究において強力なツールになると期待される。

**A-4) オンチップ細胞培養法の開発:**

(1)研究実施内容および成果

1週間以上の長期間培養を可能にするためには、培養液内に含まれる重曹からの気泡発生を抑えつつ、培養液を制御された流速で環流する必要がある。このために、多段化遊星ギアを用い、加圧環境(0.35気圧加圧)下でゆるやかな一定流が作り出せる実験装置(図A-15)を開発した。また、これを用いて、低流速(すなわち細胞にかかる剪断応力が低い条件)で流路内で細胞の培養を行い、様々な細胞外基質上での接着伸展を観察した。実験結果を図A-16に示す。

膵β細胞株(MIN6-m9細胞)を流路内に播種して様々な流速により環流培養した結果、

- 1) 流れ依存的な細胞の伸展(図A-16 a,b)、
- 2) 長期間(10日間)長期間培養(図A-16 c)を可能にするとともに、3) 細胞接着が困難な条件(non-coatやコラーゲンI)下でも、流れ場により細胞接着を促進できる条件があることを見いだした(図A-16 d)。このような流れ依存的なMIN6-m9細胞の性質の変化は微小流路内でしか見られず、このことは非常に微弱な流れが細胞機能に影響を及ぼすことを示唆する。

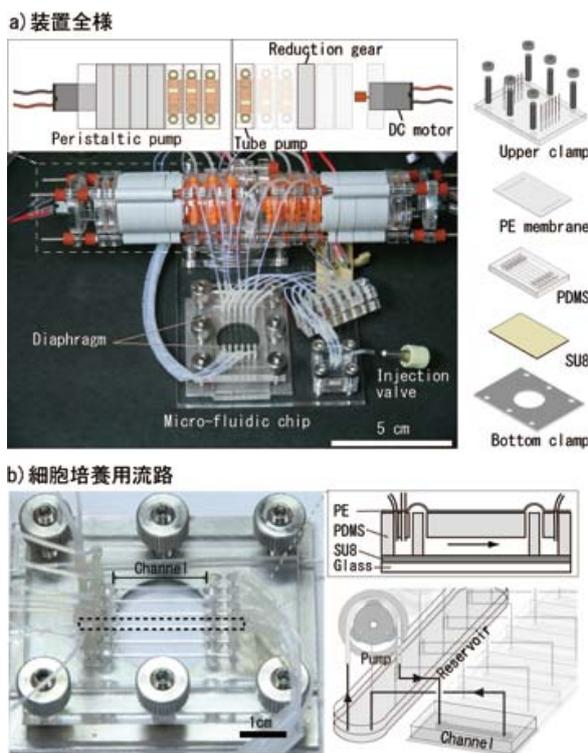


図 A-15 オンチップ細胞培養装置

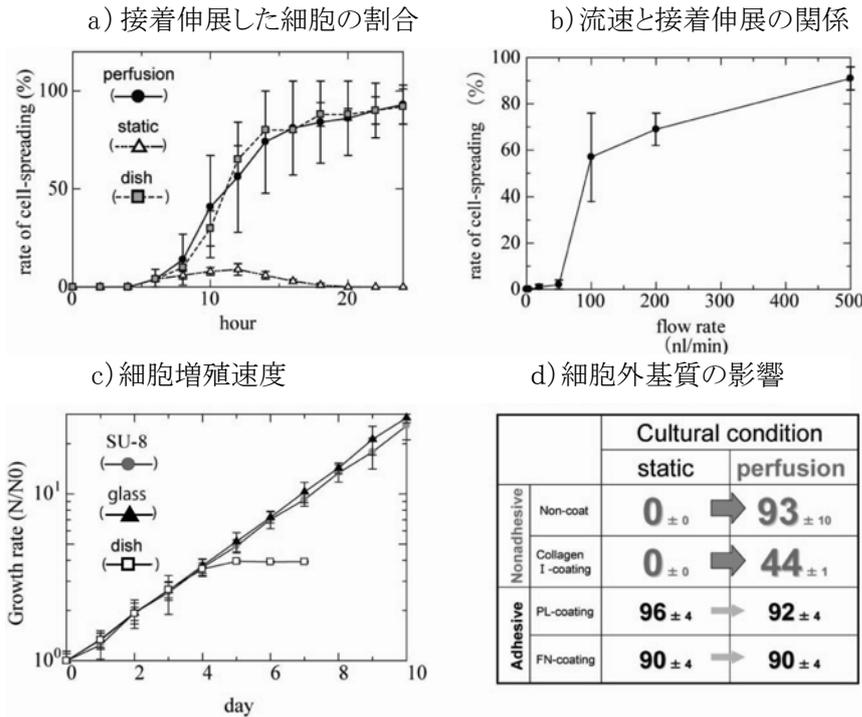


図 A-16 MIN6-m9 の流路内培養

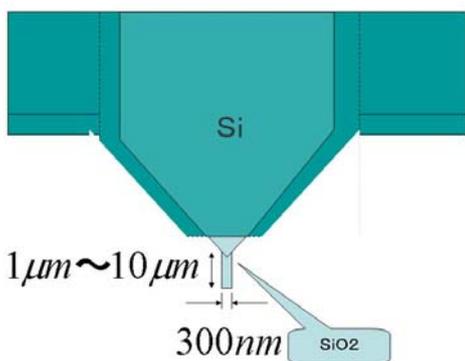
(2)研究成果の今後期待される効果

ここで開発した装置は、チップ内で、一定速度で培養液を環流しつつ、1週間以上の長期間にわたり、安定に細胞を培養できるもので、チップ内の個々の細胞の経時観察が可能になった。

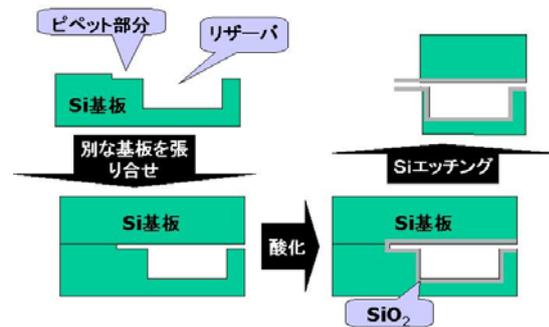
A-5) MEMS技術を用いた細胞刺激・細胞内物質注入・細胞局所刺激・細胞手術デバイスの開発

(1)研究実施内容および成果

細胞の表面形状を観察しながら薬剤刺激・分泌物取得を行うAFM一体型ディスペンサーを、図A-17のような先端形状を目標として作製するため、図A-18のようなプロセスを開発した。このプロセスは、Si基板の反応性エッチング加工・表面酸化・Siエッチングにより、ディスペンサーの中空構造をシリコン酸化膜で作製し、先端をFIBで開口するというものである。



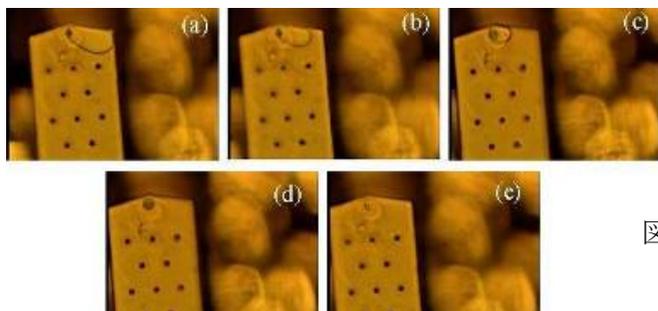
図A-17 AFM一体型ディスペンサー先端形状



図A-18 製作プロセス

一般に、このディスペンサーのように微小で細長い構造は、流体コンダクタンスが極めて小さく、溶液で満たすのは困難である可能性がある。図A-19は、上記プロセスで作製した、先端にディスペンシング用の開口を持つ中空AFMカンチレバーの根本から液体(水)を入れたときの様子で、水が満ちてくるに従い、開口先端にあった気泡が次第に小さくなり(図a→c)、図eにおいては、先端から水が滲出しているのが見られる。なお、写真でカンチレバー表面に見える周期的な黒点は、

構造の強度を保つための支柱で、開口ではない。AFM一体型ディスペンサーの製作技術が確立されたが、期間内で本プロジェクトの要求する実時間での薬剤刺激・分泌物取得を行うだけの流体コンダクタンスは得られていない。なお、本項目は、平成21年度以降、次のA-6)のサブテーマとしての扱いとした。



図A-19 AFM一体型ディスペンサーからの液体吐出

## (2)研究成果の今後期待される効果

AFM一体型ディスペンサーは今後、流体吐出能の改善、AFMイメージングの実証の後、細胞計測を目的とした実験機器として利用できる可能性がある。

## A-6) 膵β細胞のモニタリングのためのMEMSセンサの開発

### (1)研究実施内容および成果

膵島細胞が出すインシュリンをチップ内で測定するためのカンチレバー振動型インシュリンセンサと、インシュリン放出にともなう細胞周囲のイオン濃度の分布の変化をチップ内で計測するための電気化学的イオンセンサアレイの開発を行った。

#### Ca<sup>2+</sup>電気化学センサ

膵β細胞は、インシュリンを分泌する際に、カルシウムイオンを細胞膜内へ取り込み、インシュリンを放出する。そこで、電気化学的イオンセンサに関しては、まず、インシュリン放出に伴うCa<sup>2+</sup>濃度の分布の変化をチップ内で計測するためのセンサアレイの開発を行い、Ca<sup>2+</sup>濃度1nMまでの検出能があることを示した。(図A-20(e))

Ca<sup>2+</sup>センサを集積化したマイクロ流路内に膵β細胞(Min-6)を培養し、刺激に対する細胞の反応を測定した。23μm\*23μmサイズのプラチナ電極にイオン選択膜を付けて、Ca<sup>2+</sup>のみを選択的に検出するセンサを製作し、マイクロ流路内に配置した(図A-20(a-d))。150個/1μl濃度の細胞をマイクロ流路内に入れて、シリンジポップで培養液を流しながら1.5日間インキュベータ内にて細胞培養した。それから、細胞刺激用の20mMのKClをマイクロ流路内に注入し、刺激による細胞外のCa<sup>2+</sup>濃度変化をイオンセンサと蛍光顕微鏡で同時に測定した(図A-21)。細胞刺激液をマイクロ流路に導入した時、Ca<sup>2+</sup>イオン濃度は約40秒の周期で振動した(図A-21(a, a-1))。さらに、蛍光顕微鏡で測った細胞内のCa<sup>2+</sup>イオン濃度の変化も同じ周期の振動が見られた(図A-22(b, b-1))。この結果、マイクロ流路内で培養した細胞群の刺激に対する応答を、流路内に集積化したセンサで測定できる可能性が示された。

#### カンチレバー振動型インスリンセンサ

カンチレバー共振子の液体粘性抵抗を減らすため、空気と液体の界面で振動するカンチレバーを用いたセンサを考案した(図A-22(a-b))。しかし、カンチレバーは上面だけ水圧を受ける構造であるため、マイクロ流路内の液体圧によって共振周波数が変わることがあった。それで、押し/引きタイプのシリンジポンプを用いて、共振周波数を安定化した(図A-22(c))。バイオ実験にはカンチレバーの表面をインスリン抗体で修飾し、インスリン結合による共振周波数を測定した。0.4, 2, 6.3ng/mlのインスリンをマイクロカンチレバーを形成した流路に加え、インスリン抗体の結合による共振周波数の変化を測定した。異なるインスリン濃度の溶液に対して、最終的に得られた共振周波数の変化は約2kHzだった。即ち、センサ上の抗体がインスリンと結合して飽和状態に達したと解釈できる。一方、反応速度に着目すると、これはインスリン濃度によって変化があった。(図

A-23)。濃度が濃いほどセンサの反応は早く、低濃度の場合は反応速度が遅くなった。すなわち、共振周波数の変化する速度を用いて、インスリンの濃度を測定する可能性が示された。

(2)研究成果の今後期待される効果

気液界面で振動するマイクロ流路組込型カンチレバーバイオセンサに関しては、センサとして選択性と安定性のさらなる確認、測定 の手順確立、装置化などのステップを経た後で、科学測定機器メーカー、医薬品 メーカー、医療機器メーカーなどで製品化研究につながる可能性がある。

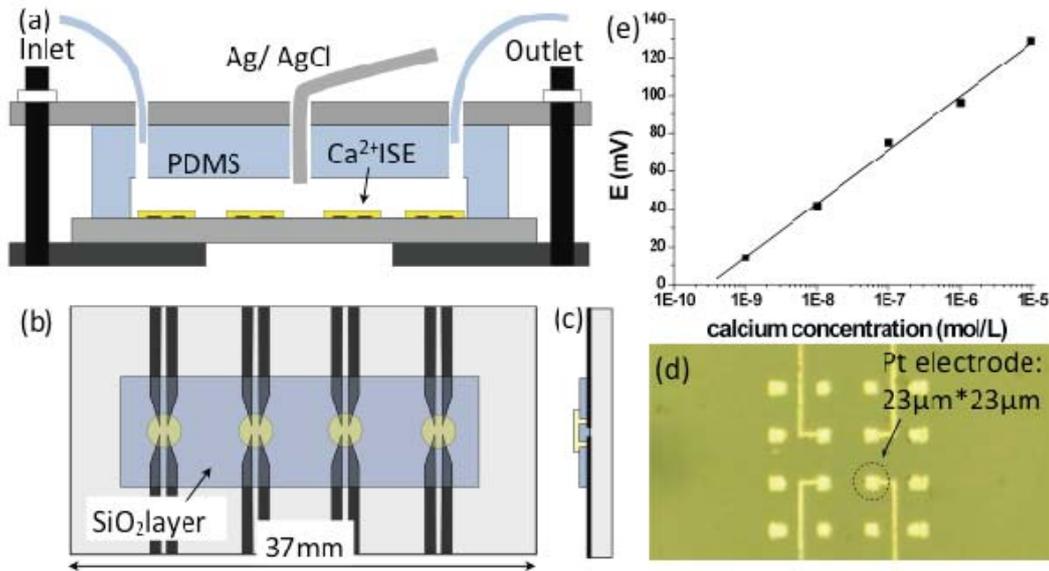


図 A-20 Ca<sup>2+</sup>センサーの構造、起電力測定方法:(a)イオンセンサーとマイクロ流路の横断面図, (b)イオンセンサーの縦断面図, (c)イオンセンサー, (d)イオン選択膜・電極の顕微鏡像

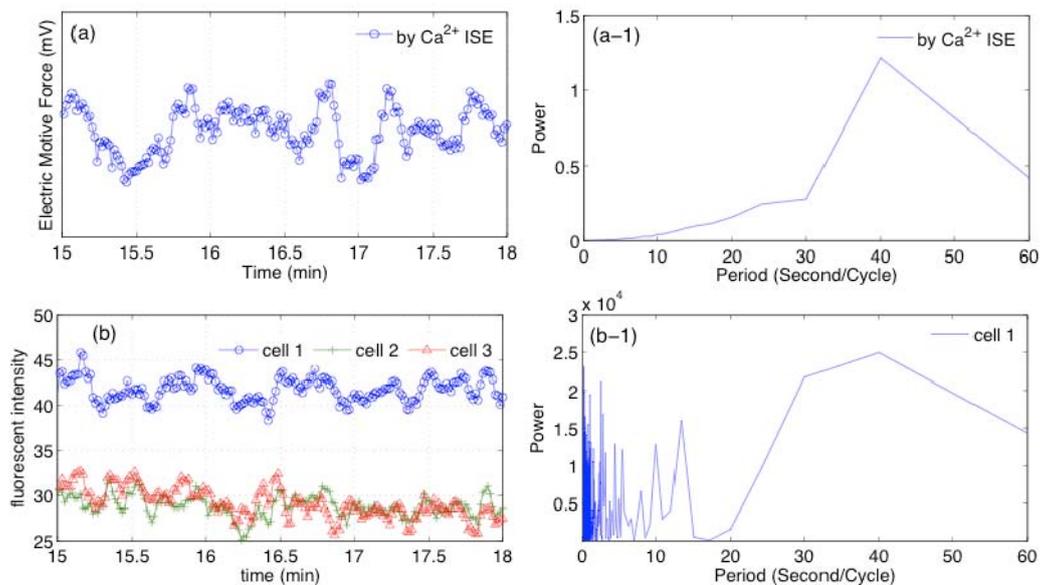


図 A-21 細胞刺激によるカルシウムイオン(縦軸)の変化: (a)Ca<sup>2+</sup>イオンセンサーで測定した結果, (b)蛍光顕微鏡で観察した結果, (a-1, b-1)周波数分析結果

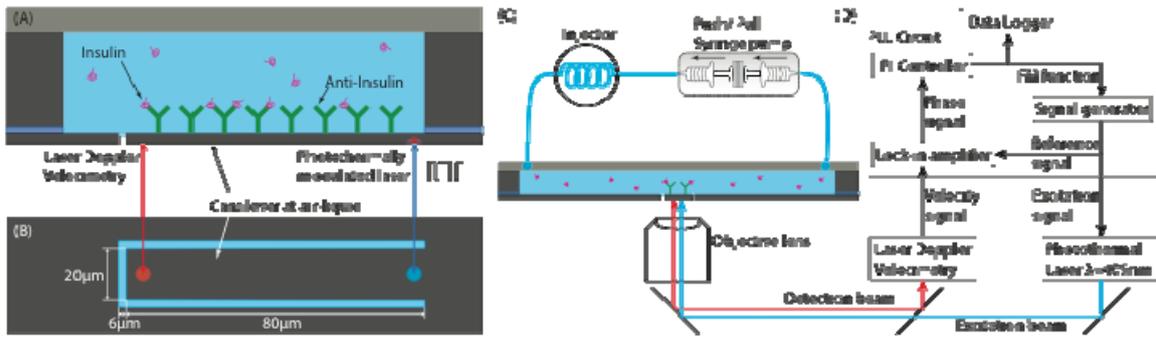


図 A-22 カンチレバー共振型インスリンセンサ(気液界面で振動) (a, b),引き押しタイプのシリンジポップを利用する実験装置、(d)カンチレバーの共振周波数を実時間で測定する閉ループシステム。

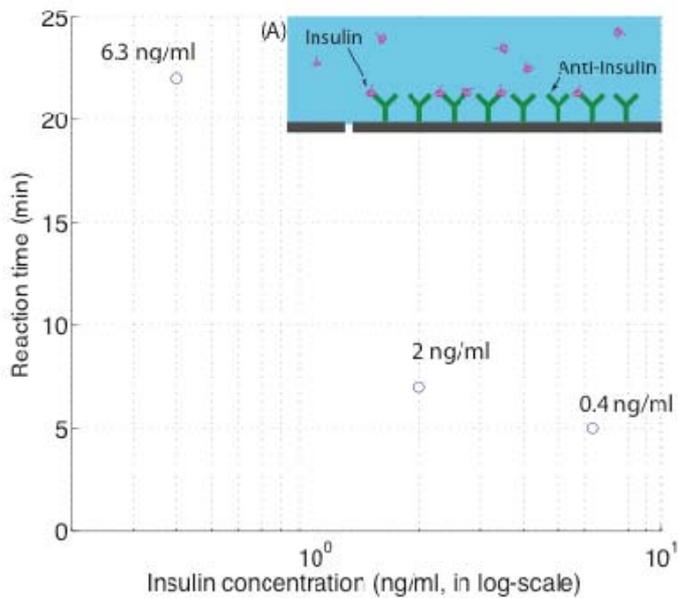


図 A-23 インスリン検出結果:0.4, 2, 6.3ng/mlのインスリン液による反応速度の変化

#### A-7) 低自家蛍光の光硬化性樹脂の開発(小此木):

##### (1) 研究実施内容および成果

ダイセル(株)と共同で自家蛍光が少なく、細胞培養が可能な生体適合性をもつ光硬化性樹脂(SJI001-CPI100P)を開発した。細胞核標識に広く用いられる蛍光試薬(DAPI)の吸収波長が358nm付近の光波長: 365nmで基板を励起した時の自家蛍光を反射法で測定した。開発した樹脂は、紫外線照射時の蛍光強度の減少し(図 A-24a)。また DAPI 染色した HeLa 細胞を蛍光観察したところ SU8 に比べ SJI001-CPI100P はバックグラウンドが十分に低いことが見られた(図 A-24b)。また、細胞への毒性のないことも確認した。

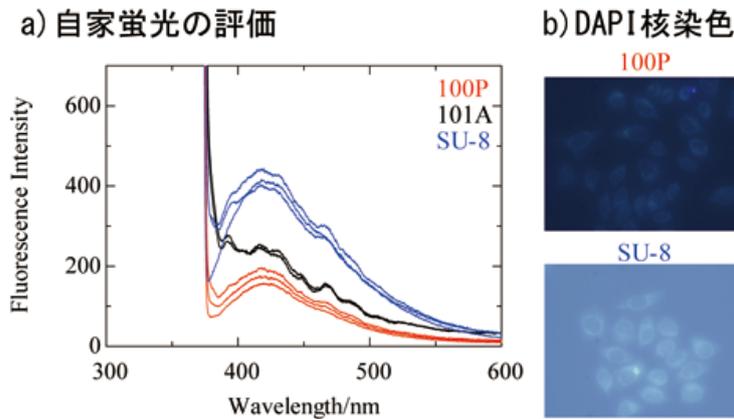


図 A-24 自家蛍光の評価

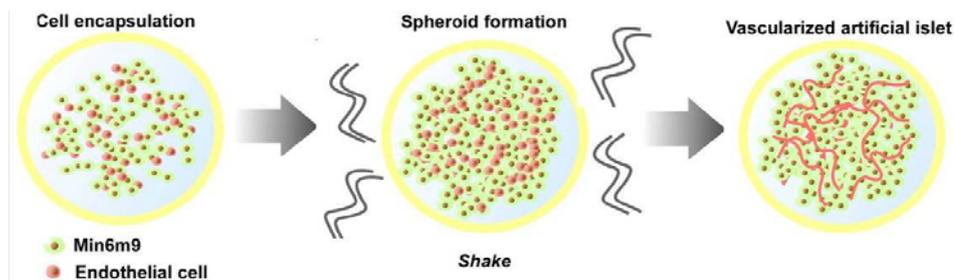
(2)研究成果の今後期待される効果

新規に開発したベンゼンやアンチモンを含まない光硬化性樹脂 SJI001-CPI100P は、  
 ①自家蛍光の低減 ②細胞の培養を実現でき、バイオマイクロデバイス作製用感光性樹脂として広く用いられることが期待される。

**B. 再生・分化誘導グループ**

再生・分化誘導グループは、細胞・細胞集合体・組織・臓器の人為的構築のための手法とそれに用いるナノ・マイクロデバイスの開発を行った。この目的のため、本グループは、下記の 2 つのアプローチを並行して、それぞれの項目について研究を行った。

**B-1) 臓器組織の人為的構築(竹内・三浦・鈴木・小寺・岩田):**既存の細胞を用い、ナノ・マイクロデバイス内での人為的/自発的集合を利用して細胞集合体を構築するための技術開発を行った。



図B-1 ハイドロゲルカプセル内での細胞の三次元培養と血管細胞の形成

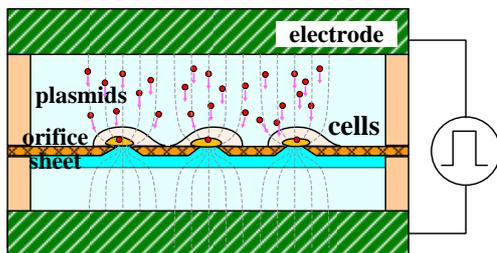
**B-1-1) 光造形法細胞を用いた内包ヒドロゲルカプセル・ファイバーの作製・細胞の三次元培養の実現・細胞集合体内への毛細血管の形成:**組織の人為的構築のためには、細胞の正確かつ生産性の高い3次元配置法、およびカプセルング技術の開発をする必要がある。この際、組織の増大に伴って、内部に養分が行き渡らず、細胞が壊死してしまう問題があり、いかに組織内部へ養分を供給し続けられる機構を作るかが課題となる。そこで、ここでは、膵β細胞と血管表皮細胞をヒドロゲル内にカプセルングあるいはファイバー化し、細胞に足場を与えた状態で浮遊化培養し、膵β細胞のスフェロイド形成をエンハンスするとともに、その中への毛細血管の自己形成を試みた(図B-1)

**B-1-2)** マイクロデバイス上での毛細血管の自己集合的形成と人工流路への接続: 上記の項目によって人為的に形成された細胞/毛細血管集合体に血流を供給するためには、外部の血管系と細胞集合体の毛細血管を接合する必要がある。ここでは、平面上のマイクロ流路に血管誘導因子を人為的に配置し、そこへと血管上皮細胞を誘導することにより、マイクロ流路と誘導された血管を接続する手法を開発することを目標とした。

