

課題番号 : F-19-KT-0122  
 利用形態 : 機器利用、技術補助  
 利用課題名(日本語) : 微細メッシュ構造を用いた細胞接着制御機能制御 (1)  
 Program Title (English) : Cell Adhesion Modulation Using a Microfabricated Micromesh Substrate (1)  
 利用者名(日本語) : オケヨケネディ<sup>1)</sup>、安藤悠太<sup>2)</sup>、木部善清<sup>3)</sup>、玉井龍太郎<sup>2)</sup>、下平剛司<sup>2)</sup>  
 Username(English) : K. Okeyo<sup>1)</sup>, Y. Ando<sup>2)</sup>, Y. Kibe<sup>3)</sup>, R. Tamai<sup>2)</sup>, T. Shimodaira<sup>2)</sup>  
 所属名(日本語) : 1)京都大学ウイルス・再生医科学研究所、2)京都大学大学院工学研究科、3)京都大学大学院生命科学研究所  
 Affiliation(English) : 1)Institute for Frontier Life and Medical Sciences, Kyoto University, 2)Graduate School of Engineering, Kyoto University, 3)Graduate School of Biostudies, Kyoto University  
 キーワード/Keyword : 微細メッシュ構造、リソグラフィ・露光・描画装置、SU-8 レジスト、細胞接着制御

## 1. 概要(Summary)

微細加工技術を細胞動態制御に応用する研究が注目を集めている。我々は細胞接着を限定化するメッシュ構造基板を足場とする培養法、つまり「メッシュ培養法」を独自に開発している。本研究では、細胞接着を制御可能にする微細メッシュ構造基板をフォトリソグラフィ法により作製して用い、接着環境の調節が細胞分化に与える影響を検討した[1]。

## 2. 実験(Experimental)

### 【利用した主な装置】

両面マスクアライナー、レーザー直接描画装置、ウエハスピン洗浄装置、レジスト現像装置

### 【実験方法】

細胞 1 個の大きさよりも線幅が細く、開口部は大きいことが特徴のメッシュ構造基板 (Fig. 1(A))を京都大学ナノテクノロジーハブ拠点で作製し、細胞培養支持体として用いた、具体的な作製手順として、まず、スピン洗浄装置を用いて洗浄した Si ウエハ表面に、犠牲層となるゼラチンとフォトレジストである SU-8 をスピコートした。次に、レーザー描画装置を用い、微細な格子構造を描画したガラスマスクを用いて SU-8 を紫外線露光した。フォトリソグラフィ工程の終了後、Si ウエハを湯煎することでゼラチン層を溶解し、メッシュ構造を描画した SU-8 を剥離した。これをカプトンテープ等で補強し、メッシュ構造基板を完成させた。

## 3. 結果と考察(Results and Discussion)

Fig. 1(B)に示すように、メッシュ基板を浮かせて設置し、その上にマウスES細胞を播種すると、メッシュの線上に付着した細胞がお互いに結合してメッシュ開口部を埋

める展開を示し、最終的にシート状の細胞組織を形成した。さらに培養を続けると、シート状の細胞組織の一部で形状展開が生じ、袋状の3次元構造が出現した[1]。マイクロ解析や免疫顕微鏡法による発現解析の結果、マウスES細胞の始原生殖細胞への分化が確認され、メッシュ基板による細胞接着空間制御のみで細胞の分化方向性を制御できることを見出した。今後、メッシュの形状やサイズの異なる基板を作製して用い、分化制御の具体的なメカニズムを明らかにする。

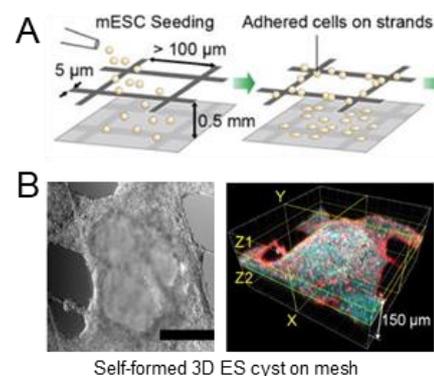


Fig. 1 Self-organization of Mouse ES cells on a micromesh.

## 4. その他・特記事項(Others)

なし

## 5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

(1) Yuta Ando, et al., APL Bioeng. 3(1): 016102 (2019).

## 6. 関連特許(Patent)

なし