

※課題番号 : F-12-KT-0031
※支援課題名 (日本語) : 細胞間相互作用計測デバイスの開発
※Program Title (in English) : Development of a Microdevice for Imaging Cell - Cell Communication
※利用者名 (日本語) : 寺尾 京平
※Username (in English) : Kyohei Terao
※所属名 (日本語) : 香川大学
※Affiliation (in English) : Kagawa University

概要 (Summary) :

グルコース刺激を受けた時の膵β細胞集団内の刺激応答シグナルの伝搬を観察することを目的として、数個～数十個の細胞からなる集合体の基板上への配置と、その中の1個の細胞への薬剤刺激を可能にするマイクロ流体デバイスの設計と開発を行う。今年度は、本支援に基づきデバイス作製のベースとなるフォトマスクを作製した。

実験 (Experimental) :

マウス由来の膵β細胞株 (MIN6m9) を疎水性基板上で培養することで数個～数十個の細胞から成る細胞塊を形成した。細胞塊のサイズ分布を光学顕微鏡によって計測し、そのサイズを基にマイクロ流体デバイスを設計した。本年度は、マイクロ流路を CAD により設計し、それを基に支援装置のレーザー描画装置 (DL1000GS) を用いて2.5インチのクロムマスク基板にパターンを形成した。

結果と考察 (Results and Discussion) :

細胞集合体の塊はほぼ球状であり、サイズは直径 40 μm 程度であった。このことから、マイクロ流路デバイスは細胞塊が通過できるように高さが 40 - 50 μm 、幅は 100 μm 以上となるように設計し、フォトマスクの作製を行った。また、細胞集合体を配置するための微細孔は細胞一個の直径よりも小さくなるよう、幅・高さが 3 μm となるように設定した。レーザー描画の結果、マスクは良好にパターンニングされており、細胞塊を固定するための最小線幅 3 μm の領域についても、設計値通りに作製できていることを確認した。本マスクを使用して作製した流路型を図1に示す。設計値通りに作製することに成功した。

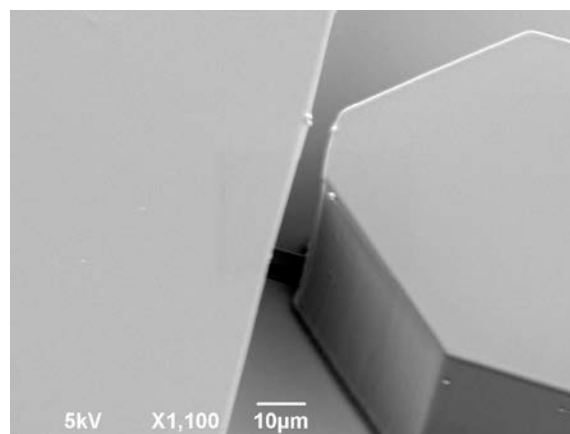
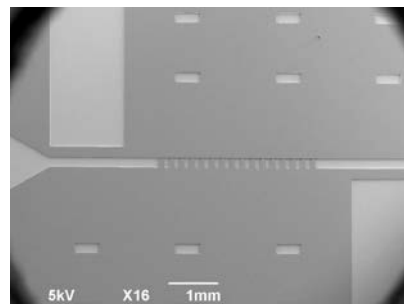


図1. フォトレジスト SU-8 によって作製したマイクロ流路型

今後は、本フォトマスクを基にマイクロ流体デバイスを紫外線リソグラフィ技術により作製し、細胞計測を進める計画である。まず膵β細胞塊をデバイス外で培養した後、マイクロ流路に導入し、吸引操作によってマイクロ流路内の微小孔に固定する。その後、微小孔を通して細胞塊の中の一個の細胞のみに薬剤を与えることで、薬剤刺激に対する細胞内の応答反応、および、直接刺激を受けた細胞に隣接する他の細胞の内部変化を観察することで、応答シグナルの伝搬や局在化を光学的手法により計測することを試みる。

共同研究者等 (Coauthor) :

鈴木 孝明 准教授 (香川大学)
高尾 英邦 准教授 (香川大学)
下川 房男 教授 (香川大学)