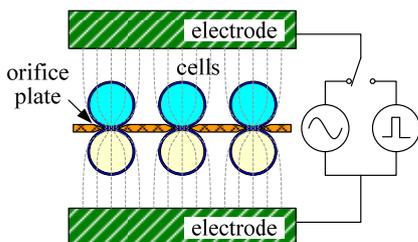
**B-1-3)** 細胞の接着による組立法の開発: たとえばマウスの膵島細胞では  $\alpha$  細胞と  $\beta$  細胞が層状に配置されている。このような、複数の細胞種からなる集合体の特定細胞の位置を指定した組み立てを実現するため、DNAの相補的塩基の特異的結合を利用した手法の開発を行った。

**B-2)** 細胞内物質導入・細胞質移植を通じた分化・増殖の誘導と制御(木村・ムラト・小穴・鷺津・岩田・多田・小寺): ナノ・マイクロデバイスを用いた高収率低侵襲な物質導入・細胞融合法を開発し、集合体の構築に用いる細胞そのものを初期化・分化誘導によって作製するための技術開発を行った。

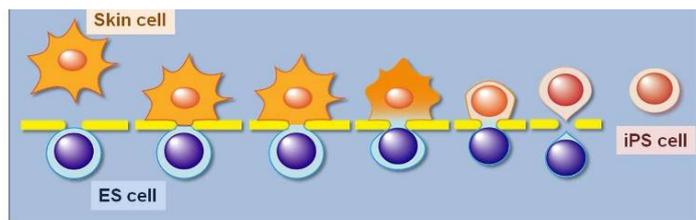
**B-2-1)** オンチップエレクトロポレーションによる細胞内物質導入: たとえばiPS細胞などの細胞の初期化と初期化された細胞からの分化誘導には細胞内への遺伝子を初めとする外来物質の、高収率で低侵襲な導入が必要になる。また、このようにして作られた細胞はすべてが完全に同一ではないヘテロ細胞群であるので、その1個1個をトレースして評価することが必要になる。このような目的のために、マイクロオリフィスの電界集中を用いたオンチップエレクトロポレーション(図B-2)の手法と、大量並列化、その侵襲性の評価などを行った。



図B-2 オンチップエレクトロポレーション法



図B-3 オンチップ細胞融合法



図B-4 細胞融合を利用した細胞質移植

**B-2-2)** オンチップ細胞融合法と細胞質移植: 細胞の初期化や分化にかかわる因子は、既知とは限らない。そもそもiPS細胞も、本プロジェクトメンバーである多田らの、体細胞とES細胞を融合すると体細胞が初期化されるという発見から、その因子の探索により得られた結果である。ここでは、特定の細胞の持つ因子を多細胞に移植する技術としての細胞融合とその応用の開発を行った。図B-3は電界集中を利用した細胞融合法の原理で、オリフィス上下に配置された細胞の接触点に制御された電圧を印加できるため、高収率で必ず1:1の融合が実現できる。この手法を用いて、たとえばiPS細胞とES細胞を融合させ、一方から吸引すれば、ES細胞の持つ初期化因子を体細胞へと移植、体細胞の初期化を行うことが可能になるかもしれない(図B-4)。このような手法は、融合段階が高収率であって初めて成立する。ここでは、特

にES細胞を対象とする細胞融合技術の確立と、融合後過程の解明をめざすとともに、大量並列化を試みた。

### 研究実施内容成果・今後の期待される効果

以下、上記の各項目の実施内容・結果、今後の波及効果について述べる。

#### B-1-1) 光造形法を用いた細胞内包ハイドロゲルカプセル・ファイバーの作製・細胞の三次元培養の実現・細胞集合体内への毛細血管の形成

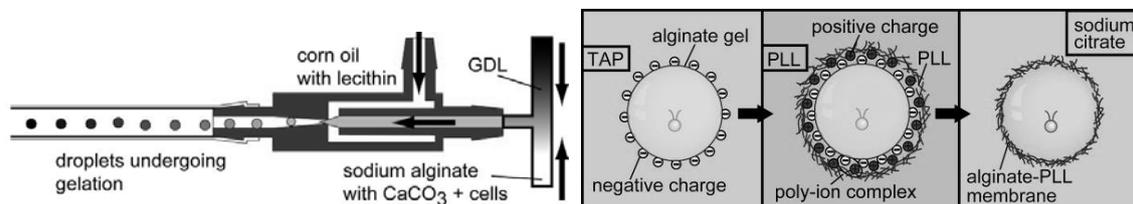
##### (1) 研究実施内容および成果

細胞を閉じ込めたカプセルを作製するため、次の2段階のステップからなる手法を開発した。

まず、光造形法を用いて、図B-5に示すような同軸型3次元マイクロ流路を一体成形した。ここに、図中右端上よりグルコノ-1,5-ラクトン(GDL)溶液、右端下よりアルギン酸と炭酸カルシウムのナノ粒子と細胞の混合溶液を導入し、中央部で混合してデバイスの内筒に導入するとともに、外筒にはオイルを流し、その合流点において水溶液が一樣な粒径の液滴に分裂することを利用して、一樣粒径で細胞を含有するハイドロゲルカプセルを作製した。なお、アルギン酸を利用した理由は、人工いくらなどの食品にも利用できるため生体適法性が良いからで、かつ、GDLを用いることにより、従来使われている酢酸を使用する方法に比べ細胞の生存率を向上させることに成功した。

次に、この細胞含有アルギン酸ゲルにポリリジン(PLL)を混合すると、アルギン酸は負電荷、PLLは正電荷を持っているので、アルギン酸ゲルの表面に自己組織的にPLL膜が構成された。アルギン酸ゲルをゾル化することで、中が空洞の細胞入りPLL膜カプセルを均一径で形成することができた(図B-6)。PLLは養分など小さな物は通すが、細胞など大きな物は通さない性質を持っているので、カプセル内に細胞を孤立させた状態で長期培養が可能である。

これらのカプセルの機能を示すため、マイクロ流路デバイスでの配列、内包された細胞の運動性の確認、細胞の培養を行った。実験の結果、これらのカプセルが均一かつマイクロ流路中での操作によって破壊されないこと、カプセル内の微生物の運動が制限されないことが示された。また、このカプセル内に接着性の膵β細胞(MIN6)を閉じ込めることにも成功した。



図B-5細胞のアルギン酸ゲルへのカプセル化 図B-6 PLL膜による細胞のカプセル化形成方法

インスリン依存状態糖尿病に対して、血糖に応じてインスリンを分泌する細胞を生体に移植することで血糖の安定化を期待できることが既に知られているが、その際に移植細胞への生体の免疫反応を制御する必要があり、移植細胞をハイドロゲルで被覆する方法が提案されている。

既存の方法ではマイクロカプセルあるいはマクロシートで被覆することが試みられているが、前者は体内での固定が困難であること、後者は移植の際の侵襲が高くなることとその欠点として認識されている。そこで、体内への埋め込みの際に侵襲を低くし、かつ移植後も位置が同定可能であるという条件を満たすため、マイクロファイバー状の形態とすることとした(図 B-7)。

血糖応答性にインスリンを分泌する細胞株である MIN6 細胞をコアに含み、アルギン酸をシェルとするコア・シェル型のファイバーを作製した(図 B-8)。In vitro において、マイクロファイバー作製後も十分な細胞生存率があり、インスリン分泌機能が保持されていることを確かめた(図 B-9)。それを streptozocin (STZ) にて糖尿病としたマウスの腎被膜下に埋め込んだ(図 B-10)。

移植前後の STZ 誘導糖尿病マウスの血糖値を観察することによって、埋め込んだマイクロファイバーが in vivo においても血糖制御機能をもつことが明らかとなった。また、埋め込んだファイバーを除去した後に血糖が上昇することを確認することで血糖制御が埋め込んだファイバーによって可能となっていたことを確かめることができた(図 B-11)。糖尿病を対象とした細胞移植医療のためのツールのひとつとしてマイクロファイバー状の形態に細胞を被覆する技術が有用である可能性を示

すことができました。

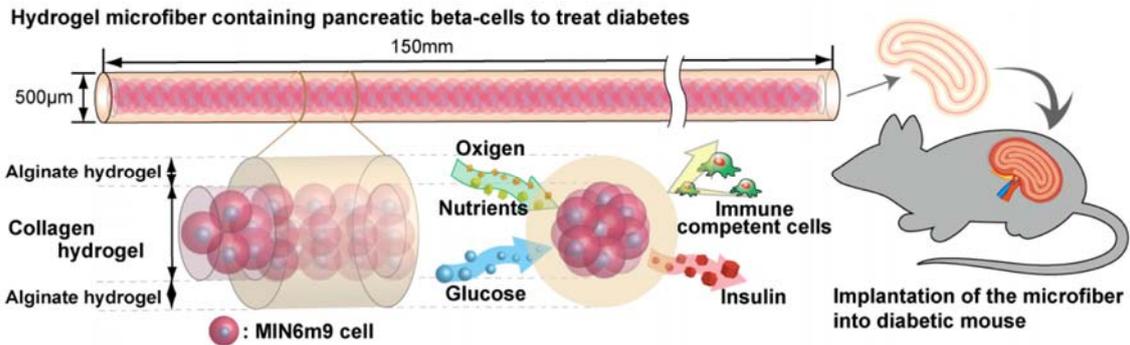


図 B-7 インスリン依存状態糖尿病に対するインスリン分泌細胞(膵β細胞:MIN6m9)を被覆したハイドロゲルファイバーの概念図

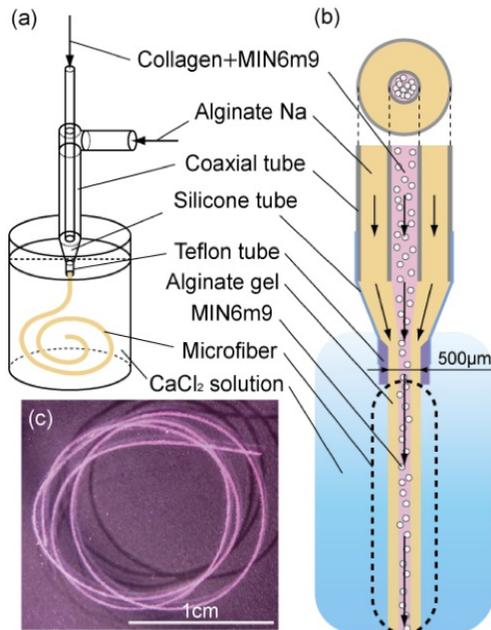
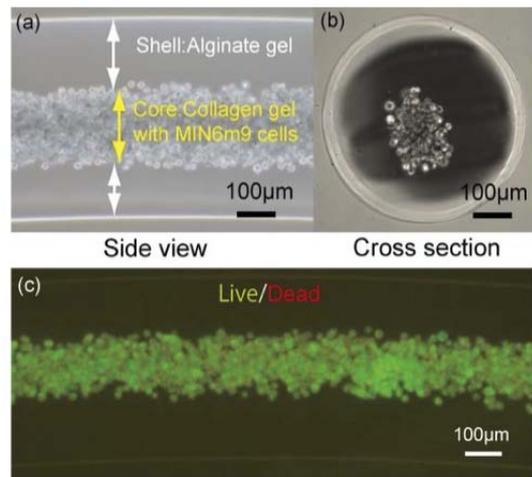


図 B-8. インスリン分泌細胞を被覆するハイドロゲルマイクロファイバーの作製



Live/Dead® assay

	day 1	day 5
Cell density [cells/cm]	$6.8 \times 10^4$	$7.4 \times 10^4$
Cell density [cells/cm <sup>3</sup> ]	$4.9 \times 10^6$	$5.3 \times 10^6$
Cell viability [%]	78.5	76.9
Secreted insulin amount [ng/hr·cm]	20	33

図 B-9 ハイドロゲルマイクロファイバーの形態と in vitro での機能諸元

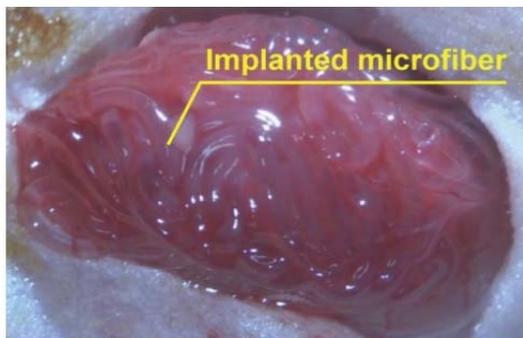


図 B-10. インスリン分泌細胞を被覆するハイドロゲルマイクロファイバーの腎被膜下の移植

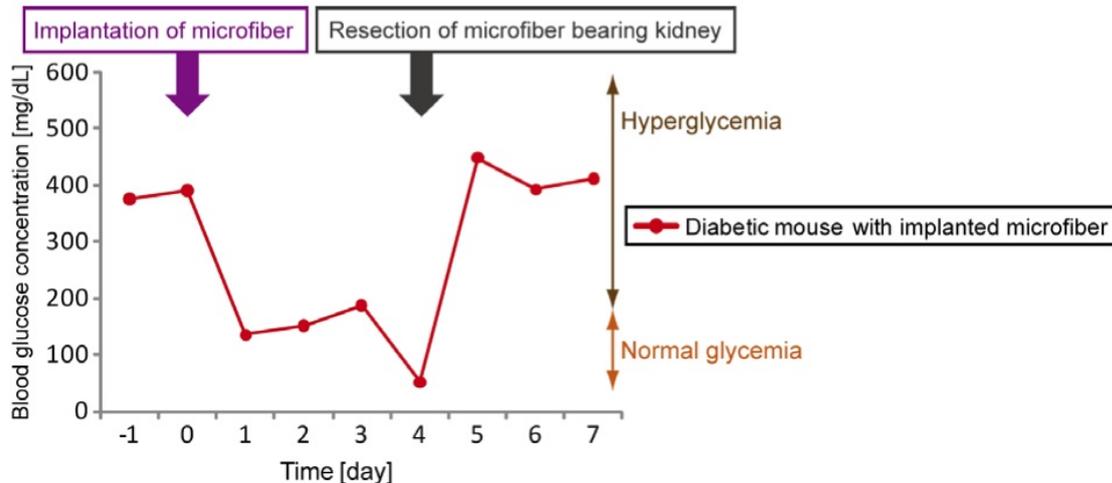


図 B-11. インスリン分泌細胞を被覆するハイドロゲルマイクロファイバーの *in vivo* での機能評価

(2)研究成果の今後期待される効果

細胞カプセル化に関する研究では、3次元マイクロ流路を利用して、ペプチドゲルによる細胞のカプセル化に成功した。また、カプセル後の生存も確認でき、数日間培養用することも可能であり、血管状の構造が形成されることを確認した。またファイバー化に関してはファイバー後も十分な細胞生存率があり、血糖値制御機能を持つことが実証された。これらの技術は、細胞移植や細胞の3次元培養などの基盤技術となりうる。

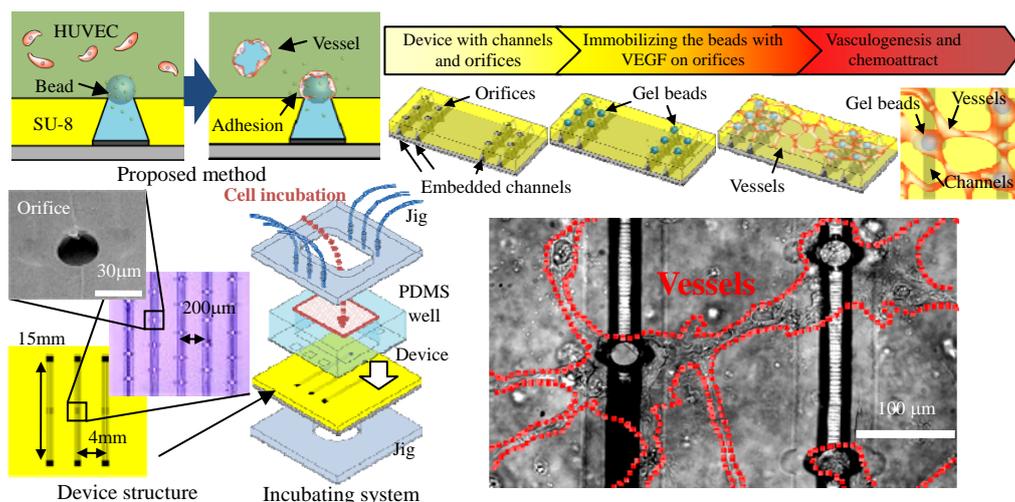
B-1-2) マイクロデバイス上での毛細血管の自己集合的形成と人工流路への接続

(1)研究実施内容および成果

生体内では、膵島細胞の機能は血管系の構造／機能に大きく依存する。従って、血管や血流と膵細胞の関連を調べることは、機能する膵島を提供する上で非常に重要になる。本研究では、MEMS技術を用いたトップダウンアプローチによる工学的にパターンを設計して与える方法と、ボトムアップアプローチによる生物が発生過程で行う自己組織化過程を生かして利用する方法とを融合させることにより、機能する組織構造を *in vitro* で再構成するための基礎技術の開発を行った。外部の血管系と細胞集合体の毛細血管を接合するため、血管表皮細胞走化性因子VEGF (vascular endothelial growth factor)を用いて、デバイスのオリフィスに内皮細胞を誘導することにより人工流路と毛細血管の結合が行えることが判明した。

この手法は、マトリゲル内において培養される血管表皮細胞は、自己集合的に毛細血管状のチューブ構造を形成するとともに、血管表皮細胞走化性因子VEGFにより、その進展方向が誘導されることを原理とする。まず、基板表面に小さい開口を持つ人工流路をフォトレジストSU-8を用いて形成し、ここにVEGFを含む微小なゲルビーズを吸引固定する。その上に細胞を含むマトリゲルをのせ、顕微鏡で観察しつつインキュベータ内で培養する。

その結果、図 B-12 の写真に示すように、マトリゲル内で血管表皮細胞(HUVEC)が、VEGFゲルビーズが置かれた位置を接続するような、毛細血管様のネットワーク構造を自発的に形成する様子が観察された。内皮細胞のネットワークを実際の流路として機能させるための技術開発を行うため、オリフィスへのビーズ固定効率評価、走化性因子(VEGF: vascular endothelial growth factor)ゲルビーズによる管状内皮細胞ネットワークのオリフィスへの誘導効率評価を行った。図 B-13 の誘導効率評価結果より、走化性因子の効果の検証と誘導因子を含むビーズを固定することで設計した構造に内皮細胞ネットワークを集めることが可能であることが分かった。



図B-12 マイクロデバイス上での毛細血管の自己集合的形成と人工流路への接続

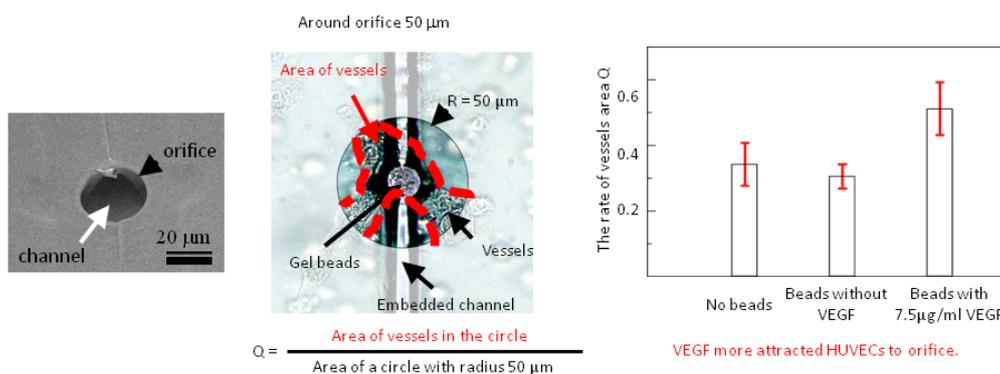


図 B-13 オリフィス付近への内皮細胞ネットワークの誘導効率の評価

## (2)研究成果の今後期待される効果

本手法は血管を人工の流路構造と接続しながら各種臓器細胞の培養と観察を可能にするものであり、血管と臓器細胞との関連を明らかにする、あるいは人為的に構築した組織等の機能維持に利用できる可能性がある。本手法について、今後、自己組織化血管流路への送液を達成することでそれらの応用展開が期待できる。

### B-1-3) 細胞の接着による組立法の開発

#### (1)研究実施内容および成果

特定の細胞間を接着して細胞集合体を組み立てるため、DNAの相補性を利用する手法の開発を行った。この手法は、図B-14に示すように、接着剤として、スペーサとなるポリエチレングリコールの一端に細胞膜の成分であるリン脂質、他端にオリゴDNA(今回の実験ではオリゴAまたはオリゴT)を有する高分子複合体(OrigoT-PEG-lipid)を用いる。一方の細胞にOrigoA-PEG-lipid複合体を導入、他方の細胞(細胞膜を緑で染色)にOrigoT-PEG-lipid複合体を導入する。これらの細胞を混合すると細胞は相互にオリゴAとオリゴTの相互作用を介して接着する。相互作用している2次元のおよび3次元に配列した細胞集団を蛍光顕微鏡で観察した結果を示した。

本技術を用いて膵島細胞と免疫抑制効果の因子を分泌するセルトリ細胞の複合体を形成した(図B-15.a)。この細胞複合体を異常血糖のマウスに移植したところ血糖値が長期間正常化し、体重の増加がみられ(図B-15.b,c)、血糖制御が機能することを実証した。

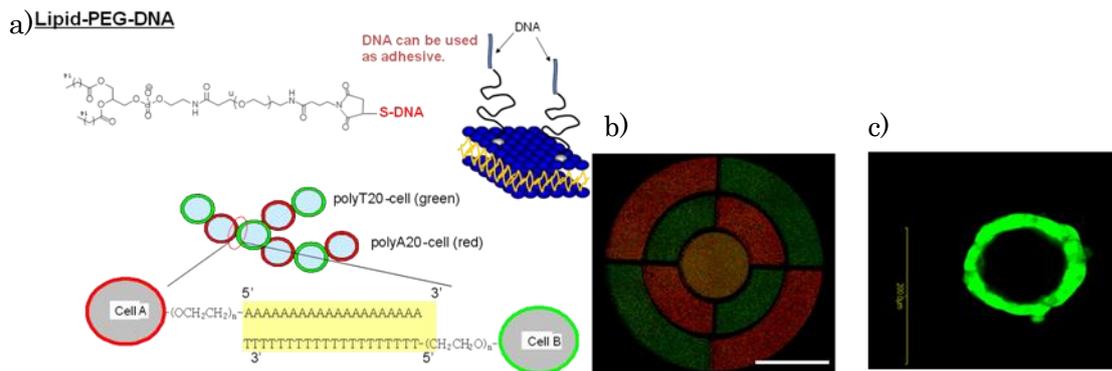


図 B-14 高分子複合体による細胞配列  
(a) 分子構造・配列概念、(b)2D 配列、(c) 3D 配列(断層像)

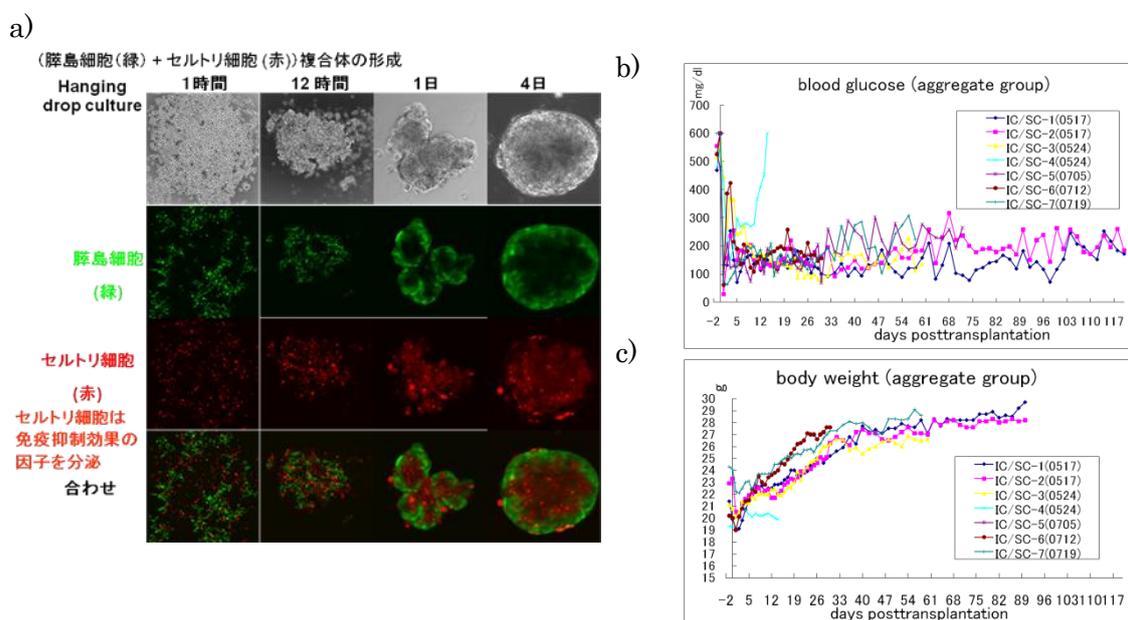


図 B-15 細胞複合体の形成 (a) 複合体像、複合体移植後の(b)血糖変化、(c) 体重変化

## (2)研究成果の今後期待される効果

このような手法は、基板上的の特定位置への特定細胞の固定や、多様な配列のDNAを用いて多種多様な細胞を望みの配列で組み立てるなど、細胞集合体の組立の汎用技術となることが期待される。また、細胞複合体による血糖調節機能の正常化が実証されたことから、今後移植における、臓器の人為的構築においても有用であると考えられる。

