

課題番号 : F-14-UT-0050
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : マイクロパターン基板を用いた細胞力学特性の計測に関する研究
Program Title (English) : Measurements of using micro-patterned substrates
利用者名(日本語) : 岡嶋孝治, 繁富(栗林)香織, 高橋亮輔, 田中良昌, 朱 鑫峰
Username (English) : T. Okajima, K. Kuribayashi-Shigetomi, R. Takahashi, R. Tanaka, X. Zhu
所属名(日本語) : 北海道大学 大学院情報科学研究科
Affiliation (English) : Graduate school of information science and technology, Hokkaido University

1. 概要(Summary)

細胞はさまざまな形状や大きさに変化し、それらは、細胞の機能に深く関わりがある。そこで、我々は、細胞の異なる形状や大きさによる細胞の力学的特性への影響を調べるために、細胞を任意の形状と大きさに培養することができる金基板を作製するためのガラスマスクを東京大学、ナノテク連携室の設備を利用し作製した。また、浮遊細胞を長時間固定するためのマイクロデバイスを作製するためのガラスマスクも同様に作製した。

2. 実験(Experimental)

細胞をマイクロサイズに培養することができる金基板は、始めに、ガラス基板に金をスパッタする(スパッタ装置 SPF-210H, ANELVA)。その後、フォトリジスト(PR, OFPR-800LB 34CP)をコートし(スピンコーターMS-A、ミカサ)、電子ビーム露光装置(ELS-3700, ELIOMIX)で作製したガラスマスクを用いてPRを露光(両面マスクアライナー MA6、SUSS Microtec)する。現像液(NMD-3、東京応化工業)を用いてPRを現像し、PRのパターンを金基板上に作製する。最後に、金が露出している部分を金のエッチング溶液(Gold etch-Type TFA)でエッチングしガラスを露出することで、マイクロサイズの溝を作製する。PRはアセトンとIPAで取り除く。浮遊細胞を固定して観察するデバイスは、ネガティブレジストであるSU8を用いてガラス基板上にウェルを作製した。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

作製された金のマイクロパターン基板上に接着細胞(NIH/3T3)を培養すると、SAM膜により金の上には細胞は付着することなく、細胞はガラスの溝の上のみに付着し、培養された(Fig. 1 a)。また、浮遊細胞もSU-8で作製されたウェル内に固定することができた(Fig. 1 b)。

4. その他・特記事項(Others)

共同研究者: 末岡和久 (北海道大学 教授), Agus Subagyo (北海道大学 博士研究員)

関連する課題番号: F-14-HK-0011

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

(1) K. Kuribayashi-Shigetomi, R. Takahashi, A. Subagyo, K. Sueoka, T. Okajima, High-throughput measurements of single cell rheology by atomic force microscopy (Bio-assembler (tentative) Chapter 4, Springer) in press

(2) 高橋亮輔, 繁富(栗林)香織、スバギョ・アグス, 末岡和久, 岡嶋孝治, 多重周波数モジュレーション原子間力顕微鏡: 単一細胞レオロジーの高速測定(第52回日本生物物理学会年会, 2014.9.25-27, 札幌)

(3) 朱鑫峰, 繁富(栗林)香織, 蔡萍根, スバギョ・アグス, 末岡和久, 岡嶋孝治, マイクロパターン上に培養した単一細胞の細胞核の動態, (第52回日本生物物理学会年会, 2014.9.25-27, 札幌)

6. 関連特許(Patent)

なし

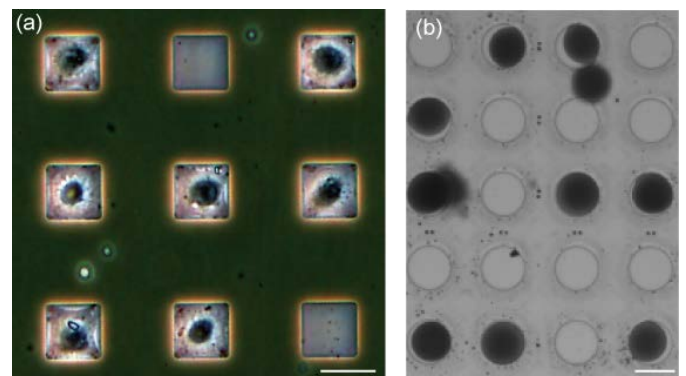


Figure 1 (a) Phase contrast image of NIH/3T3 cells cultured after 12 hours on the $30 \mu\text{m} \times 30 \mu\text{m}$ etched regions of the Cr/Au patterned glass substrate. Scale bar: $30 \mu\text{m}$ (b) Phase contrast image of sea squirt eggs cultured on the wells produced by SU8. Scale bar: $150 \mu\text{m}$.