

課題番号	: F-19-UT-0155
利用形態	: 機器利用
利用課題名(日本語)	: 2D/3D 微細積層構造からなる 3 次元細胞共培養基材
Program Title (English)	: 3D cell co-culture substrate consisting of 2D / 3D stacked microstructures
利用者名(日本語)	: 鈴木孝明、上野秀貴
Username (English)	: <u>T. Suzuki</u> , H. Ueno
所属名(日本語)	: 群馬大学大学院理工学府知能機械創製部門
Affiliation (English)	: Division of Mechanical Science and Technology, Gunma University
キーワード/Keyword	: リソグラフィ・露光・描画装置、3 次元細胞培養、バイオマイクロデバイス

1. 概要(Summary)

足場構造を利用した 3 次元細胞培養技術は、細胞を滴下播種するのみで生体内の複雑な細胞組織を In Vitro に構築できる。しかし、平面的な細胞組織を構築するための 2D 足場と、細胞を含有する 3D 足場では、必要とされる構造の形状とサイズ、そして作製方法は異なり、2D と 3D の両構造を組み合わせた足場構造の作製は困難であった。本研究では、厚膜フォトレジストの感光/非感光部におけるガラス転移温度差を用いたポラス構造上へのマイクロパターニング技術を提案 (PCT 出願) し、2D と 3D の両構造を有した細胞培養用足場構造 (Membrane Integrated Scaffold, MIS) を作製、3 次元細胞共培養を行った。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

- 高速大面積電子線描画装置
- マスク・ウエーハ自動現像装置群

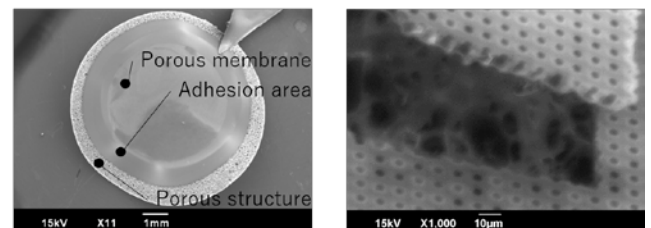
【実験方法】

厚膜フォトレジストの未感光部と感光部のガラス転移温度の相違を利用した平滑基板上でのポラス材料へのパターニング接合と犠牲層リリースによる基板からの剥離を組み合わせたマイクロパターニング方法を提案した。共用施設では、リソグラフィに用いる特殊な設計パターン of フォトマスクを製作した。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

3D 培養に用いられる市販の 3D ポラス構造に 2D 多孔メンブレン構造を高精度にパターニングし、細胞を透過しない 4 μm 以下の孔を有する多孔メンブレンと、細胞を含有可能な 3D ポラス構造からなる MIS が作製できた (Fig. 1)。さらに、作製した構造の両面に、HUVEC 細胞

と HeLa 細胞をそれぞれ播種した結果、両細胞が足場構造に接着し、2D 平面的な HUVEC 細胞組織構造と、厚みのある立体的な HeLa 細胞の 3D 組織構造が薄膜メンブレン構造で区切られた細胞組織を構築できた (Fig. 2)。



(a) Patterned side of the MIS
 (b) Cross-section of the porous membrane
 Fig. 1 SEM images of the fabricated MIS. [1]

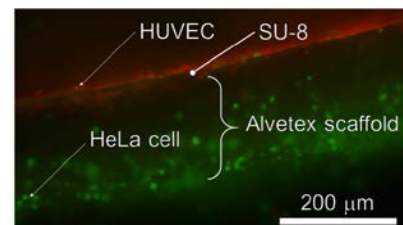


Fig. 2 Cross-sectional fluorescent image of 3D cell co-culture on the MIS. [1]

4. その他・特記事項(Others)

本研究の一部は、科学研究費補助金・基盤研究(B) (17H03196)の支援を受けて実施した。また、東京大学技術支援者の皆様には、丁寧なご支援を頂いた。ここに記して心より謝意を表す。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

- (1) H. Ueno, et al., Micromachines, Vol.11 (2020) 54.
- (2) T. Tamura, et al., Japanese Journal of Applied Physics, Vol.58 (2019) SDDL10.

6. 関連特許(Patent)

- (1) 鈴木孝明 他、PCT/JP2019/044689、2019/11/14.