## B-2-1) オンチップエレクトロポレーションによる細胞内物質導入

### (1)研究実施内容および成果

iPS細胞における細胞の初期化は、遺伝子を導入することにより行われている。また、初期化した細胞の分化誘導にも細胞内物質導入が有効な手段となり得る。しかしながら、ウイルスを用いる遺伝子導入法には外来遺伝子を導入することに対する危惧があり、また、従来型のエレクトロポレーション法には、細胞種依存性や侵襲性・収率等の問題がある。そこで、我々は、細胞種非依存・低侵襲・高収率な細胞内物質導入法として、マイクロオリフィスにおける電界集中を利用したオンチップ

プエレクトロポレーション法を開発してきた(図B-2)。

オリフィスシート上で培養した接着細胞(MSC:間葉系幹細胞)に対して、接着・伸展を維持したままでプラスミド(pmaxGFP)を導入し、GFPの発現状況を調べた。その結果、数10ms以上の幅を持つパルス印加することによりプラスミドを導入した細胞は、数時間以内にGFPを発現しだすことが判明した。図B-16-aは、パルス印加から5時間後のGFP発現細胞の蛍光で、図B-16-bは同じ位置の生細胞をカルセインで染色して可視化したものである。通常のエレクトロポレーションにより細胞内に導入されたプラスミドは分裂の際に核内に取り込まれて発現するため、発現を開始するまでに、細胞周期程度の時間(本実験で使用した細胞では約24時間)がかかる。それに対し、この実験で5時間以内に多数のGFP発現細胞が生じたという事実は、細胞周期非依存的に、オリフィスシート上に接着した細胞の核内にプラスミドが直接導入されたことを示している。

次に、本手法でプラスミドが電気泳動により核の中へと直接導入される様子を、顕微鏡下でリアルタイム観察することを試みた。DNAの可視化は、2kbpのDNAの片端にQドットを結合することで行った。図B-22の方法により作成したオリフィスに細胞を固定し、2V-100msecのパルス印加時におけるQドット-DNAの挙動を観測した結果、パルス印加と同時にQドット-DNAが細胞膜上に集積し、その一部が細胞内に流入する様子が確認された(図B-17)。図B-18は焦点をずらして取得した顕微鏡写真で、図B-19に図示するように核内にQドット-DNAが存在していることがわかる。本実験のタイムスケール内でQドット-DNAが拡散で核内に導入される可能性はないので、プラスミドは電気泳動により核膜孔を通じて核内に到達したと考えられる。このように核にプラスミドを直接送達できる物質導入法は、神経細胞やプライマリー細胞への遺伝子導入の新技术になると期待される。

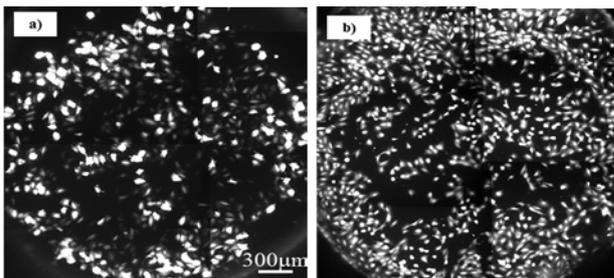


図 B-16 パルス印加から 5 時間後における a)GFP 発現と b)カルセイン染色した細胞

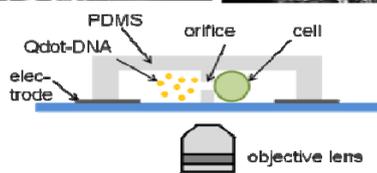
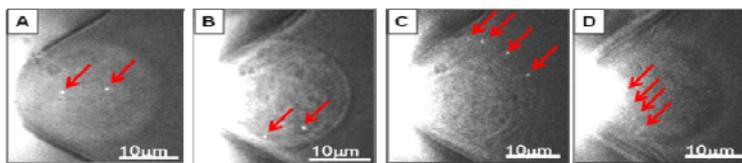


図 B-17 パルス印加と Qドット-DNA の挙動観察



図B-18 Qドット-DNA導入細胞を深さ方向にスライスした蛍光画像

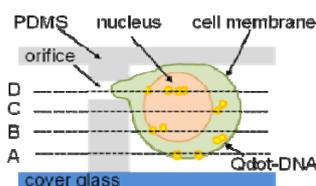


図 B-19 Qドット-DNA 導入細胞の再構成図

## (2)研究成果の今後期待される効果

オンチップエレクトロポレーションの手法は、細胞種を問わず、様々な物質を、低侵襲で細胞内に導入することができる。特に、10msオーダーの長パルスによりプラスミドを核に直接送達する手法は、従来にない迅速・確実な遺伝子導入を実現する。

### B-2-2) オンチップ細胞融合法と細胞質移植

#### (1)研究実施内容および成果

細胞融合あるいは細胞質移植により細胞の初期化等を行う手法を開発するため、まず、細胞融合現象自体および融合後の挙動が観察可能なデバイスの開発を行った。図B-20は新規に開発した、自発形成メニスカスを用いてマイクロチャネルの壁面に直径数 $\mu\text{m}$ のオリフィスを持つデバイスを製作する手順である。このデバイスを用いて細胞融合を行ったところ、再現性良く90%以上の収率での融合が観察された。このオリフィス製法は、以下の細胞融合のみならず、細胞配列・相互作用計測グループの細胞局所刺激やエレクトロポレーションによるプラスミド導入の観察など、垂直壁に設けられたオリフィスが重要な実験における有力な手段として本プロジェクト内で利用された。

次に、この手法により、細胞核の直径より小さい径を持つオリフィスを形成し、2つの細胞を融合させた後に片側から吸引することにより、図B-4の細胞質移植を行った(図B-21)。融合細胞を吸引するに従い、核を残して片方の細胞の細胞質が他方の細胞内へと移植され、最終的に融合細胞は2つの細胞へと分割された。これにより、ドナー細胞の細胞質をレシピエントに移植できることが実証された。

以上のデバイスを用い、融合細胞の挙動の観察を行った。細胞融合を用いた細胞の初期化に関して、細胞核より小さいオリフィスをはさんでES細胞と体細胞の細胞融合を行うことにより、細胞核が融合しない(すなわち遺伝子の混合が生じない)状況でES細胞の持つ初期化因子を体細胞に導入することにより細胞の初期化を試みることを目標とし、京都大学多田研究室と共同で、初期化がおきるとOCT4-GFPが発現するように遺伝子改変されているMEF細胞とES細胞との融合を行い、融合後の実時間観察を行った。多くは融合細胞がオリフィスを通過してしまった。このようなすり抜けた融合細胞の観察を続けると、図B-22のように、融合18時間後に緑色の蛍光を確認できるものがあった。この緑色蛍光はOCT4-GFPの発現を示しており、融合細胞が初期化したことを示唆している。本例に加え、これまでに3例のGFP発現(=融合細胞の初期化)を確認している。

細胞融合の大量並列化に関しては、図B-16で用いたの同様の手法により作製されたオリフィスシートを用い、数千個のレベルで高収率な細胞融合を行うデバイスを開発した(図B-23)。このデバイスは、50 $\mu\text{m}$ ピッチのオリフィスアレイを持つシートを一對のシリコンゴムシートとITO電極で挟み込んだ構造を持ち、ウェル中で同時におよそ7500個の細胞融合を行うことができる。

実際に実験を行ったところ、融合前(図B-23の左側写真)と融合後(右側写真)で明確な差異が見られ、右写真矢印で示した細胞が融合したと判定できる。この結果より、融合の収率として70%程度以上が得られた。

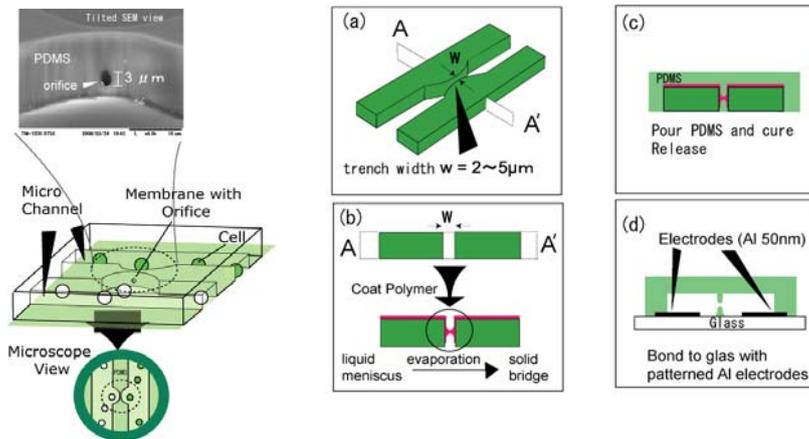
本手法を用いた実用的応用例として、モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマの作製を行った。現在、ハイブリドーマの作製は、PEG法を用いて、抗体産生細胞とミエローマを融合させることで行われているが、「得られたコロニー数/融合に用いた脾臓細胞数」で定義される収率は、非常に低く、 $1 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-4}$ である。今回、45000個の細胞をデバイスに導入して約2000個の細胞ペアを形成させたのちパルスを印加して融合を行った。融合後のオリフィスシートを、融合産物だけが生き残れる選択培地を含むシャーレ内に移し培養したところ、オリフィスシート上およびシャーレ上に合計200個ほどのコロニーが確認された(図B-24)。上記収率で計算される収率ではPEG法に比べ20~2000倍良いといえる。今後細胞ペア形成法の最適化を図ることで必要な細胞数を減らすことが可能であり、さらなる高収率が実現できると期待される。

## (2)研究成果の今後期待される効果

この細胞融合技術は、従来法と異なり、高い収率で必ず1:1の融合をおこすことができる。また、オリフィス径を小さくすることにより、核融合すなわち遺伝子の混合を伴わずに、細胞内因子のみを

移植・交換することができる。その応用には、体細胞と幹細胞との融合による細胞の初期化・形質転換などの細胞工学的応用のみならず、融合後に生ずる細胞内現象や細胞周期に与える変調などの解明等、基礎科学にも有用な技術となると考えられる。

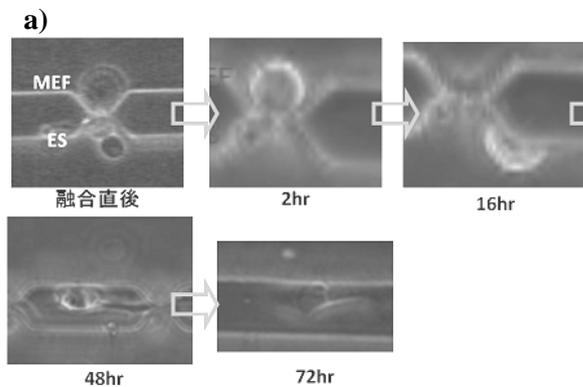
さらに、上記のオンチップエレクトロポレーションと併せて、細胞内因子の自在な操作を通じ、細胞内ネットワークの計測・人為的制御・細胞形質の改変などへの途を拓く新しいバイオナノハイブリッドプラットフォーム技術となることが期待される。



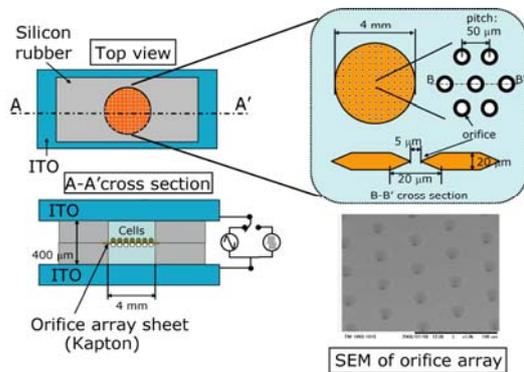
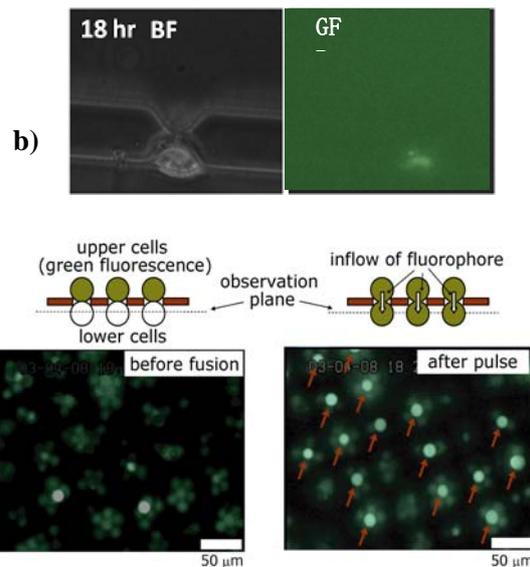
図B-20 自己形成メニスカスを用いた3次元オリフィスの製作



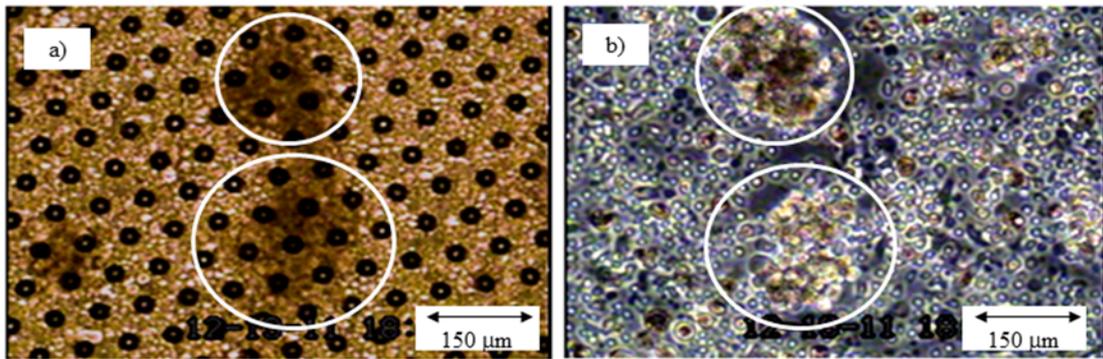
図B-21 細胞融合による細胞質移植



図B-22 ES細胞との融合による体細胞の初期化 a) 融合後の挙動, b) 18時間後に初期化インディケータである Oct4-GFP の発現が見える



図B-23 マイクロデバイスを用いた細胞の大量並列融合



図B-24 融合産物(ハイブリドーマ)が形成したコロニー(円内)  
a)オリフィスシート上, b)シャーレ上

## § 5 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 6 件、国際(欧文)誌 138 件)

1. Yasuda, S., Tsuneyoshi, N., Sumi, T., Hasegawa, K., Tada, T., Nakatsuji, N., Suemori, H., "NANOG maintains self-renewal of primate ES cells in the absence of a feeder layer", *Gene. Cell*, 11, 1115-1123, 2006
2. Popova, B.C., Tada, T., Takagi, N., Brockdorff, N., Nesterova, T.B., "Attenuated spread of X-inactivation in an X-autosome translocation", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103, 7706-7711, 2006.
3. Tada, T., "Toti-/Pluripotential Stem Cells and Epigenetic Modifications", *Neurodegenerative Diseases*, 3: 32-37, 2006
4. Hasegawa, K., Chuma, S., Tada, T., Sakurai, T., Tamura, M., Suemori, H., Nakatsuji, N.: "Testatin transgenic and knockout mice exhibit normal sex-differentiation", *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 341: 369-375, 2006
5. Fujimoto H, Yoshizako S, Kato K, Iwata H., Fabrication of cell-based arrays using micropatterned alkanethiol monolayers for the parallel silencing of specific genes by small interfering RNA. *Bioconjug Chem.* 2006 Nov-Dec;17(6):1404-10.
6. Nakajima M, Ishimuro T, Kato K, Ko IK, Hirata I, Arima Y, Iwata H. Combinatorial protein display for the cell-based screening of biomaterials that direct neural stem cell differentiation. *Biomaterials.* 2007 Feb;28(6):1048-60.
7. Teramura Y, Arima Y, Iwata H., Surface plasmon resonance-based highly sensitive immunosensing for brain natriuretic peptide using nanobeads for signal amplification. *Anal Biochem.* 2006 Oct 15;357(2):208-15.
8. Miura S, Teramura Y, Iwata H. Encapsulation of islets with ultra-thin polyion complex membrane through poly(ethylene glycol)-phospholipids anchored to cell membrane. *Biomaterials.* 2006 Dec;27(34):5828-35.
9. Yamazoe H, Iwata H., Efficient generation of dopaminergic neurons from mouse embryonic stem cells enclosed in hollow fibers. *Biomaterials.* 2006 Oct;27(28):4871-80.
10. Yamazoe H, Kobori M, Murakami Y, Yano K, Satoh M, Mizuseki K, Sasai Y, Iwata H., One-step induction of neurons from mouse embryonic stem cells in serum-free media containing vitamin B12 and heparin. *Cell Transplant.* 2006;15(2):135-45.
11. Yamauchi F, Koyamatsu Y, Kato K, Iwata H., Layer-by-layer assembly of cationic lipid and plasmid DNA onto gold surface for stent-assisted gene transfer. *Biomaterials.* 2006 Jun;27(18):3497-504.
12. Moriyasu K, Yamazoe H, Iwata H., Induction dopamine releasing cells from mouse embryonic stem cells and their long-term culture. *J Biomed Mater Res A.* 2006 Apr;77(1):136-47.
13. Boonchai Techaumnat and Masao Washizu: "Analysis of the effects of an orifice plate on the membrane potential in electroporation and electrofusion of cells", *J. Phys. D: Appl. Phys.* 40 1831-1837, 2007
14. Matsumura, H., Tada, M., Otsuji, T., Yasuchika, K., Nakatsuji, N., Tada, T.: "Targeted chromosome elimination from ES-somatic hybrid cell nuclei." *Nature Methods* 4:23-25, 2007
15. Masao Washizu and Boonchai Techaumnat: "Cell Membrane Voltage During Electrical Cell Fusion Calculated by Re-expansion Method", *J. Electrostatics* vol.65, p.555-561, 2007
16. Wei-Heong TAN and Shoji TAKEUCHI: "Monodisperse Alginate Hydrogel Microbeads for Cell Encapsulation, *Advanced Materials,*" vol. 19, pp. 2696-2701, 2007.
17. Takashi Miura: "Modulation of activator diffusion by extracellular matrix in Turing

- system”, RIMS kokyuroku Bessatsu B3 , 165-176, 2007
18. Dirk Hartmann and Takashi Miura: ”Mathematical analysis of a free-boundary model for lung branching morphogenesis”, *Mathematical Medicine and Biology* 24, 209 -224, 2007
  19. Kato K, Ishimuro T, Arima Y, Hirata I, Iwata H., High-throughput immunophenotyping by surface plasmon resonance imaging. *Anal Chem.* 2007 Nov 15;79(22):8616-23.
  20. Kato K, Sato H, Iwata H., Ultrastructural study on the specific binding of genetically engineered epidermal growth factor to type I collagen fibrils. *Bioconjug Chem.* 2007 Nov-Dec;18(6):2137-43.
  21. Teramura Y, Kaneda Y, Iwata H., Islet-encapsulation in ultra-thin layer-by-layer membranes of poly(vinyl alcohol) anchored to poly(ethylene glycol)-lipids in the cell membrane. *Biomaterials.* 2007 Nov;28(32):4818-25.
  22. Fujimoto N, Fujita S, Tsuji T, Toguchida J, Ida K, Suginami H, Iwata H. Microencapsulated feeder cells as a source of soluble factors for expansion of CD34(+) hematopoietic stem cells. *Biomaterials.* 2007 Nov;28(32):4795-805.
  23. Ando T, Yamazoe H, Moriyasu K, Ueda Y, Iwata H., Induction of dopamine-releasing cells from primate embryonic stem cells enclosed in agarose microcapsules. *Tissue Eng.* 2007 Oct;13(10):2539-47.
  24. Sato H, Suemori H, Toguchida J, Iwata H., Recombinant matrix protein for maintenance of undifferentiated primate embryonic stem cells. *Tissue Eng.* 2007 Jul;13(7):1539-47.
  25. Chen H, Sato H, Totani T, Iwata H., Detection of insulin-releasing cells using in situ immunoblotting. *Anal Biochem.* 2007 Jul 15;366(2):137-43.
  26. Yamauchi F, Okada M, Kato K, Jakt LM, Iwata H., Array-based functional screening for genes that regulate vascular endothelial differentiation of Flk1-positive progenitors derived from embryonic stem cells. *Biochim Biophys Acta.* 2007 Aug;1770(8):1085-97.
  27. Nakaji-Hirabayashi T, Kato K, Arima Y, Iwata H., Oriented immobilization of epidermal growth factor onto culture substrates for the selective expansion of neural stem cells. *Biomaterials.* 2007 Aug;28(24):3517-29.
  28. Teramura Y, Iwata H., Label-free immunosensing for alpha-fetoprotein in human plasma using surface plasmon resonance. *Anal Biochem.* 2007 Jun 15;365(2):201-7.
  29. Arima Y, Iwata H., Effect of wettability and surface functional groups on protein adsorption and cell adhesion using well-defined mixed self-assembled monolayers. *Biomaterials.* 2007 Jul;28(20):3074-82.
  30. Ibi T, Shimada H, Miura S, Fukuma E, Sato H, Iwata H., Possibility of insulin-producing cells derived from mouse embryonic stem cells for diabetes treatment. *J Biosci Bioeng.* 2007 Feb;103(2):140-6.
  31. Kato K, Toda M, Iwata H., Antibody arrays for quantitative immunophenotyping. *Biomaterials.* 2007 Feb;28(6):1289-97.
  32. Matsumura,H., Tada,T.: “Cell fusion-mediated nuclear reprogramming of somatic cells,” *BRMOnline*,16, 51-56, 2008
  33. Otsuji,T., Matsumura,H., Suzuki,T., Nakatsuji,N., Tada,T. and Tada,M.: “Rapid induction of large chromosomal deletions by a Cre/inverted loxP system in mouse ES hybrids.” *J.Mol.Biol.*, 378, (2), pp.328-336, 2008.
  34. W-H. Tan and Shoji Takeuchi: “Dynamic microarray system with gentle retrieval mechanism for cell encapsulating hydrogel beads,” *Lab on a Chip*, vol. 7, pp. 259 - 266, 2008
  35. Tada T.: “Genetic modification-free reprogramming to induced pluripotent cells: fantasy or reality?” *Cell Stem Cell* 3, 121-122, 2008.
  36. Miyazaki H., Kato K., Teramura Y., and Iwata H., “A collagen-binding mimetic of neural cell adhesion molecule.” *Bioconjugate Chem.* 19, 1119-1123, 2008.

