

利用課題番号 : F-13-KT-0052
利用形態 : 技術補助
利用課題名 (日本語) : 血管内皮細胞 HUVEC の培養デバイスの製作
Program Title (English) : Fabrication of HUVEC culture device
利用者名 (日本語) : 林 智也
Username (English) : Tomoya Hayashi
所属名 (日本語) : 京都大学大学院工学研究科マイクロエンジニアリング専攻
Affiliation (English) : Department of Micro Engineering, Graduate School of Engineering,
Kyoto University

1. 概要 (Summary) :

本研究課題は、発生生物学において形態形成を理解するための微小流体デバイスの開発を目的とするものである。従来の形態形成の研究は多くの場合、解剖するなどして生体を直接観察することで行われていた。生体外で組織を培養し形態形成を観察するという方法は開発されていない。それは、組織を長期間培養しようとするとも内部まで酸素、養分が届かず壊死してしまうからである。この問題の解決する養分の供給器官として組織へと血管をつなげるという方法を検討した。

2. 実験 (Experimental) :

レーザー直接描画装置を用いて微小流体デバイスの製作に必要なフォトマスクの製作を行った。得られたマスクと両面アライナを利用して、SU8のパターンをシリコンウエハ上に製作した。本研究では、このSU8パターンに対してPDMSのモールドイングをおこない、プラズマ処理後にガラスボトムディッシュに接合した。

得られたデバイス内での細胞培養を想定して以下の検討をおこなった。細胞外基質であるコラーゲンゲル、フィブリンゲル、マトリゲルを細胞培養の足場材料として用いることにした。そして、デバイス内でそれらを用いて細胞を導入する前にシャーレ上でそれぞれのゲルで培養し観察、比較を行った。また、マイクロ流路をもつデバイスをPDMSで作製した。シャーレ上の観察結果から、ゲルをデバイス内の流路表面にコーティングしそこに細胞を播種する方法で培養、観察を行った。

3. 結果と考察 (Results and Discussion) :

それぞれのゲルで培養した結果、ゲルで懸濁し播種した場合はフィブリンゲルのみ播種直後から細胞が

増殖している様子が観察され、ほか2つは増殖が見られなかった。ゲルでコーティングしたディッシュ上で培養した場合はどのゲルも細胞の増殖が確認された。コラーゲンゲルでデバイス内の流路表面をコーティングし5日間、毎日培地交換をし、培養を行ったところHUVECが多数流路の上面、側面、底面に付着し管状の構造を形成している様子が観察された(Fig. 1)。今後はこの方法によって作成された構造がリークを起こさないか、また、組織への走性はあるかを検証する。

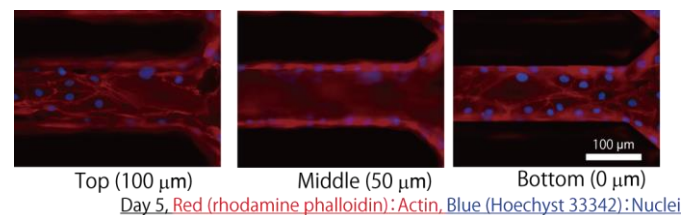


Fig. 1 Fluorescent images of cultured HUVECs in a channel.

4. その他・特記事項 (Others) :

本研究は JSPS 科研費 25600060 および平成 25 年度戦略的創造研究推進事業 (CREST) 特定課題調査の助成を受けたものです

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

- (1) 林智也、新宅博文、小寺秀俊、今村寿子、三浦岳、横川隆司 “組織培養のためのマイクロ流体デバイス内における HUVEC を用いた管路形成”，第 27 回化学とマクロナノシステム学会，平成 25 年 5 月 24 日
- (2) 林智也、今村寿子、西山功一、新宅博文、小寺秀俊、三浦 岳、横川隆司 “LF と HUVEC の共培養によるマイクロ流体デバイス内での血管新生”，平成 26 年度電気学会 E 部門総合研究会，平成 26 年 5 月 27 日 (予定)

6. 関連特許 (Patent) :

なし。