

課題番号 : F-17-HK-0008
利用形態 : 機器利用
利用課題名 (日本語) : 細胞折りたたみ技術を用いた 3 次元立体組織の構築
Program Title (English) : Functional measurement of cell in 3D using foldable microplates
利用者名 (日本語) : 繁富(栗林)香織
Username (English) : K. Kuribayashi-Shigetomi
所属名 (日本語) : 北海道大学
Affiliation (English) : Hokkaido University
検索キーワード : 多種細胞, 3 次元共培養, マイクロ立体構造プレート、
リソグラフィ・露光・描画装置、膜加工・エッチング

1. 概要 (Summary)

近年、生体と同様な環境を整えるために、多種細胞を 3 次元で共培養できる様々な手法が確立してきている。しかしながら、多種細胞を用いて立体的に構造を構築する手法は複雑である。そこで、本事業では、細胞折紙技術を用いて作製された立体構造の内部に異なる細胞を培養し 3 次元共培養を実現した。構築された 3 次元共培養での機能特性を調べた。

2. 実験 (Experimental)

【利用した主な装置】 両面マスクアライナ (MA-6)、
反応性イオンエッチング装置 (RIE-10NR)

【実験方法】 細胞によるマイクロ立体構造の作製方法は、ガラス基板に生体適応材料であるパリレン (ポリパラキシリレン樹脂) を蒸着し、微細加工技術よりパリレンをマイクロサイズに加工する。細胞がパリレン上のみ培養できるように、パリレンプレート以外のガラス部分には、細胞の吸着を防ぐ 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン (MPC) ポリマーをコーティングする。マイクロプレート上に細胞 (3T3) を 24 時間培養後、異なる種類の細胞 (HepG2) を培養し、アルギン酸リアーゼ酵素によりマイクロプレート下のアルギン酸ゲルを溶かすことで、マイクロプレートをガラス基板から剥がすことができる。細胞の牽引力によりマイクロプレートが起き上がり、NIH/3T3 で HepG2 を包みこんだ立体構造を構築することができる。作製された立体構造と折り畳まずに平面状で共培養を行った時のアルブミン生成の量を比較した。以下、北海道大学のナノテク支援装置を使用した。パターン作製は、両面マスクアライナ (MA-6, Suss MicroTec) を使用した。O₂プラズマは、反応性イオンエッチング装置 (RIE-10NR, サムコ) を使用した。

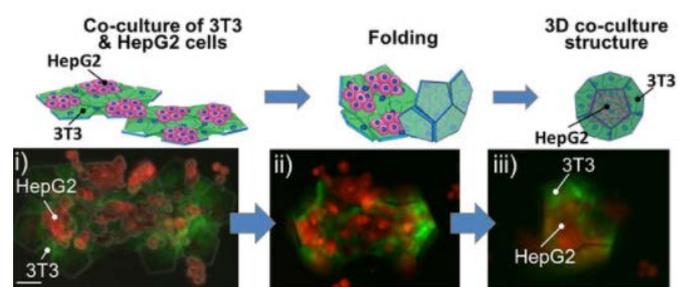


Fig. 1 Formation of 3D cell co-culture microstructures.

3. 結果と考察 (Results and Discussion)

細胞が培養されているマイクロプレートは、アルギン酸リアーゼによりガラス基板から剥がれ、細胞の牽引力により折畳まれた (Fig. 1)。多種細胞の 3 次元立体構造を作製することができた。さらに、2 次平面状で、培養した場合に比べて、細胞機能が向上していることを確認した。

4. その他・特記事項 (Others)

装置の選択に関して、北海道大学 Agus Subagyo 博士、細井浩貴博士にご指導していただいた。ここに深く感謝したい。

5. 論文・学会発表 (Publication/Presentation)

Qian He, Takaharu Okajima, Hiroaki Onoe, Agus Subagyo, Kazuhisa Sueoka and Kaori Kuribayashi-Shigetomi, “Origami-based self-folding of co-cultured NIH/3T3 and HepG2 cells into 3D microstructures”, Scientific Reports Vol. 8, 4556 (2018).

6. 関連特許 (Patent)

なし