37. Teramura Y., Kaneda Y., Totani T., and Iwata H.: "Behavior of Synthetic Polymers Immobilized on Cell Membrane." *Biomaterials*, **29**, 1345-1355, 2008.
38. Teramura Y., Iwata H.: "Islets surface modification prevents blood-mediated inflammatory responses." *Bioconjugate Chem.* **19**, 1389-1395, 2008.
39. Totani T., Teramura Y., and Iwata H.: "Immobilization of urokinase to islet surface by amphiphilic poly (vinyl alcohol) carrying alkyl side chains." *Biomaterials*, **29**, 2878-2883, 2008.
40. Senoz V., Lennon E., Ostrovidov S., Yamamoto T., Fujita F., Sakai Y., and Fujii, T.: "Integrated 3-D Silicon Electrodes for Electrochemical Sensing in Microfluidic Environments: Application to Single-Cell Characterization," *IEEE Sensors Journal*, **8(5&6)**, 548-557, 2008.
41. Miyano N., Inoue Y., Teramura Y., Fujii K., Iwata H., Kotera H.: "Gene transfer device with submicron-needle produced by a self-organization phenomenon in Fe-alloy." *Lab on a Chip*, **8**, 1104-1109, 2008.
42. Fujita S, Ono D, Oshima M, Iwata H: "Supercritical CO<sub>2</sub>-assisted embossing for studying cell behaviour on microtextured surfaces." *Biomaterials* **29(34)**: 4494-4500, 2008
43. Fujita S, Morita Y, Iwata H: "High-throughput evaluation of quiescent hematopoietic progenitor cells using a micro-multiwell plate." *Anal Bioanal Chem* **391(8)**:2753-2758, 2008
44. Nakaji-Hirabayashi T., Kato K., Iwata H.: "Essential role of structural integrity and firm attachment of surface-anchored epidermal growth factor in adherent culture of neural stem cells." *Biomaterials* **29**, 4403-4408, 2008.
45. Nakaji-Hirabayashi T., Kato K., Iwata H.: "Self-assembling chimeric protein for the construction of biodegradable hydrogels capable of interaction with integrins expressed on neural stem/progenitor cells." *Biomacromolecules* **9**, 1411-1416, 2008.
46. Nakaji-Hirabayashi T., Kato K., Arima Y., Iwata H.: Multifunctional chimeric proteins for the sequential regulation of neural stem cell differentiation. *Bioconjugate Chem.* **19**, 516-524 (2008).
47. Fujimoto H., Kato K, Iwata H.: Use of microarrays in transfection of mammalian cells with dicer-digested small interfering RNAs. *Anal. Biochem.* **374**, 417-422 (2008).
48. Koda S., Inoue Y., and Iwata H.: Gene transfection into adherent cells using electroporation on a dendrimer-modified gold electrode. *Langmuir*, **24(23)**, 13525–13531 (2008)
49. Njatawidjaja E, Iwata H: Gene delivery to cells on a miniaturized multiwell plate for high-throughput gene function analysis. *Anal Bioanal Chem*, **392(3)**, 405-408 (2008)
50. Komada M, Saitsu H, Kinboshi M, Miura T, Shiota K, Ishibashi M.: Hedgehog signaling is involved in development of the neocortex. **135**, 2717-27 (2008).
51. Inoue Y, Fujimoto H, Ogino T, Iwata H: Site-specific Gene Transfer with High Efficiency onto a Carbon Nanotube-loaded Electrode. *J R Soc Interface*, **5(25)**: 909-918 (2008)
52. Techaumnat B, Tsuda K, Kurosawa O, Murat G, Oana H, Washizu M.: High-yield electrofusion of biological cells based on field tailoring by microfabricated structures. *IET Nanobiotechnol*, **2 (4)** 93-99 (2008)
53. Washizu M. and Techaumnat B.: Polarization and Membrane Voltage of Ellipsoidal Particle with a Constant Membrane Thickness – a Series Expansion Approach, *IET Nanobiotechnology*, **2(3)**, 62–71 (2008)
54. Fujita S, Toguchida J, Morita Y, Iwata H., Clonal analysis of hematopoiesis-supporting activity of human mesenchymal stem cells in association with Jagged1 expression and osteogenic potential. *Cell Transplant.* 2008;17(10-11):1169-79.
55. Koda S, Inoue Y, Iwata H., Gene transfection into adherent cells using

- electroporation on a dendrimer-modified gold electrode. *Langmuir*. 2008 Dec 2;24(23):13525-31.
56. Fujimoto H, Kato K, Iwata H., Prolonged durability of electroporation microarrays as a result of addition of saccharides to nucleic acids. *Anal Bioanal Chem*. 2009 Jan;393(2):607-14. Epub 2008 Nov 7.
  57. Fujimoto H, Kato K, Iwata H., Electroporation microarray for parallel transfer of small interfering RNA into mammalian cells. *Anal Bioanal Chem*. 2008 Dec; 392(7-8):1309-16.
  58. Fujita S, Ono D, Ohshima M, Iwata H., Supercritical CO<sub>2</sub>-assisted embossing for studying cell behaviour on microtextured surfaces. *Biomaterials*. 2008 Dec;29 (34):4494-500.
  59. Nakaji-Hirabayashi T, Kato K, Iwata H., Essential role of structural integrity and firm attachment of surface-anchored epidermal growth factor in adherent culture of neural stem cells. *Biomaterials*. 2008 Nov;29(33):4403-8.
  60. Njatawidjaja E, Iwata H., Gene delivery to cells on a miniaturized multiwell plate for high-throughput gene function analysis. *Anal Bioanal Chem*. 2008 Oct;392 (3):405-8.
  61. Miyano N, Inoue Y, Teramura Y, Fujii K, Tsumori F, Iwata H, Kotera H., Gene transfer device utilizing micron-spiked electrodes produced by the self-organization phenomenon of Fe-alloy. *Lab Chip*. 2008 Jul;8(7):1104-9.
  62. Teramura Y, Iwata H., Islets surface modification prevents blood-mediated inflammatory responses. *Bioconjug Chem*. 2008 Jul;19(7):1389-95.
  63. Miyazaki H, Kato K, Teramura Y, Iwata H., A collagen-binding mimetic of neural cell adhesion molecule. *Bioconjug Chem*. 2008 Jun;19(6):1119-23.
  64. Nakaji-Hirabayashi T, Kato K, Iwata H., Self-assembling chimeric protein for the construction of biodegradable hydrogels capable of interaction with integrins expressed on neural stem/progenitor cells. *Biomacromolecules*. 2008 May;9 (5) :1411-6.
  65. Totani T, Teramura Y, Iwata H., Immobilization of urokinase on the islet surface by amphiphilic poly(vinyl alcohol) that carries alkyl side chains. *Biomaterials*. 2008 Jul;29(19):2878-83.
  66. Fujita S, Morita Y, Iwata H., High-throughput evaluation of quiescent hematopoietic progenitor cells using a micro-multiwell plate. *Anal Bioanal Chem*. 2008 Aug;391(8):2753-8.
  67. Fujimoto H, Kato K, Iwata H., Use of microarrays in transfection of mammalian cells with dicer-digested small interfering RNAs. *Anal Biochem*. 2008 Mar 15;374(2):417-22.
  68. Inoue Y, Fujimoto H, Ogino T, Iwata H., Site-specific gene transfer with high efficiency onto a carbon nanotube-loaded electrode. *J R Soc Interface*. 2008 Aug 6;5(25):909-18.
  69. Teramura Y, Kaneda Y, Totani T, Iwata H., Behavior of synthetic polymers immobilized on a cell membrane. *Biomaterials*. 2008 Apr; 29(10):1345-55.
  70. Nakaji-Hirabayashi T, Kato K, Arima Y, Iwata H., Multifunctional chimeric proteins for the sequential regulation of neural stem cell differentiation. *Bioconjug Chem*. 2008 Feb;19(2):516-24.
  71. Agudelo CA, Iwata H., The development of alternative vitrification solutions for microencapsulated islets. *Biomaterials*. 2008 Mar;29(9):1167-76.
  72. Arima Y, Toda M, Iwata H., Complement activation on surfaces modified with ethylene glycol units. *Biomaterials*. 2008 Feb;29(5):551-60.
  73. Toda M, Kitazawa T, Hirata I, Hirano Y, Iwata H., Complement activation on surfaces carrying amino groups. *Biomaterials*. 2008 Feb;29(4):407-17.
  74. Le N. C. H., Yokokawa R, Dao D. V., Nguyen T. D., Wells J., Sugiyama S.: Versatile Microfluidic Total Internal Reflection (TIR)-based Devices: Application to

- Microbeads Velocity Measurement and Single Molecule Detection with Upright and Inverted Microscope. *Lab Chip*, **9**, 244-250 (2009).
75. Miura T, Hartmann D, Kinboshi M, Komada M, Ishibashi M, Shiota K, The cyst-branch difference in developing chick lung results from a different morphogen diffusion coefficient, *Mech. Dev.*, in press.
  76. Fujimoto H., Kato K., Iwata H.: Prolonged durability of electroporation microarrays as a result of addition of saccharides to nucleic acids. *Anal. Bioanal. Chem.*, in press.
  77. Fujimoto H., Kato K., Iwata H.: Electroporation microarray for parallel transfer of small interfering RNA into mammalian cells. *Anal. Bioanal. Chem.*, in press.
  78. Fujita S, Toguchida J, Morita Y, Iwata H: Clonal analysis of hematopoiesis-supporting activity of human mesenchymal stem cells in association with Jagged1 expression and osteogenic potential. *Cell Transplant* : in press
  79. Miyazaki H., Maki T., Kato K., Iwata H.: Surface-displayed antibodies as a tool for simultaneously controlling the arrangement and morphology of multiple cell types with microscale precision. *ACS Applied Mater Interfaces*, in press.
  80. Agudelo C.A., Teramura Y., Iwata H.: Feasibility of cryopreserved agarose-encapsulated islets as a bioartificial pancreas. *Transplantation* in press.
  81. Morimoto Y., Tan W. H., Takeuchi S.: Three-dimensional axisymmetric flow-focusing device using stereolithography. *Biomed. Microdev.*, in press.
  82. T. Miura, C. A. Perlyn, M. Kinboshi, N. Ogihara, M. Kobayashi-Miura, G. M. Morriss-Kay, and K. Shiota: "Mechanism of skull suture maintenance and interdigitation", *J Anat* 215(6), 642-655(2009). DOI: 10.1111/j.1469-7580.2009.01148.x.
  83. S. Yamaguchi., K. Kurimoto, Y. Yabuta, H. Sasaki, N. Nakatsuji, M. Saitou, and T. Tada: "Conditional knockdown of Nanog induces apoptotic cell death in mouse migrating primordial germ cells". *Development* 136, 4011-4020(2009). DOI:10.1242/dev.041160.
  84. S. Nagata, M. Toyoda, S. Yamaguchi, K. Hirano, H. Makino, K. Nishino, Y. Miyagawa, H. Okita, N. Kiyokawa, M. Nakagawa, S. Yamanaka, H. Akutsu, A. Umezawa and T. Tada: "Efficient reprogramming of human and mouse primary extra-embryonic cells to pluripotent stem cells". *Genes Cells* 14, 1395-1404(2009). DOI: 10.1111/j.1365-2443.2009.01356.x.
  85. M. Hung, O. Kurosawa, H. Kabata and M. Washizu: "Stretching DNA Fibers out of a Chromosome in Solution Using Electro-osmotic Flow", *Journal of the Chinese Society of Mechanical Engineers*, Vol.30, No.4, pp.289-295 (2009).
  86. H. Oana, A. Kishimura, K. Yonehara, Y. Yamasaki, M. Washizu, and K. Kataoka: "Spontaneous Formation of Giant Unilamellar Vesicles from Microdroplet of Polyion Complex via Thermally Induced Phase Separation", *Angewandte Chemie*, , Vol.48, p.4613-4616 (2009), selected as "hot paper". DOI: 10.1002/anie.200900721.
  87. Y. Morimoto, W. H. Tan, and S. Takeuchi: "Monodisperse semi-permeable microcapsules for continuous observation of cells", *Lab on a Chip*, vol. 9, pp. 2217 - 2223, 2009. DOI: 10.1039/b900035f.
  88. Y. Morimoto, W. H. Tan, and S. Takeuchi: "Three-Dimensional Axisymmetric Flow-Focusing Device using Stereolithography", *Biomedical Microdevices*, vol. 11, no. 2, pp. 369-377, 2009. DOI: 10.1007/s10544-008-9243-y.
  89. N. Kobayashi, T. Yuasa and T. Okitsu: "Regenerative medicine for diabetes mellitus.", *Cell Transplant*; 18(5):491-6. 2009.
  90. H. Noguchi, M. Ueda, S. Hayashi, N. Kobayashi, T. Okitsu, Y. Iwanaga, H. Nagata, X. Liu, H. Kamiya, MF. Levy and S. Matsumoto: "Comparison of trypsin inhibitors in preservation solution for islet isolation.", *Cell Transplant* ; 18(5):541-7. 2009.
  91. E. Sato, I. Yano, M. Shimomura, S. Masuda, T. Katsura, S. Matsumoto, T. Okitsu, Y. Iwanaga, S. Uemoto and K. Inui: "Larger dosage required for everolimus than

- sirolimus to maintain same blood concentration in two pancreatic islet transplant patients with tacrolimus.”, *Drug Metab Pharmacokinet*; 24(2):175-9. 2009. DOI: 10.2133/dmpk.24.175.
92. T. Yuasa, JD. Rivas-Carrillo, N. Navarro-Alvarez, A. Soto-Gutierrez, Y. Kubota, Y. Tabata, T. Okitsu, H. Noguchi, S. Matsumoto, S. Nakaji, N. Tanaka and N. Kobayashi: “Neovascularization induced around an artificial device implanted in the abdomen by the use of gelatinized fibroblast growth factor 2.”, *Cell Transplant*;18(5):683-8. 2009.
  93. Nishigaki T, Teramura Y, Suemori H, Iwata H\*, Cryopreservation of primate embryonic stem cells with chemically-defined solution without Me2SO. *Cryobiology*. 2010 Apr;60(2):159-64. Epub 2009 Oct 24.
  94. Teramura Y, Iwata H., Surface modification of islets with PEG-lipid for improvement of graft survival in intraportal transplantation, *Transplantation*. 2009 Sep 15;88(5):624-30.
  95. Nakaji-Hirabayashi T, Kato K, Iwata H., Hyaluronic acid hydrogel loaded with genetically-engineered brain-derived neurotrophic factor as a neural cell carrier. *Biomaterials*. 2009 Sep;30(27):4581-9.
  96. Hiraoka M, Kato K, Nakaji-Hirabayashi T, Iwata H., Enhanced survival of neural cells embedded in hydrogels composed of collagen and laminin-derived cell adhesive peptide. *Bioconjug Chem*. 2009 May 20;20(5):976-83.
  97. Fujita S, Ohshima M, Iwata H., Time-lapse observation of cell alignment on nanogrooved patterns. *J R Soc Interface*. 2009 Jun 6;6 Suppl 3:S269-77.
  98. Teramura Y, Iwata H., Islet encapsulation with living cells for improvement of biocompatibility. *Biomaterials*. 2009 Apr;30(12):2270-5.
  99. Nakaji-Hirabayashi T, Kato K, Iwata H., Surface-anchoring of spontaneously dimerized epidermal growth factor for highly selective expansion of neural stem cells. *Bioconjug Chem*. 2009 Jan;20(1):102-10.
  100. M. Gel, S. Suzuki, Y. Kimura, O. Kurosawa, B. Tchaumnat, H. Oana, M. Washizu: “Microorifice-Based High-Yield Cell Fusion on Microfluidic Chip: Electrofusion of Selected Pairs and Fusant Viability”, *IEEE Trans. Nanobioscience*, Vol.8, No.6, p.300-305 (2009). DOI: 10.1109/TNB.2009.2035252
  101. Arima Y, Teramura Y, Takiguchi H, Kawano K, Kotera H, Iwata H., Surface plasmon resonance and surface plasmon field-enhanced fluorescence spectroscopy for sensitive detection of tumor markers. *Methods Mol Biol*. 2009;503:3-20. Review.
  102. Agudelo CA, Teramura Y, Iwata H., Cryopreserved agarose-encapsulated islets as bioartificial pancreas: a feasibility study. *Transplantation*. 2009 Jan 15;87(1):29-34.
  103. 平丸大介, 鈴木孝明, 神野伊策, 小寺秀俊, “回転傾斜露光法による複雑マイクロ構造作製とバイオデバイスへの応用,” *日本 AEM 学会誌*, Vol.17, No.2, pp.274-278, 2009
  104. Arima Y, Kawagoe M, Toda M, Iwata H., Complement activation by polymers carrying hydroxyl groups. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2009 Oct 28;1(10):2400-7.
  105. Murat Gel, Yuji Kimura, Osamu Kurosawa, Hidehiro Oana, Hidetoshi Kotera and Masao Washizu: " Dielectrophoretic cell trapping and parallel one-to-one fusion based on field constriction created by a micro-orifice array", *Biomicrofluidics* 4, 022808 (8 pages) (2010)
  106. Y. Kimura, Y. Nishigaichi, Y. Nakada, Y. Mori, H. Iwanari, M. Gel, O. Kurosawa, H. Oana, T. Hamakubo, H. Kotera, and M. Washizu: "Size-independent electro cell fusion with massive parallelism",  $\mu$ -TAS 2010, 2A1 (Oral), p.693-695, 2010.10.4-7, Groningen, Netherlands (2010)
  107. Kurosawa, Y Sumita, M. Gel, H. Oana, H. Kotera, T. Kato, J. Toguchida, and M. Washizu: "Direct introduction of plasmid into nucleus using on-chip electroporation",  $\mu$ -TAS 2010, M49A, p.217-219, 2010.10.4-7, Groningen, Netherlands (2010)
  108. M. Gel, Y. Kimura, S. Suzuki, O. Kurosawa, H. Oana, H. Kotera and M. Washizu:

- "Micro orifice based high yield cell-cell fusion: on-chip analysis of post-fusion phenomena", *μ-TAS 2010*, T66A, p.956-958, 2010.10.4-7, Groningen, Netherlands (2010)
109. Yamaguchi, S., Hirano, K., Nagata, S. and Tada, T\* (2010). Sox2 expression effects on direct reprogramming efficiency as determined by alternative somatic cell fate. *Stem Cell Res*, in press (refereed).
  110. Shineha, R., Kawakami, M., Kawakami, K., Nagata, M., Tada, T., and Kato, K.\* (2010). Familiarity and prudence of the Japanese public with research into induced pluripotent stem cells, and their desire for its proper regulation. *Stem Cell Rev* 6, 1-7 (refereed).
  111. T. Miura, M. Nagayama, “反応拡散系の生物のパターン形成現象への応用”, *蛋白質核酵素*, 55(1) 114-122.
  112. T. Miura, “Mechanism of lung branching morphogenesis” *Biological and Physical Constraints on the Evolution of Form in Plants and Animals*, Vienna series in Theoretical biology, (in press).
  113. 平丸大介, 鈴木博之, 神野伊策, 小寺秀俊, 鈴木孝明, “多重マスク回転傾斜露光法による3次元複雑マイクロ構造の作製,” *日本 AEM 学会誌*, Vol.18, No.4, pp.377-382, 2010.
  114. 鈴木孝明, “単一マスク回転傾斜露光技術の応用展開,” *電子材料(工業調査会)*, 「特集—応用分野を拡大するマイクロマシン/MEMS 技術」, pp.28-33, 2010年7月号, (解説論文)
  115. 鈴木孝明, “アセンブリフリー回転傾斜露光法を用いた細胞アレイの作製とその応用,” *エレクトロニクス実装学会誌*, Vol.13, No.3, pp.194-199, 2010, (解説論文)
  116. Teramura Y, Minh LN, Kawamoto T, Iwata H., Microencapsulation of islets with living cells using polyDNA-PEG-lipid conjugate. *Bioconj Chem*. 2010 Apr 21;21(4):792-6.
  117. Teramura Y, Iwata H., Bioartificial pancreas microencapsulation and conformal coating of islet of Langerhans. *Adv Drug Deliv Rev*. 2010 Jun 15;62(7-8):827-40. Epub 2010 Feb 4. Review.
  118. Toda M, Arima Y, Iwata H., Complement activation on degraded polyethylene glycol-covered surface. *Acta Biomater*. 2010 Jul;6(7):2642-9.
  119. Teramura Y, Chen H, Kawamoto T, Iwata H., Control of cell attachment through polyDNA hybridization. *Biomaterials*. 2010 Mar;31(8):2229-35.
  120. Luan NM, Teramura Y, Iwata H., Immobilization of the soluble domain of human complement receptor 1 on agarose-encapsulated islets for the prevention of complement activation. *Biomaterials*. 2010 Dec;31(34):8847-53. Epub 2010 Aug 24.
  121. Arima Y, Kawagoe M, Furuta M, Toda M, Iwata H., Effect of swelling of poly(vinyl alcohol) layers on complement activation. *Biomaterials*. 2010 Sep;31(27):6926-33.
  122. Inui O, Teramura Y, Iwata H., Retention dynamics of amphiphilic polymers PEG-lipids and PVA-Alkyl on the cell surface. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2010 May;2(5):1514-20
  123. Teramura Y, Iwata H. Cell surface modification with polymers for bio- medical studies. *Soft Matter* 2010; 6: 1081.
  124. Fujimoto H, Kato K, Iwata H., Layer-by-layer assembly of small interfering RNA and poly(ethyleneimine) for substrate-mediated electroporation with high efficiency. *Anal Bioanal Chem*. 2010 May;397(2):571-8.
  125. K. Terao, Y. Kitazawa, R. Yokokawa, A. Okonogi, H. Kotera: “Open-Access and Multi-Directional Electroosmotic Flow Chip for Positioning Heterotypic Cells”, *Lab on a Chip*, 11(8), 1507-1512(2011).
  126. Hirano, K., Nagata, S., Yamaguchi, S., Nakagawa, M., Okita, K., Kotera, H., Ainscough, J., and Tada, T. (2011). Human and Mouse Induced Pluripotent Stem Cells Are Differentially Reprogrammed in response to Kinase Inhibitors. *Stem Cells and Development*, In press (Online publication at 1st Sep 2011).

127. Teramura Y, Iwata H., Improvement of graft survival by surface modification with poly(ethylene glycol)-lipid and urokinase in intraportal islet transplantation. *Transplantation*. 2011 Feb 15;91(3):271-8.
128. Chen H, Teramura Y, Iwata H., Co-immobilization of urokinase and thrombomodulin on islet surfaces by poly(ethylene glycol)-conjugated phospholipid. *J Control Release*. 2011 Mar 10;150(2):229-34.
129. Kato K, Iwata H., High-throughput analyses of gene functions on a cell chip by electroporation. *Methods Mol Biol*. 2011;706:181-90.
130. Konagaya S, Kato K, Nakaji-Hirabayashi T, Iwata H., Design of culture substrates for large-scale expansion of neural stem cells. *Biomaterials*. 2011 Feb;32(4):992-1001.
131. Yamaguchi, S., Hirano, K., Nagata, S., and Tada, T. (2011). Sox2 expression effects on direct reprogramming efficiency as determined by alternative somatic cell fate. *Stem Cell Research* 6, 177-186.
132. Jungwook Park, Shuhei Nishida, Pierre Lambert, Hideki Kawakatsu and Hiroyuki Fujita, "High-resolution cantilever biosensor resonating at air-liquid in microchannel," *Lab Chip*, in press, 2011, DOI:10.1039/C1LC20608G.
133. Boonchai Techaumnat and Masao Washizu: "Equivalent image charges of a prolate spheroid under an external electric field", *Journal of Electrostatics*, Vol.69, No.4, p.388-393 (2011)
134. Yuji Kimura, Murat Gel, Boonchai Techaumnat, Hidehiro Oana, Hidetoshi Kotera, Masao Washizu: "Dielectrophoresis-assisted massively parallel cell pairing and fusion based on field constriction created by a micro-orifice array sheet", *Electrophoresis* 2011, 32, 2496–2501 (2011)
135. Takuya Saito, Takahiro Sakaue, Daiji Kaneko, Masao Washizu and Hidehiro Oana: "Folding dynamics of tethered giant DNA under strong flow", *Journal of Chemical Physics* Vol.135, No.15 p. 154901-1 - 154901-5 (5 pages) (2011)
136. 三浦 岳、"上皮細胞の極性を用いた in vitro における三次元組織構造形成"数理研講究録 1748, 125-133 (2011)
137. Ryuzo Arai, Masahiko Kobayashi, Yoshinobu Toda, Shinichiro Nakamura, Takashi Miura, Takashi Nakamura, "Fiber components of the shoulder superior labrum", *Surgical and Radiologic Anatomy*, in press.
138. Chen H, Teramura Y, Iwata H. Immobilization of anticoagulant-loaded liposomes on cell surfaces by DNA hybridization. *Biomaterials*. 2011 Nov;32(31):7971-7.
139. Nishigaki T, Teramura Y, Nasu A, Takada K, Toguchida J, Iwata H. Highly efficient cryopreservation of human induced pluripotent stem cells using a dimethyl sulfoxide-free solution. *Int J Dev Biol*. 2011;55(3):305-11
140. Egawa EY, Kato K, Hiraoka M, Nakaji-Hirabayashi T, Iwata H. Enhanced proliferation of neural stem cells in a collagen hydrogel incorporating engineered epidermal growth factor. *Biomaterials*. 2011 Jul;32(21):4737-43.
141. Luan NM, Teramura Y, Iwata H. Immobilization of soluble complement receptor 1 on islets. *Biomaterials*. 2011 Jul;32(20):4539-45.
142. Takemoto N, Teramura Y, Iwata H, Islet surface modification with urokinase through DNA hybridization, *Bioconjug Chem*. 2011 Apr 20;22(4):673-8.
143. Sakurai K, Teramura Y, Iwata H., Cells immobilized on patterns printed in DNA by an inkjet printer. *Biomaterials*. 2011 Feb 23. [Epub ahead of print]
144. K. Terao, A. Okonogi, A. Fuke, T. Okitsu, T. Suzuki, M. Washizu, H. Kotera: "Localized substance delivery to single cell and 4D imaging of its uptake using a flow channel with a lateral aperture", *Microfluidics and Nanofluidics* 12(1), 423-429 (2012).

