

課題番号 : F-20-NM-0076
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : 細胞分離診断技術の開発
Program Title (English) : Development of a new system for cells separation and evaluation
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、MEMS

1. 概要(Summary)

私は酵素や抗体を使わずにヒト組織やヒト細胞集団から単一の細胞種を分離しながら評価する新しい技術を研究開発する。この新技術は、それぞれの細胞種が足場基材の形状毎に接着能や遊走能に大きな差異を持つことを積極的に活用し、ヒト組織やヒト細胞集団から単一細胞種の分離に最も適した細胞足場の形状を網羅的に探索するものである。細胞の足場の形状要素と効果の相関を一つ一つ明確にしていくことで、目的を達成できると考えている。本研究開発で得られた知見は、ヒト組織やヒト細胞集団の細胞種の同定にも活用できると期待される。将来的には病変部位の細胞診断などへの応用を目指したいと考えている。現在、さまざまなヒト組織やヒト細胞集団を播種するだけで、これらに含まれる細胞種を分離しながら評価できるマイクロパターンを開発中である。このマイクロパターンは、変則的なストライプ状の形状が基本となっている(特許出願準備中のため、詳細を記述できない)。私はこういったマイクロパターンの形状をヒト組織やヒト細胞集団毎に最適化し、新たな細胞の分離評価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)

【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マイクロパターンを製作した。各パターン作製には、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、走査電子顕微鏡などを用いた。各マイクロパターン作製後、走査電子顕微鏡およびカラーレーザー 3D 顕微鏡 VK-9710(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。得られた各マイクロパターンの形状像から、各マイクロパターンの基本的な形状パラメータが求められた。

各マイクロパターンは、ヒト組織もしくはヒト細胞集団を播種される前に滅菌と脱気が行われた。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組織もしくはヒト細胞集団を播種し、これらから特定の細胞種が這い出してくる過程をタイムラプス観察した。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

マイクロパターン上に播種されたヒト組織もしくはヒト細胞集団から特定の細胞種を分離できることが分かった。また、特定の細胞種の迅速な分離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。

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)

H. Sunami et al., Advanced Biosystems, Vol.4, Issue10, 2020.

6. 関連特許(Patent)

1 件学内審査中