課題番号　　　　　　　　:F-15-HK-0035
利用形態　　　　　　　　:機器利用
利用課題名(日本語)　　　:マイクロ・ナノパターン上での細胞培養
Program Title (English)　:Cell Culture on micro/nano-patterned substrates
利用者名(日本語)　　　　:赤坂　司
Username (English)　　　:T. Akasaka
所属名(日本語)　　　　　:北海道大学大学院歯学研究科
Affiliation (English)　　:Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University

1. 概要(Summary)

生体内での多様なマイクロ・ナノパターンの存在は、形状自体が機能発現している可能性を示している。本研究では、マイクロレベルのグルーブで構成されたパターン上での歯科関連細胞の運動挙動を調べるため、北海道大学微細加工プラットフォームのレーザー描画装置を利用して微細加工を行った。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

・レーザー描画装置　DDB-201-200（ネオアーク製）

【実験方法】

各種パターンとしてグルーブ間のピッチが50 μm、12.5 μmとなるよう設計した。はじめにプラットフォーム支援機関にて、ガラス表面にレジスト(OFPR-5000)をコート後、ベークした。そしてレーザー描画装置にてパターンを描画後、現像した。その後、自分の研究室にて、得られたレジストパターンをモールドとして光インプリント転写した。続いて、熱ナノインプリント装置にて、105℃で4分間加圧し、ポリスチレン基板上に転写した。得られたパターン化ポリスチレン基材は、プラズマ処理により親水化および紫外線滅菌し、その後の培養実験に使用した。

細胞挙動は、ヒト歯根膜線維芽細胞(HPDLF)を用い、パターンに細胞を播種(約15,000個/cm^2)し、10%FBSを含むDMEM中で1日間培養した。細胞は免疫染色後、蛍光顕微鏡にて配向性を観察した。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

レーザー描画つづくナノインプリントの結果、細胞培養可能なマイクロレベルのパターンが容易に作製できることが分かった。また、細胞培養の結果、平面では細胞はランダムな方向であるのに対し、ピッチ 12.5 μm 上のパターンでは細胞が強く配向することが分かった。このことは、パターンのデザインにより細胞挙動をコントロールできる可能性を示している。

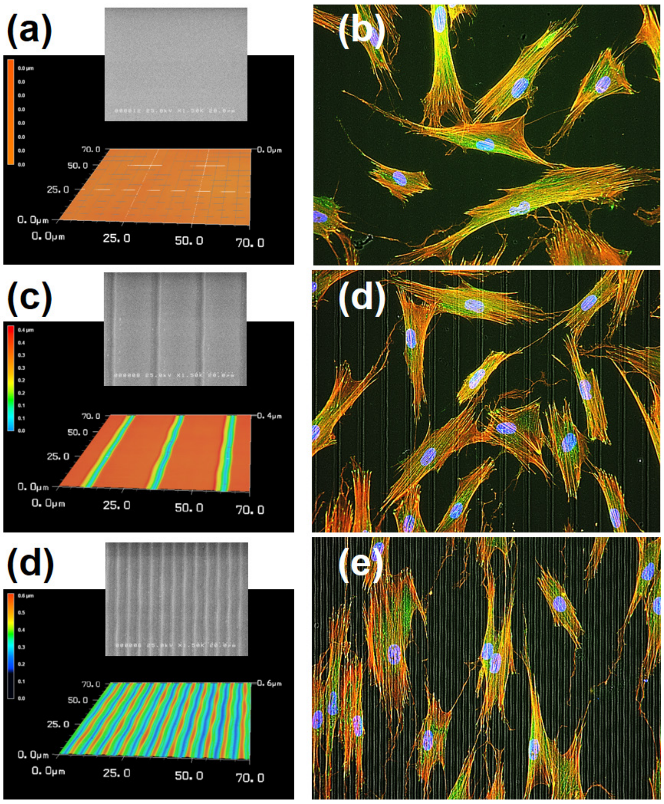

Fig. 1 LM and SEM images (a, c, d) of the polystyrene patterns, and FM images (b, d, e) of HPDLF cells on them.

4. その他・特記事項(Others)

科研費　基盤研究 C 「25463047」

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

(1) 赤坂　司、第 31 回「歯科医学を中心とした総合的な研究を推進する集い」、平成 27 年 9 月 9 日
(2) 赤坂　司、日本歯科理工学会第 67 回秋期大会、平成 27 年 10 月 4 日

6. 関連特許(Patent)

なし。