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

1. Miura T.: Modeling Lung Branching Morphogenesis. *Curr. Top. Dev. Biol.*, **81**, 291-310 (2008).
2. Arima Y., Teramura Y., Takiguchi H., Kawano K., Kotera H. and Iwata H.: Surface plasmon resonance and surface plasmon field enhanced fluorescence spectroscopy for sensitive detection of tumor markers, *Methods in Molecular Biology*, **503: Biosensors and Biodetection: Methods and Protocols, Optical-based Detectors** (Rasooly A., Herold K.E. Eds., Humana Press, Totowa, USA) 3-20 (2008).
3. Arata H. F., Kumemura M., Sakaki N., Fujita H.: Towards single biomolecule handling and characterization by MEMS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **391(7)**, 2385-2393 (2008).
4. 岩田博夫, 有馬祐介:再生医療と幹細胞研究に関連した高分子材料, *高分子*, **57**, 917-922 (2008).
5. 上田祐介, 寺村裕治, 岩田博夫:膵細胞—糖尿病の治療を目指して—, *バイオマテリアル*, **26**, 62-66 (2008).
6. Kato K., Ko I.-K., Ishimuro T., Toda M., Arima Y., Hirata I., Iwata H.: High-throughput cytometry using antibody arrays. *Biomaterials in Asia* (T. Tateishi, ed., World Scientific Publishing Co Pte Ltd., Singapore) in press.
7. Kuraishi K., Iwata H., Nakano S., Kubota S., Tonami H., Toda M., Toma N., Matsushima S., Ogawa S., Taki W. Development of nano-fiber covered stents using electrospinning. *In vitro and acute phase in vivo experiments*. *J. Biomed. Mat. Res. Part B: Appl. Biomater.* in press.
8. 三浦岳, 頭蓋骨縫合線のパターン形成(予稿), *数理研講究録* 1633, 29-38(2009)
9. 三浦岳, 肺の枝分かれの形成機構, *数理研講究録* 1663, 52-58 (2009)
10. 三浦岳・長山雅晴 反応拡散系の生物のパターン形成現象への応用 *蛋白質核酸酵素* **55(1)** 114-122(2010)。
11. 多田高, リプログラミングの未来と過去, 「幹細胞研究の最近の進歩」(須田年生 監修) pp568-580 (最新医学社 増刊号 64 巻 802 号, 最新医学社, 2009)
12. 多田 高, 細胞融合と「核のリプログラミング」, 「細胞核の初期化メカニズム 多能性・全能性獲得のナゾに迫る」 pp28-33 (メディカルバイオ 6 巻 5 号, オーム社, 2009)
13. 多田 高, 幹細胞と細胞核構造, 「細胞核—遺伝情報制御と疾患」(平岡 泰・原田昌彦・木村宏・田代聡 編集) pp2847-2852 (実験医学 増刊号 27 巻 17 号, 羊土社, 2009)
14. S. Kondo and T. Miura “Reaction-Diffusion model as a Framework for Understanding Biological Pattern Formation” *Science*. **329**, 1616-20 (2010).
15. 多田 高; ヒト iPS 細胞の迅速な初期神経幹細胞分化:マウス iPS 細胞のリン酸化阻害剤への反応性の違い
16. 一次世代 iPS 医療—医学のあゆみ(梅澤明弘 編集)in press, (医歯薬出版株式会社、東京)
17. Hirano, K. and Tada, T.: Cell fusion-mediated nuclear reprogramming of somatic cells. In "Nuclear reprogramming and stem cells" Ed. by Justin Ainscough, Sinya Yamanaka and Takashi Tada (Springer, USA), in press.
18. Toyoda, M., Nagata, S., Makino, H., Akutsu, H., Tada, T. and Umezawa, A.: Generation of induced pluripotent stem cell from human amnion cells. In "Lineage-specific differentiation of human embryonic and induced pluripotent stem cells methods and protocols" Ed. by Kaiming Ye and Sha Jin (Humana Press, USA), in press.

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演 (国内会議 52 件、国際会議 25 件)

1. 小寺秀俊:「細胞機能計測と再生実験用マイクロデバイスの開発」, 次世代医療システム産業化フォーラム,京都大学,2006年12月6日
2. 小寺秀俊:「再生医療に向けたバイオ/ナノハイブリッドプラットフォーム技術の構築/Development of bio/nano hybrid platform technology towards regenerative medicine」, 第17回日本MRS学術シンポジウム, 日本大学,2006年12月9日
3. 小寺秀俊:「マイクロマシンを利用した医療用および細胞機能計測用マイクロデバイス」, 応用物理学会,青山学院大学,2007年3月27日
4. Tada T: "Cre-dependent elimination of *loxP*-tagged chromosomes from mouse ES-somatic hybrid cells", 23<sup>rd</sup> Radiation Biology Center International Symposium -Stem Cells and Their Chromosomes-, Kyoto, 2007年3月16-17日
5. 多田高:「体細胞を多能性幹細胞に変える新技術 - 再プログラム化と染色体除去 -」, 第5回兄弟臨床心血管再生研究会シンポジウム・キーノートレクチャー, 京都, 2007年3月6日
6. 松村寛行、多田政子、尾辻智美、安近健太郎、中辻憲夫、多田高:「体細胞融合 ES 細胞核からの染色体除去」,「幹細胞の可塑性と未分化性維持機構」公開シンポジウム・カッティングエッジレクチャー, 東京, 2007年2月19-20日
7. 多田高,“細胞融合による体細胞再プログラム化と染色体除去”,京都大学再生医科学研究所平成18年度学術講演会, 京都, 2007年10月11日
8. Hiroyuki Fujita(Univ. of Tokyo), Two decades of MEMS -from surprise to enterprise-,MEMS 2007 KOBE-20th IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems, 2007/1/21-25, 神戸ポートピアホテル
9. Hiroyuki Fujita: Advances in Micro-and Nano-Mechanical Devices, From Micro to Nanotechnologies, 2007/5/17, "Italian Cultural Institute, Tokyo"
10. Hiroyuki Fujita(Univ. of Tokyo), BEANS: Hetero-Functional Integrated Device having Large Impact to the Society in 20 Years, The 13th International Micromachine/Nanotech Symposium-MEMS Frontier: Innovation Devices by Micro and Nano-Bio Fusion Create New Lifestyles-, 2007/7/26,東京ベイ有明ワシントンホテル
11. Hidetoshi Kotera(Kyoto Univ.), Bio Nano Platform for regenerated Medicine,The 13th International Micromachine/Nanotech Symposium-MEMS Frontier: Innovation Devices by Micro and Nano-Bio Fusion Create New Lifestyles-, 2007/7/26,東京ベイ有明ワシントンホテル
12. Takashi Miura(Kyoto Univ.), “Modelling lung branching morphogenesis”, The Joint Annual Meetings of the Society for Mathematical Biology and the Japanese Society for Mathematical Biology: Fairmont Hotel,2007/8/31, San Jose, California
13. Tada, T,Molecular Mechanisms of Nuclear Reprogramming by Cell Fusion, NRW Satellite Symposium ”Reprogramming of Somatic Cells for the Therapy of Heart Disorders”, 2007/10/9-10, Dusseldorf, GERMANY
14. Hiroyuki Fujita(Univ. of Tokyo), Dominique Collard: "LIMMS et CIRMM-CNRS: 12 ans de recherche en collaboration entre le CNRS et l'IIIS/Universite de Tokyo en microtechnologie-la recette avec differents ingredients pour mener une collaboration fructueuse entre le Japon et la France",JOURNEE FRANCOPHONE DE LA RECHERCHE フランス語による科学シンポジウム JFR707", 2007/10/19, 在日フランス商工会議所
15. Hiroyuki Fujita(Univ. of Tokyo)," MEMS for Bio Molecular Handling, Characterization and Utilization",CNSI-CNBI Symposium on NanoBiotechnology,, 2007/11/1-2,CNSI Auditorium, UCLA, Los Angeles
16. Tada, T, Cell fusion-mediated Nuclear Reprogramming and Pluripotency Factor Nanog, Stem Cell Seminar in Institute for Stem Cell Research, University of Edinburgh ,2007/11/28, Edinburgh, UK

17. Hidetoshi Kotera(Kyoto Univ.), Development of Bio/Nano hybrid platform technology for measuring cell functions and regenerative medicine, LIMMS Bio Nano Robo Seminar, 2007/11/29, Univ. of Tokyo,
18. 藤田博之(東京大学),MEMS/NEMS の最新技術と実用化の動向,東京一水会平成 19 年度 2 月度例会, 2007/2/14,新橋住友ビル
19. 藤田博之:高マイクロ波帯用アンテナ技術の高度化技術の研究開発,第 1 回 APAA シンポジウム, 2007/3/29, 東京大学生産技術研究所
20. 藤田博之(東京大学),ナノバイオ研究のための MEMS 技術—セキュアライフエレクトロニクスの実現を目指して—,"21 世紀 COE プログラム「未来社会を担うエレクトロニクスの展開」主催 シンポジウム豊かな社会を築くセキュアライフ・エレクトロニクス",国内会議 ,2007/1/16,東京大学本郷キャンパス工学部 2 号館 1 階 213 大講堂
21. 多田 高(京都大学),胚性幹 (ES) 細胞の体細胞再プログラム化能と応用:発生工学・疾患モデル研究会—第 62 回定例会「再生医療に向けて,基礎から応用へ」,2007/ 4/ 5, 東京
22. 多田 高(京都大学),細胞の若返り—体細胞から万能細胞を作る—:科学技術政策研究所シンポジウム—科学技術と社会をつなぐ—ナイスステップな研究者 2006 からのメッセージ—,2007/4/13, 東京
23. 多田 高(京都大学),体細胞が万能幹細胞に変わる?—再プログラム化の応用と問題点—:第 51 回 MMS 研究会特別講演,2007/ 6/15-16, 伊豆
24. 小寺秀俊(京都大学),再生医療を目指したバイオナノプラットフォームの研究開発,けいはんな第4回シーズフォーラム, 2007/7/24,中之島センタービル(関西経済連合会)
- \*25. 多田 高(京都大学),ES 細胞はいかにして万能か,国際生物学オリンピック(JBO)ハイスクールフォーラム「生物学研究の楽しさを語る」,2007/8./18, 大阪
26. 多田 高(京都大学),体細胞からの再プログラム化幹細胞—細胞融合と染色体除去—,11<sup>th</sup> Molecular Cardiovascular Conference-Keynote Lecture-, 2007/ 9/14-16,小樽
27. 山口新平,黒田貴雄,中辻憲夫,多田 高(京都大学),未分化性維持因子 Nanog の修飾と機能,第 79 回日本遺伝学会ミニシンポジウム,2007/9/19-21,岡山
28. 多田 高(京都大学),再プログラム化とゲノム,クロマチン研究会 —ゲノム・細胞核から個体発生まで—,2007/10/25-26, 三島
29. 藤田博之(東京大学),MEMS の最近の動向と今後の展望—実用化の進展,ナノ微細化,異機能の融合—,"平成 19 年度日本大学理工学部学術フロンティア マイクロ機械/知能エレクトロニクス 集積化技術の総合研究", 2007/10/27,日本大学理工学部,
30. 藤田博之(東京大学),MEMS の最新技術と実用化の動向,第 16 回センサテクノスクール 次世代センサ・アクチュエータの基礎から最先端技術, 2007/10/12,中央大学駿河台記念館
31. 小寺秀俊(京都大学),再生医療用バイオナノプラットフォーム,2007/11/24,近畿大学薬学部生涯教育研修会,近畿大学
32. 小寺秀俊,鈴木孝明(京都大学),ナノメディシン・Bio-MEMS 技術開発,日本機械学会 第 20 回計算力学講演会-CMD2007,2007/11/27,京都
33. 多田 高(京都大学),ゲノム再プログラム化と細胞融合幹細胞,京都大学再生医科学研究所平 19 年度学術講演会,2007/12/ 26, 京都
34. 鈴木孝明(京都大学),細胞機能計測および生体分子計測用 microTAS,マイクロマシーン技術交流グループ講演会,2008/3/11,香川
35. 鈴木孝明:「細胞機能計測及び生体分子計測用microTASについて」,平成 19 年度微細構造デバイス研究開発フォーラム総会及び講演会, 微細構造デバイス研究開発フォーラム,(財)かがわ産業支援財団, 香川大学 社会連携・知的財産センター, 2008 年 3 月 11 日
36. 小寺秀俊(京都大学),再生医療へ向けてのテクノロジー,2007/1/23,医工連携:「ウェルネス産業人財育成セミナー」, 京都工業会館
37. Miura Takashi, "Modelling lung branching morphogenesis", NIBB-EMBL-CRG Systems Biology and Functional Genomics Workshop, Barcelona, 2008.4.18-19.
38. Masao Washizu: "Bio-Manipulation based on Microfabricated Structures" SSDM

- 2008 Extended Abstracts of the International Conference on Solid State Devices and Materials, Tsukuba, 2008.09.26, D-9-1 (Invited) 944-945
39. 三浦岳, "Mechanism of lung branching morphogenesis", 明治大学現象数理学セミナー, 明治大学, 2008.4.24.CAE
  40. 小寺秀俊, 関西 CAE 研究会, 2008.4.25.
  41. 三浦岳, 「頭蓋骨縫合線のパターン形成」, 数理研研究集会「パターンダイナミクスの数理とその周辺」, 京都大学数理解析研究所, 2008.6.26.
  42. 岩田博夫: バイオインターフェイス □分析+デザイン+応用□. 東北大学グローバル COE プログラム「新世紀世界の成長焦点に築くナノ医工学拠点」第6回国際シンポジウム・REDEEM 第4回シンポジウム, 東京, 2008.7.12
  43. 三浦岳, "発生における自発的パターン形成: Toy model と定量", 理化学研究所「細胞・発生研究への数理科学的アプローチ」シンポジウム, 神戸理研 CDB, 2008.9.2.
  44. Tonami, H., Iwata, H. :Enzymatic protein immobilization via tyrosine oxidation. 2008 Taiwan-Japan Symposium on Nanotechnology and Nanomedicine, Kyoto, 2008.10.30.
  45. Hidetoshi Kotera, Development of Bio/Nano hybrid platform technology for measuring cell functions and regenerative medicine, International Symposium on Surface Science and Nanotechnology, Tokyo, 2008.11.12
  46. 岩田博夫: バイオインターフェイス □分析+デザイン+応用□, 第28回表面科学学術講演会, 東京, 2008.11.14.
  47. 岩田博夫, 中路 正, 加藤功一: 神経疾患の細胞に用いるバイオマテリアルの研究, 日本化学繊維研究所講演会, 東京, 2008.11.14.
  48. Hidetoshi Kotera, Development of Bio/Nano hybrid platform technology for measuring cell functions and regenerative medicine , First Egypt-Japan International Symposium, Alexandria, 2008.11.25.
  49. 岩田博夫: 再生医学を支える高分子材料, 第17回ポリマー材料フォーラム(招待講演), 広島, 2008. 11.27.
  50. T.Tada; "Nuclear Reprogramming: Pluripotent Stem Cells by Cell Fusion and iPS Induction" in International Symposium on Stem Cell Research, Seoul, Korea, 2008.12.3.
  51. Iwata H.: Biointerface - Analysis + Design + Application-.NEPTIS17 Nara, 2008. 12.7-9.
  52. 鈴木孝明: 「再生医療に向けたバイオ/ナノハイブリッドプラットフォーム技術の構築」, 第3 ウェルネス研究科(医療用機器の現状と課題), 社団法人京都工業会, 財団法人京都産業21, 京都府, 2008年12月11日
  53. 小寺秀俊, 鈴木孝明: 再生医療に向けたバイオ/ナノハイブリッドプラットフォーム技術の構築, 京都工業会ウェルネス研究科, 京都工業会館, 2008.12.11.
  54. 岩田博夫: 再生医療を用いた hybrid Artificial Pancreas, 第46回日本人工臓器学会大会, 東京 2008.12.27-29.
  55. 三浦岳: 「似てるものは同じ?」離散力学系の分子細胞生物学への応用数理、京都大学数理解析研究所、2009.1.6.
  56. 多田 高: ES 細胞および iPS 細胞を利用した薬理・トキコロジー研究とその将来: 「第36回日本トキコロジー学会学術年会, 特別講演」(2009. 7. 6-8, 盛岡)
  57. T. Suzuki, K. Terao: "Development of an Assembly-Free 3D Lithography for Bio-Microsystems", IEEE International Conference on Nano/Molecular Medicine & Engineering 2009 (IEEE-NANOMED 2009), Oct. 2009, Tainan, Taiwan (2009).
  58. Okitsu T. Islet Transplantation in Japan. 2009 Joint Conference of 10th CTS (Cell Transplant Society) and 36th JSOPMB (Japan Society for Organ Preservation and Medical Biology), April 20-21, Okayama, JAPAN
  59. 興津 輝、豊田健太郎、稲垣暢也、上本伸二: 膝島移植のトランスレーショナルリサーチ.

- Featured Symposium「ポストゲノム時代の糖尿病研究—トランスレーショナルリサーチを目指して—」. 第 52 回日本糖尿病学会年次学術集会 2009 年 5 月 大阪.
60. 鈴木孝明:「アセンブリフリー回転傾斜露光法とそのバイオ応用」, 第 5 回量子ビームによるナノバイオエレクトロニクス技術調査専門委員会, 電気学会「量子ビームによるナノバイオエレクトロニクス技術調査専門委員会」, 産業総合技術研究所四国センター, 2009 年 8 月 19 日
  61. T, Suzuki: “Development of an Assembly-Free 3D Lithography for Bio-Microsystems,” IEEE-NANOMED 2009, IEEE, TAINAN, TAIWAN, 2009 年 10 月 18-21 日
  62. 小寺秀俊: 15:23 Development of Bio/Nano hybrid platform technology for measuring cell functions and regenerative medicine. ナノバイオロジ- による基礎生物学の新展開 (Nanobiology as a foundation of basic biology). 第 32 回分子生物学会 2009 年 12 月 横浜
  63. T. Suzuki: “Assembly-free 3D lithography for bio-microsystems,” Taiwan Japan Bilateral Symposium on Research of Nanotechnology (先端ナノテク研究シンポジウム), 財団法人交流協会と台湾国家科学委員会の共同事業, TAINAN, TAIWAN, 2009 年 12 月 1-2 日
  64. 鈴木孝明:「マイクロデバイスを用いた細胞・染色体解析技術」, 第 4 回月例セミナー, 香川大学 植物ゲノム・遺伝子源解析センター, 2010 年 1 月 22 日
  65. 鈴木孝明:「アセンブリフリー回転傾斜露光法とそのバイオ応用」, 第 117 回講演会, ラドテック研究会, 2010 年 4 月 14 日
  66. 小寺秀俊: マイクロ TAS デバイスを用いた細胞機能評価と組織再生実験. 2010 年秋季第 71 回応用物理学会学術講演会招待講演 長崎, 2010.9.14,
  67. 小寺秀俊: マイクロ・ナノ工学を取り巻く現状. 第 2 回マイクロ・ナノ工学シンポジウム招待講演 島根, 2010.10.13
  68. H.Kotera: Micro TAS for re-generative medicine. SEMICON Taiwan2010, Taiwan, 2010.9.
  69. 鈴木孝明:「同心円マイクロメッシュ構造を用いた高速染色体解析デバイス」, 第 1 回先端ナノバイオフォーラム, 兵庫県立大学 高度産業科学技術研究所, 2010 年 11 月 15 日.
  70. 鈴木孝明:「マイクロ・ナノ加工技術とその応用」将来加工技術第 136 委員会 第 11 回研究会 (合同), 日本学術振興会 将来加工技術第 136 委員会, 2010 年 11 月 19 日
  71. 鈴木孝明:「アセンブリフリー単一マスク回転傾斜露光法の開発とバイオ応用」, 第 4 回大学等の研究シーズ発表会 —香川の最先端ものづくり技術—, JST イノベーションサテライト徳島, 2010 年 12 月 9 日.
  72. 鈴木孝明:「マイクロデバイスを用いた細胞・染色体解析技術」, 若手医工連携研究者のネットワーク形成と独創的生体医工学研究テーマの設定のための講演会, 徳島大学ソシオテクノサイエンス研究部, 徳島大学工学部, 2011 年 1 月 14 日
  73. Hiroyuki Fujita, “New Trends of MEMS/NEMS Based on Heterogeneous Process Integration-Towards Life/Green Innovation,” Transducers' 11 (The 16th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems), Beijing, China, 2011/06/05.
  74. 藤田博之, 「バイオ MEMS の概要と最近の展開」, 第 15 回シリコン・フォトニクス研究会講演, 13-18 ページ, 東京, 2011/7/19
  75. 三浦 岳 (京都大学), 上皮間葉間相互作用による肺枝分かれ構造形成, 日本数理生物学会, 明治大学, 2011 年 9 月 13 日
  76. 三浦 岳 (京都大学), 発生における細胞外シグナル因子の拡散ダイナミクス, 生物数学の理論とその応用, 京都大学数理解析研究所, 2011 年 9 月 26-30 日
  77. 寺尾京平: “微細加工・操作技術を用いた生体物質計測デバイス”, 大学・高専連携シーズ発表会 2011, 2011/9/16, 香川大学工学部, 高松

## ② 口頭発表

(国内会議42件、国際会議24件)

1. 鈴木孝明, 山本英郎, 大岡正孝, 神野伊策, 鷺津正夫, 小寺秀俊:「Single-MASK 傾斜 UV リソグラフィを用いたエレクトロポレーションチップの開発」, JSME 流体力学部門講演会, p.92, 東洋大学川越キャンパス(埼玉県川越市), 2006年10月28-29日
2. 新宅博文, 桑原健雄, 川野聡恭, 鈴木孝明, 神野伊策, 小寺秀俊:「マイクロチャネルを用いた機能性高分子ゲルの微粒化」, JSME 流体力学部門講演会, p.94, 東洋大学川越キャンパス(埼玉県川越市), 2006年10月28-29日
3. 新宅博文, 川野聡恭, 鈴木孝明, 神野伊策, 小寺秀俊:「細胞分離における生体細胞の破壊とその評価方法」, JSME 流体力学部門講演会, p.108, 東洋大学川越キャンパス(埼玉県川越市), 2006年10月28-29日
4. 鈴木孝明(京都大学), 秦秀敏, 新宅博文, 神野伊策, 小寺秀俊:「圧電アクチュエータを用いた進行波型バルブレスマイクロポンプの開発」, 第15回MAGDA2006 in 桐生, pp.24-29, 桐生市市民文化会館(群馬県桐生市), 2006年11月1-2日
5. Osamu Kurosawa Hidehiro Oana, Satoshi Matsuoka, Akinori Noma, Hidetoshi Kotera and Masao Washizu: "On-chip electroporation using field constriction at a micro-orifice", Proc. nanobio-tokyo, p.81-84 2006.12.04 The University of Tokyo (2006)
6. Matsumura, H., Tada, M., Hirano, K., Nakatsuji, N., Tada, T.: "Epigenotype of reprogrammed somatic chromosomes by cell fusion with embryonic stem cells", International Genomic Imprinting Workshop 2006 (2006.11.30-12. 1, Tokyo JAPAN)
7. 黒田貴雄, 木村博信, 多田政子, 中辻憲夫, 多田高:「未分化性維持因子 NANOG の細胞周期依存的リン酸化」, 日本分子生物学会 2006 フォーラム「分子生物学の未来」(2006.12. 6-8, 名古屋)
8. 松村寛行, 多田政子, 中辻憲夫, 多田高:「再プログラム化と染色体除去による MHC 個人適応型融合細胞」, 日本分子生物学会 2006 フォーラム「分子生物学の未来」(2006.12. 6-8, 名古屋)
9. 志牟田耕平, 鈴木孝明, 小此木孝仁, 神野伊策, 小寺秀俊:細胞固定チップのオリフィス構造上で培養される細胞の評価, 日本機械学会 2007 年度年次大会, 2007/9/9-12, 大阪
10. 平林恭稔, 新宅博文, 鈴木孝明, 神野伊策, 小寺秀俊:超音波放射圧を利用した細胞分離法に関する研究, 日本機械学会 2007 年度年次大会, 2007/9/9-12, 大阪
11. 平丸大介, 三浦岳, 鈴木孝明, 神野伊策, 小寺秀俊:自己組織化脈管構造と結合する MEMS デバイスの開発, 日本機械学会 2007 年度年次大会, 2007/9/9-12, 大阪
12. Takaaki Suzuki, Hideo Yamamoto, Masataka Ohoka, Isaku Kanno, Masao Washizu, and Hidetoshi Kotera, "A low-damage cell trapping array fabricated by single-mask multidirectional photolithography with equivalent circuit analysis" The 11th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS2007), pp.1765-1767, Paris, France, 2007/10/7-11
13. 鈴木孝明, 山本英郎, 大岡正孝, 神野伊策, 鷺津正夫, 小寺秀俊:Single-Mask 回転傾斜リソグラフィを用いた細胞固定アレイの設計, 第24回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 2007/10/16-17, 東京
14. Boonchai Techaumnat, Osamu Kurosawa, Gel Murat, and Masao Washizu: "High-yield electrofusion of cells using electric-field constriction" International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science (IEEE MHS), 2007/11/11-14, 2007
15. 小此木 孝仁, 鈴木 孝明, 寺尾 京平, 大岡 正孝, 鷺津 正夫, 小寺 秀俊:接触性細胞間コミュニケーションによる膵島機能制御を解析するための細胞アレイの構築, 第30回日本分子生物学会, 2007/12/11-15, 横浜
16. 岩田博夫:見た目が9割□表面+細胞□、第47回生体医工学会大会, 神戸, 2008.5.8.
17. Kato K., Hiraoka M., Nakaji-Hirabayashi T., Iwata H.: Collagen-binding chimeric

