

課題番号 : F-16-NU-0053  
利用形態 : 機器利用  
利用課題名(日本語) : 細胞培養マイクロデバイスの開発  
Program Title (English) : Development of Cell Culture Microdevices  
利用者名(日本語) : 清水一憲, 今泉裕, 山岡奈央, 片山碧  
Username (English) : K. Shimizu, Y. Imaizumi, N. Yamaoka, M. Katayama  
所属名(日本語) : 名古屋大学大学院工学研究科  
Affiliation(English) : Graduate School of Engineering, Nagoya University

## 1. 概要(Summary)

医薬品開発プロセスにおいて、平面培養細胞実験や動物実験などの非臨床試験が実施されているが、ヒトの生理現象を正確に再現できていないと考えられていることから、それらに代わる技術の開発が期待されている。微細加工技術を用いると、培養細胞に対して時空間的制御した化学・物理刺激を負荷することが可能であると考えられ、従来の細胞培養法よりも、高度に生体内に類似した環境を創り出せると考えられる。本研究では、骨格筋細胞と神経細胞を位置制御し、それらの細胞に対して、化学・物理刺激を負荷することが可能なバイオマイクロデバイスの開発を目指した。名古屋大学の微細加工ナノプラットフォームの複数の装置を利用してバイオマイクロデバイスを作製し、実際に細胞培養を行った。

## 2. 実験(Experimental)

### 【利用した主な装置】

レーザー描画装置、フォトリソグラフィ装置、パリレンコーティング装置一式

### 【実験方法】

レーザー描画装置を用いて、ガラス製のフォトマスクを作製した。次に、シリコンウェハ上にネガティブフォトレジストである SU-8 3050(MicroChem)をスピンコートし、薄膜を形成した。その後、ホットプレートを用いて、100°Cで45分間加熱した。フォトリソグラフィ装置を用いて作製しフォトマスクを用いて露光した。95°Cで5分間加熱した後に、SU-8用現像液で露光していない部分のSU-8 3050を除去した。

上述の方法で作製した鋳型を用いて、マイクロデバイスを作製した。ポリジメチルシロキサン(PDMS)を鋳型上に注ぎ、75°Cで2時間硬化させた。硬化したマイクロパターン付PDMSをカバーガラスに密着させ、デバイスを完成させた。

## 3. 結果と考察(Results and Discussion)

作製した細胞培養マイクロデバイスを用いて、運動神経細胞と骨格筋細胞の共培養を行い、デバイス内での神経筋接合部(Neuromuscular junction: NMJ)の形成を目指した。まずヒトiPS由来運動神経細胞を片側の細胞培養部に播種した。数日間培養後、もう片方の細胞培養部に骨格筋細胞を播種し、分化誘導培養を行った。経時的に観察を行い、神経軸索が分化した骨格筋細胞まで到達したことを確認した。蛍光免疫染色を行った結果、NMJが形成されていることが明らかになった(Fig.1)。今後、さらにデバイスと培養プロセスの改良を行い、効率的なNMJ形成の達成を目指す。



Fig.1 NMJ observed in the device.  
(White arrow) A single axon observed in the microchannel. (White arrow head) NMJ observed in the micro-cell culture chamber. Scale bar: 5  $\mu$ m

## 4. その他・特記事項(Others)

・科研費 若手 A(26709062)

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

なし。

## 6. 関連特許(Patent)

なし。