

課題番号 : F-17-RO-0049
利用形態 : 共同研究
利用課題名(日本語) : 幹細胞を大量に培養する基材の開発
Program Title (English) : Development of a mass culture scaffold for stem cells
利用者名(日本語) : 角南寛, 清水雄介, 傳田淳子
Username (English) : H. Sunami, Y. Shimizu, J. Denda
所属名(日本語) : 琉球大学医学部
Affiliation (English) : Faculty of Medicine, University of Ryukyus
キーワード/Keyword : マイクロパターン、三次元形状、細胞足場材料、医用材料、細胞接着、幹細胞機能、膜加工・エッチング

1. 概要(Summary)

間葉系幹細胞を用いた再生治療が注目されている。間葉系幹細胞による治療効果を向上させ、確固たる治療法として広く認められるためには、高品質の間葉系幹細胞を大量に抽出することが急務である。間葉系幹細胞を用いた再生治療を促進するために、本研究ではマイクロパターンを用いて生体組織から高品質の間葉系幹細胞を大量に抽出する新技术を開発する。そのマイクロパターンの作製および再生を、ナノデバイス・バイオ融合科学研究所のクリーンルーム内の設備を利用して行う。本研究によって、間葉系幹細胞の足場に最適なマイクロパターンが得られる。そのマイクロパターンの形は、間葉系細胞を分離する技術や、動きによって細胞を診断する技術、あるいは必要な細胞が自発的に目的の場所に集まり組織を再生するような再生医療用材料への応用が期待される。これらの成果は特許出願されると共に、論文発表される予定である。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

エッチング装置 (レジスト Ashing 用)

【実験方法】

1 cm 角シリコンウェハ上にフォトリソグラフィを用いて様々な形状のマイクロパターンを作製した。パターン作製後、FE-SEM およびカラーレーザー3D顕微鏡 VK-9700 (キーエンス株) を用いて、各マイクロパターンの三次元的な形状を観察した。得られたマイクロパターンの形状像から、各マイクロパターンの空孔率や深さ、基本形状のサイズ等が求められた。

作製されたマイクロパターンは、細胞培養に用いられる前に O₂ プラズマ処理により表面を親水化され、滅菌された後、培地に浸漬されて減圧下で脱気された。

これらのマイクロパターン上で間葉系幹細胞を培養し、各種観察を実施した。その後、広島大学にてエッチング装置 (レジスト Ashing 用) による O₂ プラズマ処理 (10 min) および HF 洗浄を実施し、マイクロパターンの再生を試みた。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

様々な形状のマイクロパターン上で培養された間葉系幹細胞は、各マイクロパターンの形状を顕著に反映して接着伸展することが分かった。また、間葉系幹細胞の迅速な大量抽出に有用なマイクロパターンをいくつか見いだすことに成功した。更に、O₂ プラズマ処理 (10 min) および HF 洗浄により、マイクロパターンの再生を試みたが、マイクロパターン表面から完全に細胞を除去することができなかった。マイクロパターンを再生するためには、O₂ プラズマ処理の時間を延ばす必要がある。

4. その他・特記事項(Others)

共同研究者： 横山新、田部井哲夫、佐藤亘 (広島大学ナノデバイス・バイオ融合科学研究所)

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

(1) H. Sunami, et al., The 2nd International Symposium on Biomedical Engineering, Nov 9th 2017.

6. 関連特許(Patent)

なし