- proteins for the improved survival of neural progenitor cells entrapped in collagen scaffolds. 8th World Biomaterials Congress, Amsterdam 2008.5.29-6.1.
18. 朴 紘 昱 フォーク型カンチレバーインスリンセンサー, 電気学会研究会資料, センサ・マイクロマシン部門総合研究会, 東北大学, 2008年6月12日
  19. 中路正, 加藤功一, 岩田博夫:二量体形成能を持つ増殖因子キメラ蛋白質の合成とその神経幹細胞培養基材への応用, 第37回医用高分子シンポジウム, 東京, 2008.7.28-29.
  20. 乾靖, 寺村裕治, 岩田博夫:高分子材料と生体との相互作用 — 両親媒性高分子と生細胞 —, 第37回医用高分子シンポジウム, 東京, 2008.7.28-29.
  21. 千歳裕之, 平丸大介, 三浦岳, 鈴木孝明, 神野伊策, 小寺秀俊:MEMS デバイスを利用した血管構造への流体導入に関する研究, 日本機械学会 2008年度年次大会, Vol.8, pp.37-38, 横浜国立大学(神奈川県横浜市), 2008/8/3-7.
  22. 寺村裕治, 乾靖, 金田成弘, 岩田博夫:両親媒性高分子を用いた移植用細胞の表面修飾剤の開発, 第57回高分子討論会, 大阪, 2008.9.24.
  23. 有馬祐介, 岩田博夫:フィブロネクチン/アルブミン競争吸着表面での細胞接着, 第57回高分子討論会, 大阪, 2008.9.24.
  24. 川越雅子, 有馬祐介, 戸田満秋, 岩田博夫:水酸基を持つ高分子による補体活性化, 第57回高分子討論会, 大阪, 2008.9.24.
  25. 上田祐介, 藤田聡, 岩田博夫:Feeder 細胞を排除した培養基材表面上での♂霊長類 ES 細胞の培養, 第57回高分子討論会, 大阪, 2008.9.24.
  26. 戸田 満秋, 有馬 祐介, 岩田 博夫:末端メキシ化 PEG 担持表面の劣化による血清補体の活性化, 第57回高分子討論会, 大阪, 2008.9.24.
  27. 苗村祥太, 寺村裕治, 岩田博夫:両親媒性高分子を用いた細胞の配列手法の研究, 第57回高分子討論会, 大阪, 2008.9.24.
  28. 江田昇平, 井上祐貴, 岩田博夫:デンドリマー修飾電極を用いたエレクトロポレーション法による細胞への遺伝子導入, 第57回高分子討論会, 大阪, 2008.9.24.
  29. Murat Gel, Yuji Kimura, Boonchai Techaumnat, Osamu Kurosawa and Masao Washizu "Fabrication of Three-dimensional Structure by self-forming meniscus and its application to on-chip cell fusion," 12th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, San Diego, California, USA, 2008.10.12-16.
  30. Y. Morimoto, K. Kuribayashi and S. Takeuchi, "Formation of Monodisperse Microsized-Emulsions using an Axisymmetric Flow-Focusing Device Fabricated by Photolithography and Stereolithography", The 25th Sensor Symposium, Okinawa, Japan, 2008.10.22-24.
  31. N. C. H. Le, D. V. Dao, R. Yokokawa, J. C. Wells, and S. Sugiyama, "A Dual-Color Total Internal Reflection (Tir)-Based Chip for Simultaneous Detection of Two Fluorophores," The 7th Annual IEEE Conference on Sensors (SENSORS2008), pp. Lecce, Italy, 2008.10.26-29.
  32. N. C. H. Le, D. V. Dao, R. Yokokawa, J. Wells, and S. Sugiyama, "Highly-Sensitive Dual-Fluorescence Detection and Imaging with Integrated Dual-Color Total Internal Reflection (Tir)-Based Chip," IEEE Int'l Symposium on Micro-Nano Mechatronics and Human Science (IEEE MHS 2008), Nagoya, Japan, 2008.11.6-9.
  33. Y. Kimura, M. Gel, B. Techaumnat, O. Kurosawa, K. Tsuda, H. Oana, H. Kotera, T. Tada and M. Washizu. "A Novel Cell Manipulation Device for Cytoplasmic Transplantation", IEEE Int'l Symposium on Micro-Nano Mechatronics and Human Science (IEEE MHS 2008), Nagoya, Japan, 2008.11.6-9.
  34. 寺村裕治, 岩田博夫:ポリエチレングリコール結合脂質による膜島の表面修飾と生着率の評価, 第46回日本人工臓器学会, 東京, 2008.11.29
  35. R. Yokokawa, N. C. H. Le, D. V. Dao, J. C. Wells, and S. Sugiyama, "Development and Application of Tir-Based Chip Based on Mems Thechnology," The first International Symposium on Micro/Nano Systems Technology, pp. 149-154, Hanoi,

- Viet Nam, 2008.12.18-21.
36. Y. Morimoto, Y. Tsuda and S. Takeuchi, "Reconstruction of 3D hierarchic micro-tissues using monodisperse collagen microbeads", MEMS 2009, Sorrento, Italy, 2009.1.25-20.
  37. Atsuhito Okonogi, Kyohei Terao, Teru Okitsu, Takaaki Suzuki, and Hidetoshi Kotera. "DEVELOPMENT OF A TISSUE-LIKE CHIP TO EXCLUSIVELY STIMULATE SINGLE CELL AND DETECT ITS PHYSIOLOGICAL REACTION", 2009 JSME-IIP/ASME-ISPS Joint Conference on Micromechatronics for Information and Precision Equipment (MIPE 2009), Tsukuba International Congress Center, Ibaraki, Japan, June 17-20, 2009
  38. Daisuke HIRAMARU, Takaaki SUZUKI, Ariko FUKUE, Hiroyuki SUZUKI, Isaku KANNO, Hidetoshi KOTERA, "DEVELOPMENT OF A NOVEL METHOD FOR STRETCHING DNA FIBERS ON MICROBRIDGES FABRICATED BY SINGLE-MASK INCLINED UV LITHOGRAPHY," Proceedings of the 2009 JSME-IIP/ASME-ISPS Joint Conference on Micromechatronics for Information and Precision Equipment [MIPE2009], pp.325-326, Ibaraki, Japan, 2009/6/17-20
  39. 平丸大介,千歳裕之,小此木孝仁,寺尾京平,三浦岳,鈴木孝明,神野伊策,小寺秀俊,: 「VEGF含有ビーズを用いたマイクロ流路への脈構造 誘導形成に関する研究」, 日本機械学会 2009年度年次大会 [URL], Vol.8, pp.245-246, 岩手, 2009/9/13-16
  40. 小此木 孝仁, 興津 輝, 寺尾 京平, 鈴木 孝明, 大岡 正孝, 小寺 秀俊, 任意の細胞への薬剤刺激を与えることができるデバイスの構築, 第26回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム(東京 タワーホール船堀)2009.10.15-16.
  41. T. Miura, Modeling Lung Branching Morphogenesis, EMBL Conference Course, Heidelberg, 5/Oct/2009
  42. 三浦 岳, 自発的パターン形成における拡散と領域成長の役割:培養系での形態制御の可能性。日本バイオマテリアル学会, 京都, 2009 年11月17日
  43. 安達亜希, 竹内昌治, ハイドロゲルビーズを用いたハイスループットPCR, 第26 回センサシンポジウム, p.119, 2009.10.15-16, 東京
  44. Masao Washizu: "Bionanotechnology for the measurement, modification and utilization of cellular functions", 2009 JSME-IIP/ASME-ISPS Joint Conference on Micromechatronics for Information and Precision Equipment (MIPE 2009), June 17-20, 2009, Tsukuba International Congress Center, Ibaraki, Japan, p.321-324 (Keynote Address) (2009)
  45. Yuya Goto, Yuji Kimura, Hidehiro Oana and Masao Washizu: "Development of novel DNA optical mapping method using homologous recombination protein, RecA", 相同組換えタンパク質RecA を用いた新規オプティカルマッピング, 生物物理学会第47 会年会2TA5-06, 2009.10.31 Tokushima (2009)
  46. Y. Sato, M. Gel, K. Terao, T. Kanai, H. Atomi, T. Imanaka, M. Washizu, H. Oana, "SPACE-RESOLVED DETECTION OF PROTEIN BINDING SITES ON GENOMIC DNA BY DYNAMIC STRETCHING USING OPTICALLY DRIVEN MICROSTRUCTURES", Proc. 13th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2009), 2, 1368-1370 (2009). Jeju, Korea, 2009.11.1-5
  47. Murat Gel, Y. Kimura, O. Kurosawa, S. Suzuki, H. Oana, H. Kotera, T. Tada, M. Washizu: "Micro-orifice based cell fusion applied for the creation of cytoplasmic hybrid cells without gene mixing",  $\mu$ -TAS 2009, p.654-656, 2009.11.1-5, Jeju, Korea (2009)
  48. M. Gel, Y. Mori, Y. Kimura, O. Kurosawa, B. Techaumnat, H. Oana and M. Washizu: "Micro-orifice based cell pairing and fusion on microfluidic chip", IEEE/MHS 2009, p.517-520 (Best Paper Award 受賞論文) Nagoya, Japan 2009.11.9-11
  49. H. Oana, A. Kishimura, Y. Yamasaki, M. Washizu, and K. Kataoka, "Spontaneous

- Formation of Giant Unilamellar Vesicles from Microdroplets of a Polyion Complex by Focused Infrared Laser Irradiation", 2009 IEEE International Symposium on Micro-Nano Mechatronics and Human Science (MHS 2009), 155-160 (2009). Nagoya, Japan 2009.11.9-11
50. 鈴木博之, 平丸大介, 寺尾京平, 高尾英邦, 大平文和, 小寺秀俊, 鈴木孝明, :「遠心力によるマイクロ構造上での染色体形状操作」, 日本機械学会 情報・知能・精密機器部門講演会 (IIP 2010), pp.75-79, 東京, 2010/3/16-17
  51. 小寺秀俊: 生体分野におけるマイクロマシン技術の展開. 秋田県立大学特別講師 秋田, 2010.7.15,
  52. 寺尾京平, Murat Gel, 小此木孝仁, 興津 輝, 多田 高, 鈴木孝明, 鷺津正夫, 小寺秀俊: 第27回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム「生体内環境を模倣したマイクロ流体デバイスによる単一細胞への局所薬剤刺激」, 14-15 Oct. 2010, くにびきメッセ.
  53. 多田 高: ヒト体細胞の人工多能性幹 (iPS) 細胞化リプログラミングの効率化, 第82回日本遺伝学会大会シンポジウム「多様な生命現象におけるエピゲノム制御」 札幌, 20-22 Sep 2010
  54. 多田 高: リプログラミングされる体細胞とする因子の条件, 第43回日本発生生物学学会大会シンポジウム「Nuclear reprogramming: From germline to cloned animals」 京都, 21-23 June 2010
  55. 多田 高: 細胞融合とiPS細胞のリプログラミング, 第62回日本細胞生物学会大会シンポジウム「Epigenetic inheritance and genome reprogramming」大阪国際会議場, 19-2 1May 2010
  56. Takashi Tada: Efficiency of reprogramming of somatic cells into induced pluripotent stem cells (iPSCs), Seminar in Biology, York Univ. UK, 07 July 2010
  57. H. Suzuki, D. Hiramaru, K. Terao, H. Takao, F. Oohira, H. Kotera, and T. Suzuki, "A High-Throughput FISH Microchip for Clinical Genetics," Proceedings of The 14th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences [MicroTAS2010], pp.702-704, Groningen, Netherlands, 2010/10/3-7.
  58. 鷺津正夫マイクロデバイスを用いた細胞内物質導入・細胞質移植と細胞機能 制御第2回 マイクロ・ナノ多機能デバイス研究ネットワーク 2010.12.24 (武田)
  59. 鈴木博之, 平丸大介, 寺尾京平, 高尾英邦, 大平文和, 小寺秀俊, 鈴木孝明: 「同心円マイクロメッシュ構造を用いた高速染色体解析デバイスの開発」, 第 27 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, pp.522-527, 島根, 2010/10/14-15,
  60. 井上雅俊, 小此木孝仁, 寺尾京平, 高尾英邦, 下川房男, 大平文和, 小寺秀俊, 鈴木孝明: 「マイクロ空間が細胞の増殖性に与える影響」, 日本機械学会 2011年度年次大会, J16101, 東京, 2011/9/11-14
  61. 三浦 岳 (京都大学), Modeling lung branching morphogenesis via epithelial-mesenchymal interaction, 日本発生生物学学会, 沖縄, 9月13日
  62. 平野邦夫, 長田翔伍, 山口新平, 中川 誠, 沖田圭介, 小寺秀俊, Justin Ainscough, 多田 高, リン酸化阻害剤によるヒトとマウス iPS 細胞での異なるリプログラミング運命, 第 83 回日本遺伝学会, 9 月 20-23 日 (京都)
  63. Hiroyuki Fujita, "MEMS/NEMS for Nano and Bio technologies," 37th International Conference on Micro and Nano Engineering (MNE Berlin 2011), pp. 6, Berlin, Germany, 2011.9.20.
  64. 井上雅俊, 小此木孝仁, 寺尾京平, 高尾英邦, 下川房男, 大平文和, 小寺秀俊, 鈴木孝明: 「マイクロ空間での細胞培養における物理的/化学的影響の定量評価」, 第 28 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム [URL], B3-4 (pp.85-88), 東京, 2011/9/26-27
  65. Gel, Murat; Hirano, Kunio; Oana, Hidehiro; Kotera, Hidetoshi; Tada, Takashi; Washizu, Masao, "Microfluidic device for high-yield pairing and fusion of stem cells with somatic cells", Smart Nano-Micro Materials and Devices. Edited by Juodkazis, Saulius; Gu, Min. Proceedings of the SPIE, Volume 8204, pp. 82041G-6 (2011)

66. 三浦 岳(京都大学)、フェーズフィールド法を用いた肺の枝分かれ構造形成のモデル化、日本解剖学会、山梨大学、2012年3月26日

③ ポスター発表 (国内会議68件、国際会議72件)

1. T. Suzuki, H. Yamamoto, M. Ohoka, A. Okonogi, H. Kabata, I. Kanno, M. Washizu, and H. Kotera: "High throughput electroporation microchip fabricated by single-mask inclined UV lithography", Proceedings of Tenth International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (microTAS2006), pp.131-133, Tokyo, Japan, 2006年11月5-9日
2. T. Suzuki, H. Hata, H. Shintaku, I. Kanno, S. Kawano and H. Kotera: "Fast pulsatile flow included in net continuous flow generated by a traveling wave micropump", Proceedings of Tenth International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (microTAS2006), pp.1498-1500, Tokyo, Japan, 2006年11月5-9日
3. H. Shintaku, Y. Hirabayashi, T. Okitsu, S. Kawano, T. Suzuki, I. Kanno, and H. Kotera: "A Low Temperature Bonding Technique for Microfluidic Chip Fabrication Using Soft-Cure SU-8 Sheet", Proceedings of Tenth International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (microTAS2006), pp.681-683, Tokyo, Japan, 2006年11月5-9日
4. 志牟田耕平, 鈴木孝明, 小此木孝仁, 神野伊策, 小寺秀俊:「Single-Mask 傾斜 UVリソグラフィにより作製した細胞機能計測用チップ上での細胞培養」, 日本機械学会情報・知能・精密機器部門講演会(IIP 2007), pp.7-8, 東京工業大学(東京都目黒区), 2007年3月19-20日
5. 平林恭稔, 新宅博文, 鈴木孝明, 神野伊策, 小寺秀俊:「樹脂構造体による超音波放射圧を用いた細胞分離デバイスの開発」, 日本機械学会情報・知能・精密機器部門講演会(IIP 2007), pp.9-12, 東京工業大学(東京都目黒区), 2007年3月19-20日
6. 平丸大介, 鈴木孝明, 福家ありこ, 神野伊策, 加畑博幸, 小寺秀俊:「Single-Mask 傾斜 UVリソグラフィにより作製した橋脚構造を利用した DNA 伸展形状の制御」, 日本機械学会情報・知能・精密機器部門講演会(IIP 2007), pp.17-18, 東京工業大学(東京都目黒区), 2007年3月19-20日
7. Yamaguchi, S., Sasaki, H., Nakatsuji, N., Tada, T.,Molecular roles of Nanog in mouse germ cell development: International Symposium on Regenerative Medical Therapy,2007./9/19-20, Kyoto Japan
8. Kinya Tsuda, Murat Gel, Hidehiro Oana, Boonchai Techaumnat, Hidetoshi Kotera and Masao Washizu: "Very high yield electro cell-fusion based on field constriction at an microorifice",  $\mu$ -TAS 2007, p.1375-1377,2007
9. Murat Gel, Osamu Kurosawa, Hidehiro Oana and Masao Washizu: "Fabrication and operation of a micro orifice array chip with high electroporation efficiency",  $\mu$ -TAS 2007, p.512-514,2007
10. Murat Gel: "Fabrication of Micro Orifice Arrays in PDMS for Electroporation", CNBI-CNSI Symposium on NanoBiotechnology, Nov.,2007
11. Takaaki Suzuki, Isaku Kanno, Junya Ogawa, Kensuke Kanda, and Hidetoshi Kotera: A piezoelectric active microchannel for fluid transport in microTAS, The 11th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS2007), 2007/10/7-11, Paris, France
12. Mochizuki Atsushi and Takashi Miura, Understanding developmental phenomena by collaborations between experimental and mathematical biologies. The Joint Annual Meetings of the Society for Mathematical Biology and the Japanese Society for Mathematical Biology: Fairmont Hotel, San Jose, California, July 31-August 3

13. 三浦 岳、Cyst-branch difference of chick lung results from different morphogen diffusion coefficient. 日本発生生物学会,2007/5/30,福岡,
14. Takashi Miura, Naoki Morimoto, Naomichi Ogihara and Kohei Shiota、Noninvasive observation of mouse skull using microCT. 日本先天異常学会,2007/7/7
15. Takashi Miura, Naomichi Ogihara, Masato Kinboshi and Kohei Shiota. Time course observation of mouse skull development using microCT. 日本解剖学会,2008/3/23
16. 嵐琢紀・黒澤修・小穴英廣・小寺秀俊・鷺津正夫:「エレクトロポレーションを用いた単一細胞への物質の逐次導入と膜修復時間測定」化学とマイクロ・ナノシステム研究会(CHEMINAS) p.34,2007/10/30-31, つくば
17. 黒澤修・小穴英廣・小寺秀俊・鷺津正夫:「電界集中を利用したオンチップエレクトロポレーション:エレクトロポレーション後の細胞の生存性に関する検討」化学とマイクロ・ナノシステム研究会(CHEMINAS) p.35,2007/10/30-31, つくば
18. 津田欣哉・Gel Murat・Boonchai Techaumnat・小穴英廣・小寺秀俊:「微細オリフィスへの電界集中を用いた高収率電氣的細胞融合法」化学とマイクロ・ナノシステム研究会(CHEMINAS) p.66,2007/10/30-31, つくば
19. ゲルムラト・黒澤修・鷺津正夫:「微細オリフィスチップの製作とチップ利用したエレクトロポレーション法」化学とマイクロ・ナノシステム研究会(CHEMINAS) p.89(,2007/10/30-31, つくば
20. 千歳裕之、平丸大介、三浦岳、鈴木孝明、神野伊策、小寺秀俊:MEMS デバイス上における血管増殖因子を用いた血管構造形成の誘導、日本機械学会情報・知能・精密機器部門講演会-IIP2008,2008/3/17-18,東京
21. Takaaki Suzuki, Daisuke Hiramaru, Ariko Fuke, Isaku Kanno, Hiroyuki Kabata, and Hidetoshi Kotera: Genetic extended-fiber network (GEN) stretched over microbridges fabricated by single-mask inclined UV lithography, The 14th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers'07), pp.2163-2166, Lyon, France, 2007/6/10-14
22. Takaaki Suzuki, Hideo Yamamoto, Masataka Ohoka, Atsuhito Okonogi, Hiroyuki Kabata, Isaku Kanno, Masao Washizu, and Hidetoshi Kotera: High throughput cell electroporation array fabricated by single-mask inclined UV lithography exposure and oxygen plasma etching, The 14th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers'07), pp.687-690, Lyon, France, 2007/6/10-14
23. 松村寛行、多田政子、中辻憲夫、多田 高、再プログラム化融合細胞の MHC 個人対応化,第 79 回日本遺伝学会,2007/9/19-21,岡山
24. 尾辻智美、松村寛之、鈴木達也、中辻憲夫、多田 高、多田政子,ES 融合細胞での Cre-inverted loxP システムによる早期染色体除去と欠失誘導, 第 79 回日本遺伝学会,2007/9/19-21, 岡山
25. 尾辻智美、松村寛行、鈴木達也、中辻憲夫、多田 高、多田政子,ES 融合細胞での Cre-inverted loxP システムによる早期染色体除去と欠失誘導, 第 58 回日本染色体学会・第 17 回染色体コロキウム 2007 年合同年会,2007/11/26-28. 葉山
26. 尾辻智美、松村寛行、鈴木達也、中辻憲夫、多田 高、多田政子,ES 融合細胞での Cre-inverted loxP システムによる早期染色体除去と欠失誘導, 第 30 回日本分子生物学会 / 第 80 回日本生化学学会合同大会 BMB2007 ,2007/12/11-15, 横浜
27. 山口新平、佐々木裕之、中辻憲夫、多田 高、マウス Nanog の生殖細胞における役割:第 30 回日本分子生物学会 / 第 80 回日本生化学学会合同大会 BMB2007,2007/12/11-15, 横浜
28. Techaumnat Boonchai、黒澤、Murat Gel、小穴英廣、鷺津正夫、「Improvement of electrofusion yield by electric field constriction」, 17th CHEMINAS, 福岡,, 2008.5.20.
29. 倉澤 知隆、黒澤 修、鷺津 正夫、「マイクロチップを用いた細胞応答計測の研究」, 17th

- CHEMINAS, 福岡,, 2008.5.20.
30. ゲル・ムラト, 木村祐史, Boonchai Techaumnat, 津田欣哉, 鷺津正夫, 「表面張力による自己組織化する3次元微細構造体を用いる微細孔の製作方法とオンチップ細胞融合への応用」, 17th CHEMINAS, 福岡, 2008.5.20.
  31. 木村祐史, Gel Murat, Boonchai Techaumnat, 津田欣哉, 小穴英廣, 小寺秀俊, 多田高, 鷺津正夫「電界集中を用いた高収率大量並列電氣的細胞融合デバイスの開発」, 17th CHEMINAS, 福岡, 2008.5.20.
  32. 黒澤修, 小穴英廣, 小寺秀俊, 鷺津正夫, 「電界集中を利用したオンチップエレクトロトランスフェクション 遺伝子導入のためのパルス条件の検討」, 17th CHEMINAS, 福岡, 2008.5.21.
  33. Yuji Teramura and Hiroo Iwata, “Surface modification of islets with urokinase for prevention of thrombosis formation”, 8th World Biomaterials Congress, Amsterdam 2008.5.29-6.1.
  34. Agudelo C.A., Teramura Y., Iwata H.: In vivo study on the long-term function of agarose-encapsulated islets after cryopreservation. 8th World Biomaterials Congress, Amsterdam 2008.5.29-6.1.
  35. Arima Y., Iwata H.: Effect of adsorbed fibronectin and albumin on cell adhesion to well-defined surface, 8th World Biomaterials Congress, Amsterdam 2008.5.29-6.1.
  36. Toda M, Iwata H.: Activation of the complement system on NH<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub> and NH<sub>2</sub>/COOH mixed self-assembled monolayers. 8th World Biomaterials Congress, Amsterdam 2008.5.29-6.1.
  37. Nakaji-Hirabayashi, T., Kato, K., Iwata, H.: Epidermal growth factor signaling at cell-substrate interfaces. 8th World Biomaterials Congress, Amsterdam 2008.5.29-6.1.
  38. Atsuhito Okonogi, Construction of Cell-Array Device on which Intensive Stimulation can be Exclusively Given to the Designated Cells, The 4th Asia Pacific Conference on Transducers and Micro/Nano Technologies ( APCOT 2008), Tainan, Taiwan, 2008.6.24
  39. Kyohei Terao, Atsuhito. Okonogi, Teru Okitsu, Takaaki Suzuki, Masao Washizu, Hidetoshi Kotera, Lateral cell trapping on chip fabricated by multidirectional UV lithography for high-resolution intracellular dynamics study, Asia-Pacific Conference on Transducers and Micro-Nano Technology 2008, Tainan, 2008/6/22-25.
  40. Atsuhito Okonogi, Imaging of Physiological Cellular Stimulation-Response Phenomena on Tissue-Reproducing Cell Array Device, The 12th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (micro:TAS 2008 Conference), San Diego, California, USA, 2008.10.14
  41. Kyohei Terao, Atsuhito. Okonogi, Teru Okitsu, Takaaki Suzuki, Masao Washizu, Hidetoshi Kotera, “4D Imaging of Intracellular Response to Localized Stimulus on Tissue-Mimicking Microdevice”, The 12th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS2008), San Diego, 2008/10/12-16.
  42. T. Suzuki, Y. Hirabayashi, I. Kanno, M. Washizu and H. Kotera, Assembly-Free Microfabrication Process for Multi-Layered Microfluidic Networks using Single-Mask Multidirectional Photolithography, The 12th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS2008), San Diego, USA, pp.363-365, 2008/10.12-16.
  43. T. Suzuki, Y. Hirabayashi, I. Kanno, M. Washizu and H. Kotera: ASSEMBLY-FREE MICROFABRICATION PROCESS FOR MULTI-LAYERED MICROFLUIDIC NETWORKS USING SINGLE-MASK MULTIDIRECTIONAL PHOTOLITHOGRAPHY, The 12th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences [MicroTAS2008], pp.363-365, San Diego,

