

課題番号 : F-18-NM-0067
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : 幹細胞機能を制御するマイクロパターン基材の開発
Program Title(English) : Development of micropattern scaffolds for controlling of stem cells functions
利用者名(日本語) : 角南寛
Username(English) : H. Sunami
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 : バイオ&ライフサイエンス、リソグラフィ・露光・描画装置、細胞足場、幹細胞

1. 概要(Summary)

私は、幹細胞の培養上清液中に含まれる目的のサイトカイン濃度を高める独自技術を開発し、これを企業に技術移転して競争力の高い化粧品の開発に繋げようと考えている。目的のサイトカイン濃度を高めるために、サイトカインの種類や濃度を制御する培養技術の開発を行う。特に、振動や遠心力、剪断応力、足場の形と硬さといった機械的な刺激に対して、サイトカインの産生がどう変化するのかも調べたいと考えている。ちなみに、足場の形の刺激はマイクロパターンを有するシリコン基板や高分子薄膜、不織布などの上で細胞を培養することで細胞に付与される。私はこういった刺激を細胞に与え、化粧品の用途ごとに与える刺激を調節し、各サイトカインの含有量を最適化したいと考えている。ナノテクノロジープラットフォームではこの研究に使用するマイクロパターンを有するシリコン基板の作製および洗浄を行った。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

多目的ドライエッチング装置(RIE-200NL)、
シリコン深掘りエッチング装置(MUC-21 ASE-SRE)
走査電子顕微鏡(S-4800)
マスクアライナー(MA6 BSA)
プラズマアッシャー(PB-600)

【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。パターン作製には、多目的ドライエッチング装置やシリコン深掘りエッチング装置、走査電子顕微鏡、マスクアライナー、プラズマアッシャーなどを用いた。パターン作製後、走査電子顕微鏡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多目的ドライエッチング装置やプラズマアッシャーを用いた 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、再度 O₂プラズマ処理および 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プラズマ処理および HF 洗浄により、マイクロパターンの再生を試み、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た。

4. その他・特記事項(Others)

・競争的資金: 科研費基盤(B) 15H03008
・技術支援者: 大里大輔(NIMS 微細加工 PF)

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

(1) H. Sunami, et al., J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater. 106(3) (2018) 976-985.

6. 関連特許(Patent)

1 件出願