

課題番号 : F-19-KT-0094
利用形態 : 装置利用、技術補助
利用課題名(日本語) : 運動による細胞集団相分離メカニズムの階層横断的理解
Program Title (English) : Elucidating multi-scale integration in the motility-induced phase transition of cells
利用者名(日本語) : 杉村薫、エステルゴクラン、井川敬介
Username (English) : Kaoru Sugimura, Estelle Gauquelin, Keisuke Ikawa
所属名(日本語) : 京都大学高等研究院物質—細胞統合システム拠点
Affiliation (English) : iCeMS, IAS, K WPI iyoto Universty
キーワード/Keyword : リソグラフィ・露光・描画装置、バイオ&ライフサイエンス、細胞基板加工、相分離

1. 概要(Summary)

運動能が異なる二種類の細胞を混ぜると、細胞集団が区画化(相分離)することが知られている。細胞集団相分離は個体発生における組織境界形成に働き、その破綻はガン浸潤などの病態を引き起こす。我々は、既存研究では不可能だった多階層計測・応力計測および多階層モデリングを実施することで、細胞集団相分離の力学制御の解明を目指して研究を進めている。本課題では、ナノハブで作製したシリコンモールドを利用した、細胞基板(ファイブプロネクチン)のマイクロパターニングにより、培養細胞集団の初期配置や境界条件を制御した。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

[A08] レジスト塗布装置、[A10] レジスト現像装置、
[A11] ウエハスピン洗浄装置、[A03] レーザー直接描画装置、
[A07] 厚膜フォトレジスト用スピンコーティング装置、
[B08-1] 深掘りドライエッチング装置(Φ6")

【実験方法(Experimental procedures)】

We prepared two wafers. Step 1: we used the [A11] machine, recipe 01, to clean the wafers. Step 2: hot plate for 3 min at 150°C. Step 3: we used machine [A07], recipe 01, to coat the wafers with HMDS. Step 4: we used machine [A08], recipe 35, to coat our wafers with TCIR-ZR8800PB. Step 5: hot plate for 90 sec at 130°C, followed by rapid cooling. Step 6: we used machine [A03] to draw our patterns on the wafers, with laser intensity 110. Step 7: hot plate for 90 sec at 110°C, followed by rapid cooling. Step 8: we used machine [A10], recipe 22, to

develop our patterns with TMAH 2.38%. Step 9: we used machine [B08-1], recipe 87, to etch our patterns. Step 10: we put the wafers in Novec 7000 at 70°C for 5 min, then in ST-120 at 70°C for 10 min (with change of solvent after 5 min). I use the wafers as molds to create PDMS stamps. I pour PDMS on a wafer's patterns, put it in the oven at 80°C for 2 h to cure, then remove the PDMS layer with plastic tweezers. The step 10 was to prevent PDMS from sticking during peeling but it did not work, so I treated the surface with silane instead.

3. 結果と考察(Results and Discussion)

直径 1mm の円状にパターニングしたファイブプロネクチンの上で、MDCK 細胞を細胞分裂抑制薬剤処理後数日間、安定的に培養できることを確認した。顕微鏡で取得した細胞およびPDMSに埋め込んだ蛍光ビーズの動画から、細胞運動速度と細胞牽引力、細胞集団応力を測定することも確認した。単一細胞種での実験プロトコルを確立できたので、二種細胞集団を混合させて、細胞集団の区画化過程の計測を進めている。

4. その他・特記事項(Others)

ナノハブの技術職員の皆様には、実験機器の使い方を丁寧に説明していただきました。御礼申し上げます。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

なし。

6. 関連特許(Patent)

なし。