- USA, 2008/10/12-16.
44. A. Fuke, T. Suzuki, K. Nakama, H. Kabata, and H. Kotera: HIGH-THROUGHPUT GENE ANALYSIS USING SUSPENDING DNA FIBERS (SDFs) ON A MICRO GLASS-PHONORECORD, The 12th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences [MicroTAS2008], pp.1519-1521, San Diego, USA, 2008/10/12-16.
  45. Y. Kimura, M. Gel, B. Techaumnut, K. Tsuda, H. Oana, H. Kotera, T. Tada, and M. Washizu "High-Yield Parallel Electro-Fusion Device Based on Field Constriction at an Orifice Array", MicroTAS 2008, San Diego, 2008.10.13.
  46. 小此木孝仁, 単一細胞操作マイクロチップの開発とフェムト秒レーザによる生体膜展開, 第 25 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 2008.10.23
  47. 寺尾京平, 小此木孝仁, 興津輝, 鈴木孝明, 鷺津正夫, 小寺秀俊, 傾斜回転露光法を用いた細胞局所刺激マイクロ流体デバイスの開発, 第 25 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 沖縄コンベンションセンター(沖縄県宜野湾市), 2008.10.22-24.
  48. 鈴木孝明, 平林恭稔, 神野伊策, 小寺秀俊, 2層構造を有する細胞固定デバイスの開発, 第 25 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, pp.839-840, 沖縄コンベンションセンター(沖縄県宜野湾市), 2008.10.22-24.
  49. Le Nam Cao Hoai, Yokokawa Ryuji, Dao Dzung Viet, Wells John, Sugiyama Susumu, "Design, Analysis and Fabrication of a Dual-color Total Internal Reflection (TIR)-based Chip for Simultaneous Detection of Two Fluorophores," 第 25 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, pp. 137-140, 那覇, 2008.10.22-24.
  50. J. W. Park, MEMS resonators actuated by TbCo/FeCo Nanotributed Magnetostrictive Multilayers in Liquid Environment, The 25th SENSOR SYMPOSIUM on Sensors, Micromachines, and Applied Systems, Okinawa Convention Center, 2008.10.22-24.
  51. J. W. Park, Optimizing the condition of glutaraldehyde attachment for an immunobiosensor -by means of fluorescent labeling and AFM scanning-, The 25th SENSOR SYMPOSIUM on Sensors, Micromachines, and Applied Systems, Okinawa Convention Center, 2008.10.22-24.
  52. Adachi, Y. Morimoto, Y. Tsuda and S. Takeuchi, "Encapsulation of biomaterials in semi-permeable membrane", Proc. of the 25th Sensor Symposium, pp. 399-402, 2008.10.22-24.
  53. 木村祐史, ゲル・ムラト, テチャムナート・ブンチャイ, 黒澤修, 津田欣哉, 小穴英廣, 多田高, 小寺秀俊, 鷺津正夫, 「細胞質移植へ向けた新規細胞操作デバイスの開発」, 第 25 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 沖縄, 2008.10.22-24.
  54. 外波弘之, 滝和郎, 濱田和秀, 倉石慶太, 中野恵之, 窪田真一郎, 戸田満秋; 岩田博夫: 脳血管内治療用カバードステントの開発---カバードステントの内皮化---、日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2008, 東京, 2008.11.17.
  55. 有馬祐介, 岩田博夫: 材料極表面の官能基が細胞接着に及ぼす影響, 第 4 回日本接着学会関西支部若手研究者の会, 大阪, 2008.12.3.
  56. 木村祐史, Gel Murat, Boonchai Techaumnat, 津田欣哉, 小穴英廣, 小寺秀俊, 多田高, 鷺津正夫, 「電界集中を用いた高収率大量並列電気的細胞融合デバイスの開発」, 第 46 回日本生物物理学会年会, 福岡, 2008.12.3.
  57. Daisuke HIRAMARU, Takaaki SUZUKI, Ariko FUKU, Isaku KANNO, Hidetoshi KOTERA: Development of Rapid Fiber-FISH Process with Micro-bridges Fabricated by Inclined UV Lithography, International Symposium on Microchemistry and Microsystems 2008 [ISMM2008], Kyoto, JAPAN p.30, 2008/12/07
  58. 千歳裕之, 平丸大介, 三浦岳, 鈴木孝明, 神野伊策, 小寺秀俊, 流路・オリフィス一体型デバイス上における血管構造の誘導形成, 第 18 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会(18th CHEMINAS), p.116, 京都大学(京都市), 2008.12.08-09.

59. 鈴木 祥平, Gel Murat, Boonchai Techaumnat, 木村祐史, 小穴英廣, 鷺津正夫「電界集中型細胞融合法と融合後の現象の観察」, 18th CHEMINAS, 京都大学, 2008.12.8.
60. 黒澤修, 小穴英廣, 小寺秀俊, 鷺津正夫, 「電気泳動効果を利用したオンチップエレクトロトランスフェクション」, 18th CHEMINAS, 京都大学, 2008.12.8.
61. 倉澤 知隆, 黒澤修, 鷺津正夫, 「マイクロチップを用いた細胞応答計測の研究」, 18th CHEMINAS, 京都大学, 2008.12.8.
62. 木村祐史, ムラト・ゲル, ブンチャイ・テチャムナート, 小穴英廣, 小寺秀俊, 多田高, 鷺津正夫, 「高収率電氣的細胞融合デバイスにおけるオリフィスアレイへの効率的な細胞配置」 18th CHEMINAS, 京都大学, 2008.12.8.
63. N. C. H. Le, D. V. Dao, R. Yokokawa, J. Wells, and S. Sugiyama, "Monolithic Multicolor Total Internal Reflection (Tir)-Based Chip for Highly-Sensitive Multifluorescence Detection and Imaging," The 22nd IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS2009), Sorrento, Italy, 2009.1.25-29.
64. Y. Tsuda, M. Kato-Negishi, T. Okitsu and S. Takeuchi, "Size-controlled islet-cell spheroids for geometric analysis of insulin secretion" The 22nd IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS2009), Sorrento, Italy, 2009.1.25-29.
65. K.Iwai and S. Takeuchi, "A Dynamic Microarray with Pneumatic Valves for Selective Trapping and Releasing of Microbeads", The 22nd IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS2009), Sorrento, Italy, 2009.1.25-29.
66. 三浦岳, "Expression of proximodistal markers during chick lung development", 日本解剖学会(岡山), 2009.3.30.
67. Takaaki Suzuki, Yasutoshi Hirabayashi, Kyohei Terao, Isaku Kanno, Masao Washizu, and Hidetoshi Kotera: Single-Mask Multidirectional Photolithography with Multiple Resist Coat for Multi-Layered Microfluidic Networks, 2009 International Conference on Microtechnologies in Medicine and Biology [MMB2009], pp.52-53, Quebec, CANADA, 2009/04/01-03
68. Atsuhito Okonogi, Teru Okitsu, Kyohei Terao, Takaaki Suzuki, Masataka Ohoka, Hidetoshi Kotera, "Fabrication of cell-array device on which intended stimulation can be exclusively given to designated cells", The 19 th CHEMINAS & ISMM 2009, Hiroshima university Higashihiroshima campus, Hiroshima, Japan, May 28-29, 2009
69. 三浦 岳, 鳥類肺発生時における近遠位マーカーの発現パターン, 日本発生生物学学会, 新潟, 2009年5月29日
70. Atsuhito Okonogi, Kyohei Terao, Teru Okitsu, Takaaki Suzuki and Hidetoshi Kotera, "TISSUE-MIMICKING IN VITRO ANALYSIS SYSTEM TO EXCLUSIVELY STIMULATE SINGLE CELL AND DETECT ITS PHYSIOLOGICAL REACTION", The 15th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers2009), Sheraton Denver Downtown Hotel, Denver, Colorado, USA, June 21 - 25, 2009
71. Atsuhito Okonogi, Teru Okitsu, Kyohei Terao, Masataka Ohoka, Takaaki Suzuki and Hidetoshi Kotera, "DEVELOPMENT OF A SINGLE CELL STIMULATION DEVICE TOWARD MEASURING OF CELL TO CELL COMMUNICATION", The 13th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, ICC Jeju, Jeju, Korea, November 1-5, 2009
72. T. Miura, Expression of proximodistal markers during chick lung development, ISDB meeting, Edinburgh, 6/Sep/2009
73. 長田翔伍, 山口新平, 平野邦生, 多田 高: Efficient reprogramming of primary extra-embryonic cells to pluripotent stem cells: 「第 32 回日本分子生物学会年会」

(2009.12.9-12,横浜)

74. 標葉隆馬, 川上雅弘, 川上浩司, 永田素彦, 多田高, 加藤和人:iPS 細胞・再生医療研究に関する意識調査:「第 32 回日本分子生物学会年会」(2009.12.9-12,横浜)
75. 山口新平, 栗本一基, 藪田幸宏, 佐々木裕之, 中辻憲夫, 斉藤通紀, 多田 高:マウス生殖細胞における *Nanog* 遺伝子のリプログラミング機能:「公開シンポジウム;第 218 回生殖系列の世代サイクルとエピゲノムネットワーク」(2009.11.26-27,東京)
76. 長田翔伍:ヒトおよびマウス胚体外組織細胞からの iPS 細胞誘導:「生殖サイクル若手研究会」(2009.8-27-29,御殿場)
77. Y. Kitazawa, K. Terao, A. Okonogi, R. Yokokawa, H. Kotera: “Electroosmosis-Driven Positioning of Heterotypic Cells in Open-Access Flow Chamber”, The 13th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS2009), 1234-1236, ICC Jeju, Jeju, Korea, November 1-5, 2009.
78. H. Kotake, K. Terao, A. Okonogi, R. Yokokawa, M. Gel, M. Washizu, H. Kotera: “Three-Dimensional Electroporation Chip for Realtime Monitoring of Intracellular Dynamics”, The 13th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS2009), 1159-1161, Jeju, Korea, November 1-5, 2009..
79. K. Terao, Y. Kitazawa, A. Okonogi, and H. Kotera: “Open-Access Cell Array using Electroosmotic Flow”, The 15th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers2009), 69-72, Sheraton Denver Downtown Hotel, Denver, Colorado, USA, June 21 - 25, 2009.
80. K. Terao, A. Okonogi, T. Okitsu, T. Suzuki, M. Washizu, H. Kotera: “Local Stimulation to Single Cell on Tissue-Mimicking Microfluidic Device”, The 15th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers2009), 1257-1260, Sheraton Denver Downtown Hotel, Denver, Colorado, USA, June 21 - 25, 2009.
81. 寺尾京平, ゲルムラト, 小此木孝仁, 興津 輝, 鈴木孝明, 鷺津正夫, 小寺秀俊: “マイクロ流路システムによる単一細胞への局所薬剤刺激:膝ベータ細胞極性解析への応用”, 第 32 回日本分子生物学会年会, 1P-0854 (2009.12.9-12,横浜).
82. 北澤裕子, 寺尾京平, 横川隆司, 小此木孝仁, 小寺秀俊: “電気浸透流を用いた異種細胞配置に関する研究”, 第 20 回 化学とマイクロ・ナノシステム研究会, 95 (2009.11.8-9, 金沢).
83. 小竹宏紀, 寺尾京平, 小此木孝仁, 横川隆司, ゲル・ムラト, 鷺津正夫, 小寺秀俊: “エレクトロポレーションによる細胞内物質導入のリアルタイム観察”, 第 20 回 化学とマイクロ・ナノシステム研究会, 93 (2009.11.8-9,金沢).
84. J.W. Park, N. Pereira Rodrigues, O. Ducloux, B. Charlot, T. Fujii and H. Fujita, “DEVELOPMENT OF A CALCIUM-ISFET ARRAY DEDICATED TO ENDOCRINE CELLS HIGH-THROUGHPUT ANALYSIS”, MMB 2009, April 1-3, 2009, Quebec in Canada.
85. 尾山拓未, 戸倉紘, 田中宏明, 黒澤修, ゲル・ムラト, 小穴英廣, 鷺津正夫, “マイクロテザードセルによるべん毛モータの特性測定”, 第 19 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会 (CHEMINAS), 広島大学, 2009.5.28
86. 住田洋輔, 黒澤修, ゲル・ムラト, 鷺津正夫, “電界集中を利用した微細構造デバイスによる, 細胞内への遺伝子導入および導入量観察”, 広島大学, 第 19 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会, 2009.5.28
87. 鈴木祥平, Gel Murat, Boonchai Techaumnat, 木村祐史, 小穴英廣, 鷺津正夫, “電界集中型細胞融合チップ内での融合細胞の経時観察”, 第 19 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会, 広島大学, 2009.5.29
88. 佐藤吉信, ゲル・ムラト, 寺尾京平, 金井保, 跡見晴幸, 今中忠行, 鷺津正夫, 小穴英廣, “光駆動微小構造体を用いて展開されたゲノム, DNA 上における DNA 結合タンパクの高分解能検出”, 第 19 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会, 広島大学, 2009.5.29

89. 黒澤修, 小穴英廣, 小寺秀俊, 加藤友久, 戸口田淳也, 鷺津正夫, “オンチップ型大量並列高収率エレクトロトランスフェクション”, 第 19 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会(PA15), 広島大学, 2009.5.28-29
90. 朴 梶昱, N. Pereira Rodrigues, O. Ducloux, B. Charlot, 藤井輝夫, 藤田博之, “細胞の活動計測を目指すカルシウムイオン選択性トランジスタアレイ”, 第 19 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会(19thCHEMINAS), 広島, 2009 年 5 月 24 日.
91. Takaaki Suzuki, Hideo Yamamoto, Isaku Kanno, Masao Washizu, and Hidetoshi Kotera: Assembly-Free 3-D Microfabrication Process Using Single-Mask Multidirectional Photolithography, Proceedings of the 15th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems [Transducers2009], pp.1900-1903, Denver, Colorado, USA, 2009/6/21-25
92. J.W. Park, O. Ducloux, S. Nishida, and H. Fujita, “CONTINUOUS MONITORING OF INSULIN ATTACHMENT KINETICS ON PHOTOTHERMALLY ACTUATED MICROCANTILEVER BIOSENSOR”, Transducers 2009, June 21-25, 2009, Denver in USA
93. Ducloux, J.W. Park, M. Hammon, and H. Fujita, “ MEMS RESONATORS ACTUATED BY TbCo/ FeCo NANOSTRUCTURED MAGNETOSTRICTIVE MULTILAYERS IN LIQUID ENVIRONMENT”, Transducers 2009,, June 21-25, 2009, Denver in USA
94. Kyohei Terao, Murat Gel, Atsuhito Okonogi, Teru Okitsu, Takaaki Suzuki, Masao Washizu and Hidetoshi Kotera: "Localized substance delivery to single cell by three dimensional microfluidic device", 2009 JSME-IIP/ASME-ISPS Joint Conference on Micromechatronics for Information and Precision Equipment (MIPE 2009), June 17-20, 2009, Tsukuba International Congress Center, Ibaraki, Japan (2009)
95. 林秋雯, 張雅惇, 洪敏勝, 鷺津正夫, “直流電脈衝細胞膜穿孔微流體元件之研究” The 13th Nano & Microsystem Technology Conference, Hsinchu, Taiwan, July 9-10, 2009 (論文番号 05-1174)
96. 鈴木祥平, Gel Murat, 木村祐史, 小穴英廣, 鷺津正夫, “微細オリフィスを持つ電界集中型細胞融合チップ内での融合細胞の培養”, 電気学会研究会資料 センサ・マイクロマシン部門総合研究会 バイオ・マイクロシステム研究会, BMS-09-16 p.41-44, 2009.7.23-24, 東京工科大学
97. 鈴木孝明:「高スループット三次元露光法とそのバイオ応用」, 徳島大学エンジニアリングフェスティバル 2009, p.34, 徳島, 2009/9/18
98. 齋藤拓也, ゲルムラト, 鷺津正夫, 小穴英廣, “クロマチンファイバーの折り畳み凝縮度:細胞周期の時期に対する依存性”, 日本物理学会 2009 年秋季大会, 熊本大学 黒髪キャンパス, 2009.9.26
99. 鈴木博之, 平丸大介, 福家有子, 寺尾京平, 神野伊策, 大平文和, 小寺秀俊, 鈴木孝明:「多重マスク回転傾斜露光法を用いた染色体伸張マイクロデバイスの開発」, 第 26 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム[URL], pp.432-435, 東京, 2009/10/15-16
100. Goto, Y., Kimura, Y., Oana, H. and Washizu, M. “相同組換えタンパク質 RecA を用いた新規オプティカルマッピング法の開発 (Development of novel DNA optical mapping method using homologous recombination protein, RecA)”, 第 47 回日本生物物理学会年会 2P-276, 徳島, 2009.10.31
101. Osamu Kurosawa, Hidehiro Oana, Hidetoshi Kotera, Tomohisa Kato, Junya Toguchida and Masao Washizu: "Massively parallel on-chip Electroporation device Designed for long term post-culturing",  $\mu$ -TAS 2009, p.570-572, 2009.11.1-5, Jeju, Korea
102. Yuya Goto, Yuji Kimura, Hidehiro Oana and Masao Washizu: "Novel DNA optical mapping method using homologous recombination protein, RecA", Proc. of  $\mu$ -TAS 2009, p.1527-1529, 2009.11.1-5, Jeju, Korea
103. H. Kotake, K. Terao, A. Okonogi, R. Yokokawa, M. Gel, M. Washizu and H. Kotera:

- "Three-dimensional electroporation chip for realtime monitoring of intracellular dynamics",  $\mu$ -TAS 2009, p.1159-1161, 2009.11.1-5, Jeju, Korea
104. 安達 亜希, 竹内 昌治, Hydrogel Microbeads for High Throughput PCR. microTAS2009, 2009.11.1-5, p.1769-1771, Jeju, Korea
  105. T. Suzuki, Y. Hagio, D. Hiramaru, K. Terao, A. Okonogi, I. Kanno, and H. Kotera: Three Dimensional Multi-Layered Flow Generator, Proceedings of The 13th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences[MicroTAS2009], pp.52-54, Jeju, Korea, 2009/11/1-5,
  106. T. Suzuki, D. Hiramaru, A. Fuke, I. Kanno, and H. Kotera: Stretching Method For Dna Fibers Using Multi Ringed Microbridges, Proceedings of The 13th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences[MicroTAS2009], pp.1073-1075, Jeju, Korea, 2009/11/1-5
  107. D. Hiramaru, H. Senzai, K. Terao, A. Okonogi, T. Miura, T. Suzuki, I Kanno, and H. Kotera: Development Of Novel Hybrid Biodevice With Self-Organized Vessels And Artificial Microchannels, Proceedings of The 13th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences[MicroTAS2009], pp.1186-1188, Jeju, Korea, 2009/11/1-5
  108. 平丸 大介, 鈴木 博之, 神野 伊策, 小寺 秀俊, 鈴木 孝明: 「多重マスク回転傾斜露光法による 3次元複雑マイクロ構造の作製」, 第 18 回MAGDAコンファレンス in 東京 [URL], pp.457-462, 東京, 2009/11/19-20
  109. 朴 柁  $\square$ , O. Ducloux, 永井 萌土, 藤田 博之, "The Ca<sup>2+</sup> Electrochemical Sensor for monitoring Cells' Activities", 平成 22 年電気学会全国大会, 東京, 2010 年 3 月
  110. 三浦 岳: Mechanism of lung branching morphogenesis, 日本生理学会, 盛岡, 2010 年 5 月 9 日
  111. R. Yokokawa, Y. Sakai, A. Okonogi, I. Kanno, and H. Kotera, "Force Measurement and Modeling for Motor Proteins between Microsphere and Microfluidic Channel Surface,"  $\mu$ -TAS 2010, pp. 372-374, Groningen, NETHERLANDS, Oct.3-7, 2010.
  112. A. Okonogi, K. Terao, T. Okitsu, T. Suzuki, R. Yokokawa, M. Ohka, and H. Kotera, "Development of Simple Microfluidic Cell Culturing System toward Observation of Cell-to-Cell Communication,"  $\mu$ -TAS 2010, pp. 854-856, Groningen, NETHERLANDS, Oct.3-7, 2010.
  113. K. Terao, M. Gel, A. Fuke, A. Okonogi, T. Okitsu, T. Suzuki, T. Tada, M. Washizu, and H. Kotera: "Analysis of intracellular response to localized chemical stimulation on tissue-mimicking microdevice",  $\mu$ -TAS 2010, W61A, p.1631-1633, 2010.10.4-7, Groningen, Netherlands (2010)
  114. J.W. Park, R. Meissner, O. Ducloux, H. van Lintel, P. Renaud, H. Fujita, "A Ca<sup>2+</sup> Ion-Selective Electrode Biosensor in Microfluidics to Monitor Hepatocyte's Activities", Micro-TAS2010, Groningen, Netherlands, October 2010, pp. 247-249
  115. J.W. Park, S. Nishida, H. Fujita, "Novel type of Microcantilever Biosensor Resonating at the Interface Between Liquid and Air", MEMS2011, Cancun, Mexico, January 2011 (Accepted)
  116. 黒澤 修, 小穴 英廣, ムラト・ゲル, 小寺 秀俊, 加藤 友久, 戸口 田淳也, 鷺津 正夫, "オンチップエレクトロポレーションによるプラスミドの核内ダイレクト導入", 第 21 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会(PC028), 東京大学, 2010.6.10-11
  117. 宮北 弥加子, 黒澤 修, ムラト・ゲル, 小穴 英廣, 鷺津 正夫, "エレクトロポレーションを用いた基質物質導入による細胞応答計測", 第 21 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会(PC020), 東京大学, 2010.6.10-11
  118. Suzuki S, Gel M, Mori Y, Kimura Y, Oana H, Washizu M, "融合チップ上で細胞周期の異なる2つ細胞の融合細胞の経時観察", 第21回化学とマイクロ・ナノシステム研究会, pp. 22, 東京大学小柴ホール, 2010年6月10-11日
  119. Gel M, Suzuki S, Kimura Y, Kurosawa O, Oana H, Washizu M, " Method for

- visualization of post-fusion phenomena with micro orifice array based on-chip cell fusion" 第21回化学とマイクロ・ナノシステム研究会, pp. 91, 東京大学小柴 ホール, 2010年6月10-11日
120. 北澤裕子, 寺尾京平, 横川隆司, 小此木孝仁, 神野伊策, 小寺秀俊“電気浸透流を用いた開放型流路内での異種細胞配置と細胞間相互作用の観察”電気学会, 東京, 2010.6.18
  121. Roles of epithelium and mesenchyme during lung branching morphogenesis, 日本発生物学会(京都), 2010年6月23日
  122. FGF-induced collective cell migration during lung branching morphogenesis, SDB-JSDB Joint meeting (New Mexico), 2010年8月8日
  123. "Modeling lung branching morphogenesis", T. Miura, "Patterns, Waves and Motion in Biological Systems", 明治大学 GCOE 研究集会, 東京, 2010年9月14日
  124. Mechanism of lung branching morphogenesis, KLI Workshop of theoretical biology, Konrad Lorenz Institute for Evolution and Cognitive Research, Altenberg, Austria, 2010年9月24日
  125. 北澤裕子, 寺尾京平, 横川隆司, 小此木孝仁, 神野伊策, 小寺秀俊 “気浸透流を利用した異種細胞配置用デバイス開発および細胞間相互作用の観察”機械学会年次大会 名古屋 2010.9.8
  126. 北澤裕子, 横川隆司, 寺尾京平, 小此木孝仁, 神野伊策, 小寺秀俊, "全反射照明蛍光観察デバイスによる細胞の刺激応答観察", 第22回 化学とマイクロ・ナノシステム研究会, 名古屋, 2010.11.17-18.
  127. 寺尾京平, Murat Gel, 小此木孝仁, 興津輝, 鈴木孝明, 多田高, 鷺津正夫, 小寺秀俊, "微細流路構造を用いた単一細胞局所薬剤刺激に対する細胞内応答計測", BMB2010(第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会), 神戸, 2010.12.7-10.
  128. K. Terao, M. Gel, A. Fuke, A. Okonogi, T. Okitsu, T. Suzuki, T. Tada, M. Washizu, H. Kotera: "Analysis of Intracellular Response to Localized Chemical Stimulation on Tissue-Mimicking Microdevice", The 14th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS2010), 2010年10月3-7日, Groningen, Netherlands.
  129. D. Hiramaru, H. Senzai, A. Okonogi, K. Terao, T. Miura, T. Suzuki, I. Kanno and H. Kotera, "Development of Hybrid Bio-device with Self-Organized HUVEC Vessels and Artificial Micro-Channels," Technical Digest of The 5th Asia-Pacific Conference on Transducers and Micro-Nano Technology [APCOT2010], p.155, Perth, Australia, 2010/7/6-9.
  130. 鈴木孝明, 萩尾吉則, 大谷典史, 平丸大介, 寺尾京平, 小此木孝仁, 神野伊策, 大平文和, 小寺秀俊: 「三次元多層流生成デバイスの開発」, 第27回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, pp.444-447, 島根, 2010/10/14-15
  131. T. Miura: Modeling lung branching morphogenesis via epithelial-mesenchymal interaction, SDB annual meeting, Chicag, 2011年7月11日
  132. T. Nakahara, N. Ootani, T. Asanuma, Y. Hagio, D. Hiramaru, K. Terao, A. Okonogi, F. Oohira, H. Kotera, and T. Suzuki, "Development of a Three Dimensional Passive Lamination Micromixer," ASME-JSME-KSME Joint Fluids Engineering Conference 2011[AJK2011], Hamamatum Japan, AJK2011-36025, 2011/7/24-29.
  133. Y. Kitazawa, R. Yokokawa, K. Terao, A. Okonogi, D.V. Dao, S. Sugiyama, I. Kanno, H. Kotera: "Real-time Monitoring of Ca<sup>2+</sup> Concentration in Pancreatic Beta Cells by a Microfluidic Device Integrated with Total Internal Refraction(TIR)-Based Chip", The 24th IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (IEEE-MEMS2011), 2011年1月23-27日, Cancun, Mexico.
  134. 鈴木博之, 平丸大介, 寺尾京平, 高尾英邦, 下川房男, 大平文和, 小寺秀俊, 鈴木孝明: 「臨床診断向けオンチップDNA ファイバプレパレーション技術の開発」, 第28回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, P6-1(pp.675-679), 東京, 2011/9/26-27
  135. S. Sugimoto<sup>1</sup>, Y. J. Heo<sup>1</sup>, H. Onoe, T. Okitsu, H. Kotera and S.

