

課題番号 : F-19-NM-0055
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : 幹細胞を抽出培養するためのマイクロパターン基材の開発
Program Title(English) : Development of micropatterned scaffolds for stem cells extraction and cultivation
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., Univ. of the 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、バイオ MEMS、培養基材

1. 概要(Summary)

私は、ヒトの各組織より様々な体性幹細胞を抽出し、これを培養する独自技術の開発を行っている。ヒトの各組織に含まれる様々な体性幹細胞を効率よく抽出し、同時に増殖速度を高める独自技術を開発することで、体性幹細胞を用いた再生治療の発展に繋げようと考えている。各組織より効率良く体性幹細胞を抽出するために、組織を播種するだけで、体性幹細胞を抽出しながら培養できるマイクロパターンを開発中である。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。ちなみに、開発中のマイクロパターンはストライプ状の形状が基本となっているが、詳細は記述できない。私はこういったマイクロパターンの形状を組織や体性幹細胞毎に最適化し、新たな体性幹細胞抽出培養技術の確立を目指す。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や表面処理、洗浄、観察を行った。

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 角もしくは 2 cm 角の熱酸化膜付き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、マスクアライナー、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、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表面処理と滅菌、脱気が行われた。表面処理は、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 プラズマ処理による親水化である。滅菌はオートクレーブ滅菌である。脱気は、培地に浸漬された状態での減圧脱気である。

これらのマイクロパターン上にヒトの各組織を播種し、組織から体性幹細胞が這い出してくる過程をタイムラプス観察した。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)

マイクロパターン上に播種された組織から体性幹細胞を抽出培養できることが分かった。また、体性幹細胞の迅速な大量抽出培養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) 19H04448
- ・技術支援者: 大里啓孝(NIMS 微細加工 PF)

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

なし

6. 関連特許(Patent)

1 件学内審査中