

微細加工技術を用いた
バクテリアセルロースの成形と生産

2017 年度

東 和彦

主 論 文 要 旨

No.1

報告番号	甲 第 号	氏 名	東 和 彦
<p>主 論 文 題 名 :</p> <p style="text-align: center;">微細加工技術を用いたバクテリアセルロースの成形と生産</p>			
<p>(内容の要旨)</p> <p>バクテリアセルロース(BC: Bacterial Cellulose)は細菌が産生するセルロースで、その特異な性質から様々な応用技術が研究されてきた。特に、生体適合性の高さと細胞外マトリックス類似のナノファイバ構造からバイオ・医療面での応用が期待されている。しかし、BCは生産コストが高いことから、産業利用は限られた用途にとどまっている。そこで、本論文ではBCの付加価値を高めるためのBC成形プロセスと、生産コストを低減するための屋外培養プロセスを開発することにより、BCの産業利用を推し進めることを目指した。</p> <p>まず、BCの膜上に微細構造を付与するプロセスを開発した。微細加工技術により製作した微細構造を表面に有するシリコン膜を、鋳型として用いることで、この微細構造を反転した構造をBC膜に転写する。次に、BC微小球の製作プロセスを開発した。乳化法もしくはマイクロ流体法を用いてゼラチン微小球を製作し、これを犠牲構造としてハイドロゲル内にBC微小球産生の空隙を形成した。これらの成形プロセスはBCの有用性を大いに高めるものである。</p> <p>さらに、BC産生菌を屋外培養するための新規な培養方法を提案した。本手法は、マイクロ流体デバイスを用い、BC産生菌をハイドロゲルチューブ内部に包括して培養を行う。競合微生物による生物汚染を防ぐことができるため、BC産生菌を高効率に屋外培養することが可能となる。BC生産コストの低減につながり、BCの産業利用に大きく資するものである。</p> <p>第1章では、本論文の研究背景と関連する従来研究、本論文の社会的な意義と目的を示し、本論文全体に関する概要を述べた。</p> <p>第2章では、微生物に関する基礎的な知識と培養の理論について述べ、それに基づき、本論文全体を通して必要となるBC産生細菌の培養実験の結果について議論した。</p> <p>第3章では、微細構造を有するBC薄膜の製作プロセスについて述べた。接着性細胞の足場材料としてBCを用いる場合、BCのマイクロメートルオーダーの幾何構造が細胞機能の発現に大きな影響を及ぼす。そこで、微細加工技術により製作した微細構造を表面に有するシリコン膜を鋳型とし、これに沿ってBC産生菌にBC膜を産生させることで、シリコン膜と反転した幾何構造をBC膜に転写した。本章では、幾何構造の製作限界およびBC膜の膜厚に影響を及ぼす因子について実験的に評価を行った。従来用いられてきたエレクトロスピンニング法と比較し、このプロセスは極めて簡便で有用性が高い。</p> <p>第4章では、マイクロメートルオーダーの直径を有するBC微小球の製作プロセスを新たに提案し、その評価を行った。本プロセスでは、微小な球状の空隙をハイドロゲル内部に形成し、その内部にBC産生菌を封入、培養することでBC微小球を製作する。微小球状空隙形成には、ゼラチンの温度可逆的なゾルゲル転移を利用し、乳化法またはマイクロ流体法を用いて製作したゼラチン微小球を犠牲構造として用いた。従来研究では、特殊な構造をもったモノマを重合し製作したナノファイバ微小球が報告されているが、材料選択肢が限られている。セルロースは多数の水酸基を有することから誘導体作製や表面処理が容易であるため、BC微小球はナノファイバ微小球として使える材料の選択肢を大きく拡張する。</p> <p>第5章では、BC産生菌をハイドロゲルチューブ内部に包括して培養を行うことで、競合微生物による生物汚染を防ぎ、BC産生菌を高効率に屋外培養することが可能な培養プロセスを開発した。本章では、ハイドロゲルチューブのマイクロ流体デバイスを用いた生成条件、ならびに培養に最適なチューブ膜厚の評価、モデル競合微生物を用いた実証実験を行った。さらに、チューブの高強度化を目的としてダブルネットワークゲルの適用を検討し、その性能評価を行った。</p> <p>第6章に本研究の結論をまとめた。</p>			

Thesis Abstract

No. _____

Registration Number	<input checked="" type="checkbox"/> “KOU” <input type="checkbox"/> “OTSU” No. _____ *Office use only	Name	HIGASHI, Kazuhiko
Thesis Title <div style="text-align: center; padding: 10px 0;"> <h3>Formation and Production of Bacterial Cellulose Using Microfabrication Method</h3> </div>			
Thesis Summary <p>Bacterial cellulose (BC) is cellulose produced by bacteria and its biomedical applications exploiting the high biocompatibility have been intensively studied. Reduction of the production cost of BC is the challenge for its practical applications. In this thesis we characterize and demonstrate the BC production processes to maximize the useful properties of BC and reduce the production cost.</p> <p>When BC is used as the scaffold material for anchorage-dependent cells, the micrometer-scale geometry of BC exhibits a great influence on the cellular function. Therefore, we developed a process to micropattern BC films. In this process, a silicone membrane with microfabricated structures on the surface is used as a template, along which BC-producing bacteria produce a BC membrane. The micro structures of the silicone film are transferred to the surface of the BC film.</p> <p>Next, we proposed a fabrication process to form BC microspheres. In this process, BC microspheres are formed inside the spherical cavities in hydrogel, where BC-producing bacteria are encapsulated. The cavities were created by using gelatin as the sacrificial structures, which were prepared either by emulsification or microfluidic method.</p> <p>In addition, we developed a new culture process of BC-producing bacteria, where the BC-producing bacteria are cultured inside a hydrogel tube formed with a microfluidic device. The hydrogel tube allows nutrition and waste of the bacteria to pass through the wall, while the competing organisms in the surrounding environment are prohibited to invade the tube due to the pore size of the hydrogel.</p> <p>Chapter 1 introduces the research background, application, significance, and objective of this dissertation, giving preliminary knowledge on the whole paper.</p> <p>Chapter 2 describes the basics of microorganisms and the theory of culture. Based on that, we discussed the results of cultivation experiments of BC-producing bacteria that are necessary throughout this paper.</p> <p>Chapter 3 proposes the micropatterning process of BC thin films. We characterized the process with respect to the feature resolution, in particular, the film thickness.</p> <p>Chapter 4 demonstrates production of BC microspheres. Gelatin microspheres were prepared by emulsification method, and the feature resolution of the process was clarified. In addition, we successfully produced BC microspheres with high monodispersity in size by using the microfluidic method.</p> <p>Chapter 5 highlights a method for outdoor cultivation of BC-producing bacteria. We investigated the optimum tube thickness for the efficient culture and then, demonstrated a proof-of-concept experiment using model target/competing microorganisms. Furthermore, double network gel was investigated to improve the mechanical strength of the tube.</p> <p>Chapter 6 summarizes the conclusion of this dissertation.</p>			