- Takeuchi. IMPLANTABLE HYDROGEL MICROFIBER ENCAPSULATING PANCREATIC BETA-CELLS FOR DIABETES TREATMENT. Proceedings of the 15th International Conference on Miniaturized System for Chemistry and Life Sciences (micro-TAS) ; 2011 Oct 2-6; Seattle, Washington, USA.
136. K. Terao, M. Gel, A. Okonogi, T. Suzuki, F. Oohira, M. Washizu, H. Kotera: "Single Cell Stimulation Assay: Microfluidic Substance Delivery to a Laterally Trapped Cell", Proceedings of The ASME-JSME-KSME Joint Fluids Engineering Conference 2011 (AJK2011-FED), AJK2011-36009(2011) 2011/7/24-29, Hamamatsu, Japan.
137. K. Terao, Y. Kitazawa, R. Yokokawa, H. Kotera, M. Washizu, F. Oohira: "Open-Access and Multi-Directional Electroosmotic Flow Chip: Handling Single Cells and Single DNA Molecules" Proceedings of The 6th International Conference on Microtechnologies in Medicine and Biology (MMB2011), 167-168(2011) 2011/5/4-6, Lucerne, Switzerland.
138. K. Terao, M. Gel, A. Okonogi, A. Fuke, T. Okitsu, T. Suzuki, F. Oohira, M. Washizu, H. Kotera: "Intracellular Response of a Pancreatic Beta Cell to Localized Glucose Stimulation", Proceedings of The 6th International Conference on Microtechnologies in Medicine and Biology (MMB2011), 44-45 (2011) 2011/5/4-6, Lucerne, Switzerland.
139. 寺尾京平, 北沢裕子, 横川隆司, 大平文和, 鷺津正夫, 小寺秀俊: "電気浸透流を用いた開放型流路内における流体制御と生体試料操作への応用", 第28回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 714-718 (2011). 2011/9/26-27, タワーホール船堀, 東京.
140. H. Oana, M. Morinaga, A. Kishimura, M. Gell, K. Kataoka and M. Washizu: "Formation of polymer vesicles from microdroplets of polyion complex and examination of their physicochemical properties in microfluidic chamber",  $\mu$ -TAS 2011, W7B, p.1588-1590, Seattle, Oct.7 (2011)

#### (4)知財出願

##### ①国内出願 (6件)

1. 特許の名称:回転傾斜露光法を用いた流路形成  
発明者:鈴木孝明, 小寺秀俊, 神野伊策  
出願者:京都大学  
取得日(出願):2007.10.5  
特許番号:特願 2007-261628,
2. 特許の名称:電気細胞融合装置  
発明者:黒澤修・鷺津正夫・木村祐史・小寺秀俊  
出願者:(株)アドバンス  
取得日(出願):2008.1.31  
特許番号:特願 2008-020873
3. 特許の名称:回転傾斜露光法を用いた流路形成  
発明者:鈴木孝明、小寺秀俊、神野伊策  
出願者:京都大学  
取得日(出願):2008.10.5(優先日:2007.10.5)  
特許番号:PCT/JP2008/68112
4. 特許の名称:微小構造体の作製方法  
発明者:鈴木孝明、小寺秀俊、神野伊策、平丸大介  
出願者:京都大学、香川大学  
取得日(出願):2009.10.14

特許番号:特願 2009-237709

5. 特許の名称:微小構造体の作製方法  
発明者:鈴木孝明、小寺秀俊、神野伊策、平丸大介  
出願者:京都大学、香川大学  
取得日(出願):2010.10.14(優先日:2009.10.14)  
特許番号:PCT/JP2010/068047
6. 特許の名称:気液界面で共振するマイクロカンチレバーセンサ,  
発明者:藤田博之, 朴 珉□, 西田周平, 川勝英樹,  
出願者:東京大学  
出願番号:2011-10594

②海外出願 (0 件)

③その他の知的財産権  
特になし

(5)受賞・報道等

①受賞

1. 鈴木孝明, 秦秀敏, 新宅博文, 神野伊策, 小寺秀俊 日本 AEM 学会 論文賞「圧電アクチュエータを用いた進行波型バルブレスマイクロポンプの開発」, 2006 年度
2. 桑原健雄, 鈴木孝明, 秦秀敏, 新宅博文, 神野伊策, 小寺秀俊 日本機械学会 IIP 部門 ベストプレゼンテーション賞「生体細胞移植用マイクロゲルビーズ生成法の開発」, 2006 年度
3. 2007 年 4 月 21 日 船井情報科学振興賞「MEMSとマイクロアクチュエータの研究と情報・通信機器への応用」東京大学生産技術研究所 藤田博之
4. 2007 年 5 月 28 日 第 15 回化学とマイクロナノシステム研究会 ベストポスター賞 竹内昌治
5. 2007 年 5 月 26 日 優秀賞「天田金属加工機械技術振興財団」小寺秀俊
6. 平成 20 年 4 月(財)船井情報科学振興財団、船井情報科学振興賞 小寺秀俊
7. 平成 20 年 12 月 18<sup>th</sup> CHEMINAS にて Best Poster Award 受賞
8. 鈴木孝明:日本 AEM 学会 MAGDA 優秀講演論文賞 2008 年
9. 優秀ポスター発表賞, 19<sup>th</sup> CHEMINAS & ISMM 2009, 発表タイトル “Fabrication of cell-array device on which intended stimulation can be exclusively given to designated cells” Atsuhito Okonogi, Teru Okitsu, Kyohei Terao, Takaaki Suzuki, Masataka Ohoka and Hidetoshi Kotera.
10. 鈴木孝明: 船井情報科学振興財団 船井情報科学奨励賞 2009 年
11. 研究奨励賞, 第 26 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 発表タイトル『任意の細胞へ薬剤刺激を与えることができるデバイスの構築』, 小此木孝仁, 興津 輝, 寺尾 京平, 鈴木 孝明, 大岡 正孝, 小寺 秀俊
12. 2009 IET Nanobiotechnology Premium: Boonchai Techaumnat, Kinya Tsuda, Osamu Kurosawa, Murat Gel, Hidehiro Oana and Masao Washizu: "High-yield electrofusion of biological cells based on field tailoring by microfabricated structures", IET Nanobiotechnology, Vol.2, No.4, p.93-99 (2008)
13. microTAS 2009 Student Poster Award: 安達亜希, 竹内昌治, Hydrogel Microbeads for High Throughput PCR. microTAS2009, 2009.11.1-5, p.1769-1771, Jeju, Korea
14. 2009 年度 IEEE/MHS2009 Best Paper Award: M. Gel, Y. Mori, Y. Kimura, O. Kurosawa, B. Techaumnat, H. Oana and M. Washizu: "Micro-orifice based cell pairing and fusion on microfluidic chip", IEEE/MHS 2009, p.517-520, Nagoya, Japan 2009.11.9-11
15. 電気学会 優秀論文発表 A 賞: 鈴木祥平, Gel Murat, 木村祐史, 小穴英廣, 鷲津正夫,

“微細オリフィスを持つ電界集中型細胞融合チップ内での融合細胞の培養”，電気学会研究会資料 センサ・マイクロマシン部門総合研究会 バイオ・マイクロシステム研究会,BMS-09-16 p.41-44, 2009.7.23-24, 東京工科大学

16. 鈴木孝明:エレキテル尾崎財団 源内奨励賞 2010年

#### ②マスコミ(新聞・TV等)報道

1. 2007年4月27日日刊工業新聞 25面:多田 高
2. 2008年1月16日 日刊工業新聞:80um径の球状かご作製(32面):竹内昌治
3. 2008年1月27日読売新聞(Yomiuri Online):多田 高
4. 2008年3月1日 サイエンス Zero「夢の万能細胞に挑む」:多田 高
5. 2008年7月9日 日経産業新聞にて、ナノ製造技術「未来プロジェクト」の紹介議事としてCRESTの研究成果が取り上げられ掲載された。
6. 四国新聞、微小機械がつくる新機会、4面、2008/11/19.
7. 2008年11月18日(再放送:2008年11月20日)FM高松(FM81.5)「この指とまれ」マイクロデバイスとそのバイオ応用 ―マイクロ流体デバイスが実現する安全・安心な社会―:鈴木孝明
8. 2008年11月19日四国新聞(4面)未来を創る ―微小機械がつくる新機会―:鈴木孝明.
9. 2008年11月25日(再放送:2008年11月28日)FM高松(FM81.5)「この指とまれ」マイクロデバイスとそのバイオ応用 ―細胞機能計測マイクロチップとその応用―:鈴木孝明
10. 2009年2月18日 Biotechnology Japan (WEB版、日経BP社)"記者発表、新エネルギー・産業技術総合開発機構、回転傾斜露光法によるアセンブリフリーのマイクロ流体システム製造法を開発":鈴木孝明
11. 2009年2月27日 科学新聞 回転傾斜露光法を使用:鈴木孝明
12. 2009年4月8日毎日新聞(地方面:20面、WEB版)研究の現場から:微小機械でDNA解析 香川大工学部・鈴木孝明准教授:鈴木孝明
13. 2009年9月14日日本経済新聞(全国版・科学面)微細部品10倍速く製造:鈴木孝明
14. 2010年6月11日日本経済新聞(四国経済面)超微細加工、実用化に着手:鈴木孝明
15. 2010年6月14日日経産業新聞(先端技術・医療面:12面)超微細部品の加工、複雑な形状も1日で:鈴木孝明
16. 2010年7月26日日刊工業新聞(全国版・先端技術面)「染色体懸架橋脚アレイ」短時間で遺伝子情報:鈴木孝明
17. 2010年7月30日日刊工業新聞(科学技術面:29面)コラム:研究設備が魅力:鈴木孝明
18. NHK高松放送局、香川大学工学部・出前講座(香川中央高等学校):鈴木孝明
19. 2010年12月16日:テレビ総合、ゆう6かがわ[あすの動き]:鈴木孝明
20. 2010年12月17日:テレビ総合、おはようかがわ[きょうの動き]:鈴木孝明
21. 2010年12月17日:ラジオ第1、四国おはようネットワーク[きょうの四国の動き]:鈴木孝明
22. 2010年12月23日毎日新聞(地方面:24面、WEB版)出前授業:香川大工学部を知って教授とOB院生ら、高校生に:鈴木孝明
23. 2011年1月19日NHK高松放送局「ゆう6かがわ」三本松高校SSH―大学研究室訪問:鈴木孝明
24. 2011年9月24日読売新聞総合2面:多田 高

#### (6)成果展開事例

##### ①実用化に向けての展開

- ・ NEDOの平成20年度第1回産業技術研究助成事業に採択され、現在実施中。課題名「マイクロシステムのオンチップ集積化を実現するアセンブリフリー回転傾斜露光法の開発と再生医療への応用」(H20～24)68,900千円。
- ・ シンポジウムやセミナーおよび講習会などで、研究者に対し本研究で開発したマイクロ流路の

作製方法およびマイクロ流路内での細胞の実験方法について紹介・指導を行っている。

- 文部科学省(JST)ナノ支援ネットワークを利用して、マイクロ流路を含めて研究開発成果を元に、学生・研究者・企業へ技術指導を行い、様々なデバイスの作製を支援している。
- 自家蛍光が少ない光硬化性樹脂に関しては、ダイセル(株)と共同開発し特許申請も完了し、今後マイクロ TAS 以外の分野にも供給する計画である。

## ②社会還元的な展開活動

- 本グループの研究成果は、広く国内外に情報発信を行い、国内外の多くの研究者および企業から見学や技術共用に関する依頼があり、これまで提供を行ってきた。これらの情報と技術供与により、様々な研究が生まれてきている。
- エジプトのアレキサンドリアの E-JUST( Egypt-Japan University fo Sciense and Technology)にも技術と教育を提供している。
- 研究成果は各担当者の HP でも公開している。
- カナダのプリティッシュコロンビア大学へも、短期留学学生(JSPS)を通じて技術供与を行った。

## § 6 研究期間中の主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2007年7月24日	第4回 シーズフォーラム (けいはんな新産業創出・交流センター)	中之島センタービル (関西経済連合会)29階 大会議室	80名程度	けいはんな新産業創出・交流センター主催のシーズフォーラムにおいて研究内容について紹介
2007年7月26日	第13回 マイクロマシン・ナノテクシンポジウム	東京 ベイ有明ワシントンホテル	255名	MEMS の未来:マイクロ加工とナノ・バイオとの融合による革新的デバイスの創生」をサブタイトルに、MEMS とナノ・バイオとの融合分野の最先端の研究開発動向に関しての講演会
2007年7月25日	第18回 マイクロマシン/MEMS展	ビッグサイト	展示会のため不明 (3日間、3000人/日程度)	MEMS/MicroTAS に関する展示会 研究内容と成果を展示
2007年7月27日	関東 CAE 懇話会	早稲田大学 理工学部	100名程度	CAE の技術交流を目的とした社会人中心の NPO 団体の関東支部講演会で招待講演
2007年11月12日	ISSS-5	早稲田大学	60名程度	ISSS 国際会議にて招待講演。 研究内容と成果を説明

2007年11月24日	近畿大学 薬学部同窓会	近畿大学	200名程度	近畿大学薬学部同窓会において、特別講演を行い、研究内容と成果に関して発表した。
2007年12月5日	SEMICON JAPAN	幕張メッセ	展示会のため不明 (3日間、3000人/日程度)	マイクロ・ナノデバイスとその加工装置および材料などの展示会
2008年7月30日	第19回マイクロマシン／MEMS展	ビッグサイト	展示会のため不明 (3日間、3000人/日程度)	MEMS/MicroTASに関する展示会 研究内容と成果を展示
2008年10月25日	高校出前講義	沼津東高校講義	40名程度	研究内容と成果を説明し大学の内容も紹介
2008年12月3日	SEMICON JAPAN	幕張メッセ	展示会のため不明 (3日間、3000人/日程度)	マイクロ・ナノデバイスとその加工装置および材料などの展示会 研究内容と成果を展示
2009年2月6日	高校出前講義	香川県立坂出高等学校	約80名	プロジェクトの成果を一部含む小さな機械とその応用に関する先端科学の紹介。
2009年7月29日	第20回マイクロマシン／MEMS展	ビッグサイト	展示会のため不明 (3日間、3000人/日程度)	MEMS/MicroTASに関する展示会 研究内容と成果を展示
2009年10月30日	高校出前講義	愛知県立新居浜西高等学校	約40名	プロジェクトの成果を一部含む小さな機械とその応用に関する先端科学の紹介。
2009年12月	分子生物学会	パシフィコ横浜	会場には100名程度	ナノテクノロジーに関する最新トピックスについての講演とともに、ナノテクノロジー総合支援事業の将来的な役割についても展望する 研究内容と成果を説明
2009年12月2日	SEMICON JAPAN	幕張メッセ	展示会のため不明 (3日間、3000人/日程度)	マイクロ・ナノデバイスとその加工装置および材料などの展示会 研究内容と成果を展示
2010年3月19日	第8回 ナノテクシンポジウム	ホテル日航奈良	100名程度	ナノ支援に関するシンポジウムにおいて、招待講演として、研究内容と成果を展示
2010年5月25日	21年度第1回CRESTチーム全体会議	京都大学物理系校舎	15	今年度実験計画・協力体制の決定

		830 室		
2010 年 7 月 8 日	21 年度第 2 回 CREST チーム全体会議	東京大学工 学部 3 号館 111 室	15	研究進捗報告
2010 年 7 月 28 日	第 21 回マイクロマシン ／MEMS 展	ビッグサイ ト	展示会 のため不明 (3 日間、 3000 人/ 日程度)	MEMS/MicroTAS に 関 する展示会 研究内容と成果を展示
2010 年 9 月 9 日	SEMICO TAIWAN	台北	200 程度	台湾の SEMICON におい て基調講演として講演
2010 年 9 月 14 日	応用物理学会	長崎大学	会場には 80 名程度	ナノバイオデバイスの最 前線に関するシンポジウ ム(第 71 回 応用物理学 会学術講演会)にて招待 講演 研究内容と成果を説明
2010 年 9 月 30 日	21 年度第 3 回 CREST チーム全体会議	キャンパス プラザ京都 第 8 講習室	18	中間審査に関する打合 せ
2010 年 11 月 15 日	第 1 回先端ナノバイオフ ォーラム兵庫県立大学 高度産業科学技術研究 所	兵庫県：姫 路キャスパ ホール	約 100 名	プロジェクトの成果を含 む研究の紹介として、加 工技術とそのバイオ応 用に関して講演。
2010 年 11 月 17 日	バイオマテリアル学会 「数理生物学と三次元 組織構築」	京都テルサ ホール	50	再生医学分野における 数理的な手法の応用可 能性を探る。講演 4 件:辻孝(東京理科大), 寺村祐治(京都大), 本多久夫(兵庫大), 三浦岳(京都大)
2010 年 12 月 1 日	SEMICON JAPAN	幕張メッセ	展示会 のため不明 (3 日間、 3000 人/ 日程度)	マイクロ・ナノデバイス とその加工装置および 材料などの展示会 研究内容と成果を展 示
2010 年 12 月 9 日	第 4 回大学等の研究シ ーズ発表会 - 香川の 最先端ものづくり技術 - JST イノベーションサ テライト徳島	香川県：サ ンメッセ香 川	約 100 名	プロジェクトの成果を含 む研究の紹介として、加 工技術とそのバイオ 応用に関して講演。
2010 年 12 月 17 日	高校出前講義	香川県立 香川中央 高等学校	約 40 名	プロジェクトの成果を 一部含む小さな機械 とその応用に関する 先端科学の紹介。

2011年 6月6日	International Conference on Solid state Sensors, Actuators and Microsytems	北京	1100	New Trends of MEMS/NEMS Based on Heterogeneous Process Integration Towards Life/Green Innovation につ いて、基調講演を行った
2011年 7月19日	秋田県立大学特別講義	秋田県立大 学システム 科学技術学 部	40人	「マイクロシステム(MEMS)の現 状と歴史」
2011年 9月27日	9 <sup>th</sup> NAMIS international workshop	The Bourse de Commerce de Paris	38人	「Japan Nanotechnology Network and research topics」

## §7 結び

- ① 研究の目標等から見た達成度  
マイクロデバイスを用いた TopDown プロセス、および細胞や分子を用いた Bottom Up プロセスを用いて、細胞の初期化と細胞間相互作用の計測から細胞組織の再生とそれを用いた再生医療への応用までを目的に、異分野融合による研究体制を取り研究を進めてきた。各研究者が互いに協力するとともに、再生医療への応用という厳しい出口に向かって研究を進めた結果、デバイスの開発および膵島機能代替の実証の両面について、当初の目的を達成できつつあると言える。
- ② 得られた成果の意義等の自己評価  
マイクロデバイス内で流速を精密に制御した条件下での細胞の培養を行い、細胞の刺激応答・細胞間相互作用・血管等の組織形成などのチップ上での計測を可能にするとともに、オンチップエレクトロポレーション・細胞融合による物質導入を用いた細胞の機能制御への方法論を確立した。特に、物質導入およびチップ上での長期培養技術およびデバイスについては、企業が参画する意思を表明し、現時点で事業化も含めて検討を進めている。  
研究分野でも東京大学の竹内昌二准教授が ERATO に採択され、研究を分担していた興津輝助教(京都大学)も、ERATO の特任准教授として ERATO に参画して再生医療への展開を図っている。
- ③ 今後の研究の展開  
このプロジェクトにより得られた、新規デバイスの原理・構造と、そのオペレーションのノウハウは、本プロジェクトの直接の目的である膵島のみならず、一般の細胞計測・品質管理や分化誘導などの機能制御に用いることができるので、再生医療研究現場で使える装置・デバイスとして、企業と共同で実用化開発研究を進めることになった。また、細胞の初期化および細胞の機能維持に関する基礎研究分野にも、ここで開発したマイクロデバイスを京都大学 iPS 研究所と共同で応用展開する計画である。  
さらに、研究成果および研究過程で生まれた技術および材料に関しては、広く社会に還元するために、技術提供に関しては、教育カリキュラムや技術支援を通じてこれまでも行ってきたが、今後も継続して供与する予定である。また、開発した材料に関しても、共同開発企業から提供をしていく予定である。
- ④ 研究代表者としてのプロジェクト運営について  
本研究プロジェクトは異分野融合により実現するとともに、世界を代表するマイクロ TAS・MEMS の研究者と再生医療および移植の研究者・医師が連携して、常に、実用化という使える技術の開発を目指し、研究資金に関しても、東京大学・京都大学の代表者の下で管理し、必要に応じて柔軟に研究資金を投入して行く方法を取った。その結果、必要なところに必要な研究資金をタイミングよく提供できていると考える。  
また、本プロジェクトの期間で学位を取得者(修士・博士)、新たなポジションを得る研究者が

生まれたことも、プロジェクトの成果と言える。新たな ERATO がこの研究プロジェクトの参加者から出たことをも意義がある。

⑤ その他戦略的創造研究推進事業に対する意見、要望

ERATO へ発展した場合の共同研究の継続を可能にしていきたい、また、最終年度は企業なども含めて展開が期待できることから、戦略的創造研究推進事業終了後の実用化展開のプログラムを戦略的創造研究推進事業終了後ではなく、終了前に募集し決定できるようにしてもらえれば、実用化開発に有効に展開していけると思います。

### 分担研究者

