

課題番号 : F-19-KT-0120
 利用形態 : 機器利用
 利用課題名(日本語) : 生体分子、細胞、組織操作のためのマイクロ・ナノデバイス開発(1)
 Program Title (English) : Development of micro/nano devices for manipulations of molecules, cells and tissues(1)
 利用者名(日本語) : ファーハナ タマンナ イシュラット、亀田良一、一色庸平、久保亜樹、森分真由美
 Username (English) : Tamanna Ishrat Farhana, Y. Kameda, Y. Isshiki, A. Kubo, M. Moriwake
 所属名(日本語) : 京都大学大学院工学研究科マイクロエンジニアリング専攻
 Affiliation (English) : Department of Micro Engineering, Kyoto University
 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、オンチップ血管網、オルガノイド

1. 概要(Summary)

近年、ヒト多能性幹細胞からオルガノイドと呼ばれるヒトの臓器を模した三次元組織を作製する試みがなされている。しかし、現在のオルガノイドには機能性を有する血管が欠如しており、その結果、構造が生体内の臓器と比較し未熟であるといった課題が存在する。そこで、本研究では、微細加工技術を用いて作製したマイクロ流体デバイス内で血管網を構築し、その血管網上でオルガノイドを培養する「オンチップ血管床」システムを構築した。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

両面マスクアライナ露光装置

【実験方法】

Si 基板の上にネガ型フォトレジストを厚さ 250 μm になるようスピコートした。次に、両面マスクアライナ露光装置を用い、5 本のマイクロ流路を有するパターンを転写し、現像をおこなった。上記の過程で作製したものを鋳型とし、PDMS とガラスからなるデバイスを作製した (Fig. 1a)。

次に、フィブリンとコラーゲンからなるゲルに GFP 発現したヒト臍帯静脈内皮細胞 (GFP-HUVECs)、またはヒト肺線維芽細胞 (hLFs) を懸濁し、GFP-HUVECs をチャンネル 3 に hLFs をチャンネル 1、5 に導入した。最後に培地をチャンネル 2、4 に導入し、培養を開始した。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

構築した血管網の共焦点画像を Fig. 1b に示す。共焦点画像により得られた断面図より、構築した血管網は管腔を有していることが分かる。よって、血管網を通じ、培地を灌流することが可能となる。

今年度は、安定的な血管網を構築するためのデバイス

の検討をおこなった。今後は、最適化したデバイスを用い、オルガノイドと血管網との共培養をおこなう予定である。

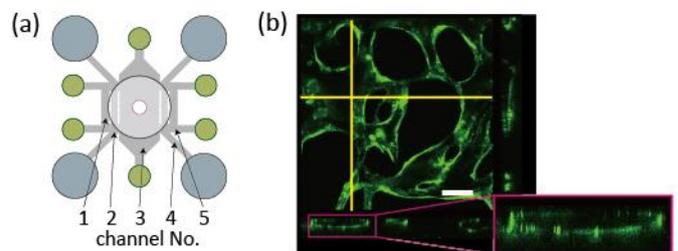


Fig. 1 (a) The design of the microfluidic device. (b) Confocal image of vascular networks. Green: GFP-HUVECs. Scale bars: 50 μm .

4. その他・特記事項(Others)

・AMED 「再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業」

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

- (1) 亀田良一 他 “オンチップ血管床との直接接触を可能とする三次元組織培養法の開発,” 第40回化学とマイクロナノシステム研究会, 4P06. 浜松, 2019/11/19-21
- (2) Y. Kameda et al, “On Chip Vascular Bed Enables Integration of a Spheroid and Perfusable Vasculature” μTAS 2019, pp. 522-523, Basel, Switzerland, 2019/10/27-31

6. 関連特許(Patent)

- (1) 亀田良一 他 “マイクロ流体デバイス及びその製造方法、並びに立体組織の培養方法 ” 特願 2019-122026, 2019/06/28 出願