

課題番号 : F-17-BA-0004  
利用形態 : 機器利用  
利用課題名(日本語) : 三次元細胞組織の再生医療実現に向けた血管構造作製技術の確立  
Program Title (English) : Engineering of three dimensional vascular structures for regenerative medicine  
利用者名(日本語) : 榎本詢子, 小林優香, 楯芳樹, 福田淳二  
Username (English) : J. Enomoto, Y. Kobayashi, Y. Tate, J. Fukuda  
所属名(日本語) : 横浜国立大学工学研究院  
Affiliation (English) : Faculty of Engineering, Yokohama National University  
キーワード/Keyword : 成膜・膜堆積、電気化学、細胞脱離、オリゴペプチド、自己組織化単分子膜

## 1. 概要(Summary)

スパッタ装置を用いてフラット基板、またはマルチニードル上に金薄膜を成膜し、これを細胞培養担体として利用した。オリゴペプチドを修飾した金薄膜上に接着させた血管内皮細胞を電気化学的に表面から脱離させ、コラーゲンなどのゲルへ転写した。この反応を利用して内表面が血管内皮細胞に覆われた血管様の構造を作製できることを示した。また、繰り返し使用するための電極の洗浄方法について検討した。

## 2. 実験(Experimental)

### 【利用した主な装置】

スパッタリング装置

### 【実験方法】

ガラス製のマルチニードルにクロムを密着層として金をスパッタすることで、金電極を作製した。電極上に金-チオール結合を利用して、自己組織化オリゴペプチドの単分子膜を形成し、ペプチド層を介して細胞を金電極上に接着させた。金電極に電位を印加することで、オリゴペプチド分子と金電極の結合を還元反応により切断し、分子層とともに細胞を周囲のゲル側に転写することで、血管様構造を構築する。また、使用した金電極を再利用するための洗浄方法について、主に半導体分野で利用されている方法の中から検討を行った。

## 3. 結果と考察(Results and Discussion)

-1.0 Vの電位を5分間印加することで、直径500 μmの内表面が血管内皮細胞に覆われた血管様構造を作製することができた。ハイドロゲル側に、血管内皮細胞や間葉系幹細胞を導入することで、ハイドロゲル内に血管内皮細胞のネットワークが形成できることを示した。ゲル内にヒトiPS由来肝細胞を導入することで、肝細胞の重要な機

能の1つであるアルブミンを分泌することを確認し、培養とともに肝細胞が成熟していくことがわかった。さらに、作製した血管様構造をマウスの血管に吻合した結果、マウスの血液が作製した血管様構造に流入し、血管として機能することが示された。また、使用済み電極の洗浄法として、UV照射またはオゾン水を用いた洗浄方法がもっとも効果があることを示した。

## 4. その他・特記事項(Others)

芝浦メカトロニクス株式会社との共同研究の一部として実施した。

## 5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

- (1) J. Enomoto, T. Kageyama, D. Myasnikova, K. Onishi, Y. Kobayashi, Y. Taruno, T. Kanai, and J. Fukuda, Gold cleaning methods for preparation of cell culture surfaces for self-assembled monolayers of zwitterionic oligopeptides, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, in press
- (2) J. Enomoto, T. Kageyama, T. Osaki, F. Bonalumi, F. Marchese, A. Gautieri, E. Bianchi, G. Dubini, C. Arrigoni, M. Moretti, and J. Fukuda, Catch-and-Release of Target Cells Using Aptamer-Conjugated Electroactive Zwitterionic Oligopeptide SAM, *Scientific Reports*, 7, pp. 43375 (2017)

## 6. 関連特許(Patent)

関連特許は、出願済み。