

※課題番号 : F-12-RO-0012  
※支援課題名 (日本語) : マイクロパターン化PDMSスタンプの作製  
※Program Title (in English) : Fabrication of micropatterned PDMS stamp  
※利用者名 (日本語) : 加藤 功一  
※Username (in English) : Koichi Kato  
※所属名 (日本語) : 広島大学大学院医歯薬保健学研究院  
※Affiliation (in English) : Institute of Biomedical & Health Sciences, Hiroshima University

#### ※概要 (Summary) :

複雑な構造をもつ器官の形成には、発生初期における上皮間葉相互作用が重要な役割を果たす。そこで本研究では、マイクロパターン化 PDMS スタンプを用い細胞集団ごとに相対位置を制御することで、生体内を模倣的に再現しながら共培養する仕組みを作ること、上皮間葉相互作用の分子的理解に迫ろうとしている。まず、共培養用基材 (基材) を作成するための、マイクロパターン化 PDMS スタンプを設計・試作した。試作したマイクロパターン化 PDMS スタンプを用いて、細胞に特異的に結合する抗体を基材にスタンプ、固定化した。基材上で細胞を共培養することで、基材の評価を行った。その結果、本研究で試作した基材では細胞の相対位置を制御することが難しかった。しかしながら、マイクロパターン化 PDMS スタンプの最適化によって細胞集団ごとに相対位置を制御しながら、複数種類の細胞を共培養することができると期待される。

#### ※実験 (Experimental) :

細胞集団ごとに相対位置を制御しながら培養できる基材を作成するためのマイクロパターン化 PDMS スタンプを設計・試作した。基材はガラス表面に金薄膜を蒸着した基板を用意し、11-melcaptundecanoic acid によって表面処理を施した。その後、基板表面を活性化させ、本研究で用いる細胞に特異的に結合する抗体の1つを マスクレス露光装置 により作製したマイクロパターン化 PDMS スタンプにて基材にスタンプし、抗体を基材表面に共有結合によって固定化した。基材の評価には、まず1種類の細胞、すなわちマウス間葉系幹細胞株 (C3H10T1/2) を用いた。

#### ※結果と考察 (Results and Discussion) :

写真1に示すように、基材の特定の部位に細胞を接着させることは困難であった。そこで、蛍光標識した抗体によって、転写の精度について調べた(写真2)。その結果、抗体が基材に固定化されていることが確認

できた。しかしながら、スタンプの形状 (溝の間隔、溝の深さなど) が、細胞を選択的に接着させるのに不適切な形状の設計であった可能性が考えられた。さらに、転写された抗体を均一に問題があるように思われた。これらの結果より、スタンプ表面の親水性、スタンプ素材の機械的性質の最適化が必要であることが明らかになった。

以上のように、細胞集団ごとに相対位置を制御しながら、複数種類の細胞を共培養することができる基材を設計するには、スタンプの形状と物理的性質についてさらに検討する必要があるものとする。

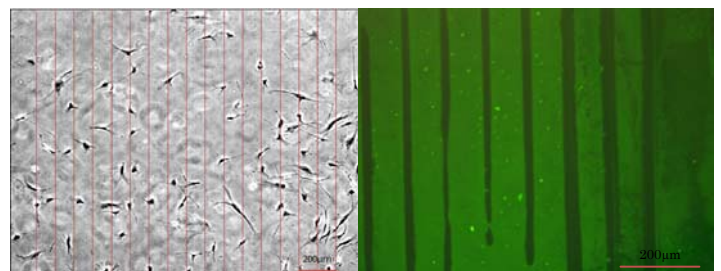


写真1. C3H10T1/2 細胞を基材にて培養した様子。なお、赤い縦のガイドラインが抗体を基材に固定した部位を示す。Scale bar: 200 μm

写真2. 基材にスタンプされた蛍光標識した抗体の蛍光パターンの様子。Scale bar: 200 μm

#### ※その他・特記事項 (Others) :

##### ・参考文献

- 1) H. Miyazaki, T. Maki, K. Kato, H. Iwata. Surface-displayed antibodies as a tool for simultaneously controlling the arrangement and morphology of multiple cell types with microscale precision. ACS Appl. Mater. Interfaces. 2009, 1(1), 53-55.
- 2) K. Kato, M. Toda, H. Iwata. Antibody arrays for quantitative immunophenotyping. Biomaterials 2007, 28(6):1289-1297.

#### 共同研究者等 (Coauthor) :

- ・岩田博夫 (京都大学再生医科学研究所・教授)
- ・錦織良 (広島大学大学院医歯薬保健学研究院・助教)
- ・久保田千晴 (広島大学歯学部・学生)