

細胞凝集体のジオメトリ制御

—三次元セルラー・インテグレーションのためのトロイダル細胞凝集体の形成法—

○武井菜月¹, 益田泰輔², 中野琢磨², 新井史人^{2,3}

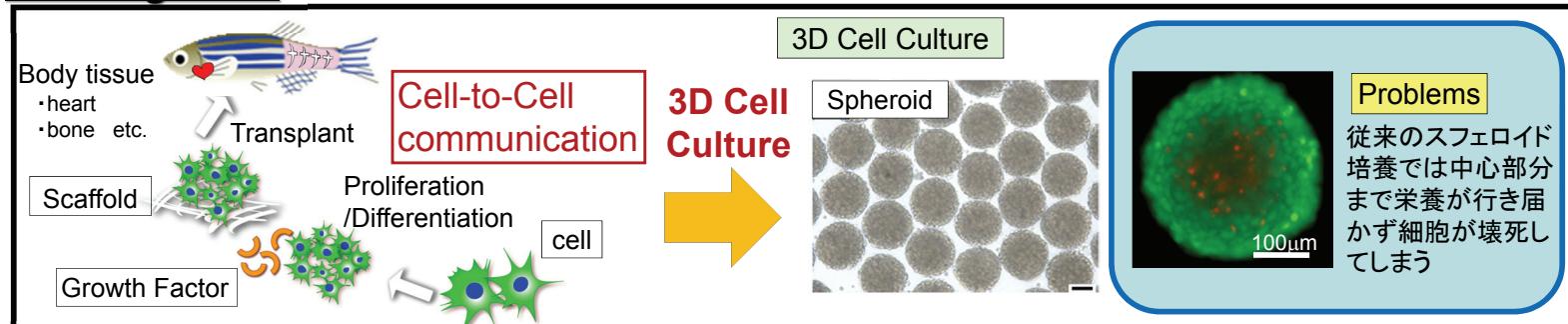
1. 名古屋大学工学部機械・航空工学科,

2. 名古屋大学大学院工学研究科マイクロ・ナノシステム工学専攻新井研究室, 3. Seoul National University

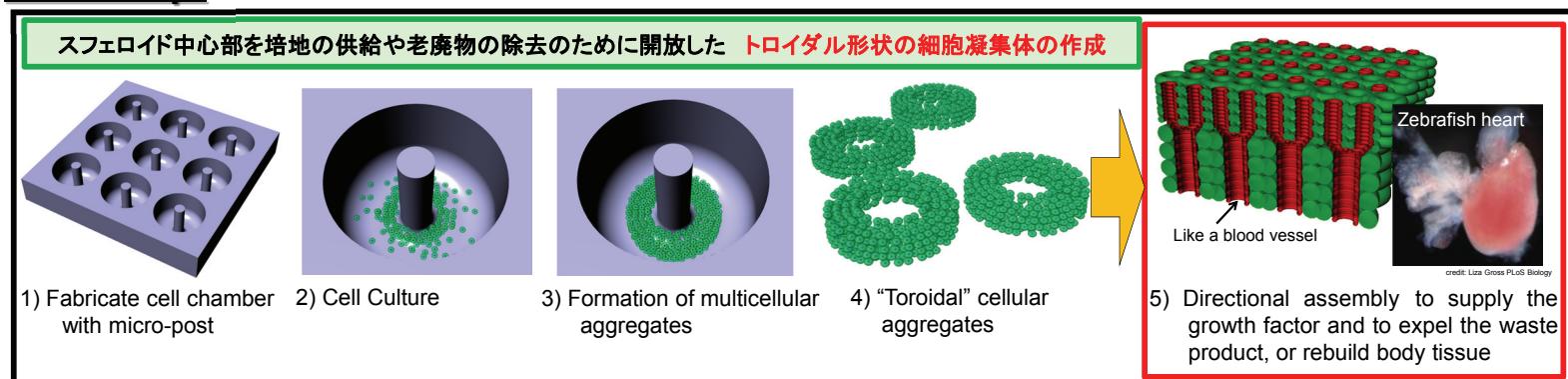


小型生物の心臓再構築への挑戦

1. Background



2. Concept



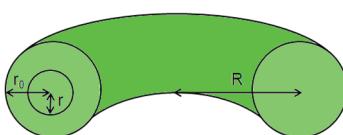
3. Design & Fabrication

細胞の生存限界

Fickの第一法則を用いて酸素の拡散を考慮し、細胞の生存限界値を概算した。

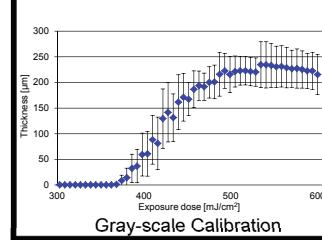
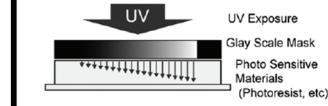
周囲の組織の酸素濃度: $P_e = 0.47 \times 10^{-4} \text{ mmol/cm}^3$
細胞凝集体中の酸素の拡散係数: $D = 1.4 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{sec}$
細胞凝集体の酸素消費速度: $m = 1.2 \times 10^{-5} \text{ mmol/cm}^3 \cdot \text{sec}$

$$r_0 < \left(\frac{4P_e D}{m} \right)^{\frac{1}{2}} \Rightarrow r_0 < 148 \mu\text{m}$$



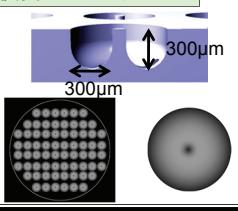
培養チャンバーの作成

3次元微細加工が必要



(K. Itoigawa, et al., Anal Chem, 2008)

設計したパターン



Maskless lithography and Gray-scale exposure

- Coating
SU-8 (G Line) 600rpm
- Exposure from backside
Exposure light (Max: 700mJ/cm²)
- Development
- Transcribing onto PDMS and modification of surface
low attachment (Pluronic F-129)

4. Experiment

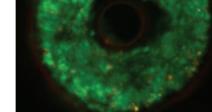
Mouse Embryonic Carcinoma P19CL6 Cells; Density of $1.0 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^6 \text{ cells/chamber}$, MEM-a supplement with 10% FBS, 1%DMSO in a humidified 5% CO₂ environment at 37°C

細胞凝集体の回収と生存率評価

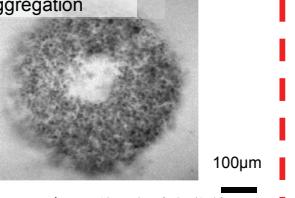
細胞の培養

After 3 days culture

Cellular aggregation (P19CL6)



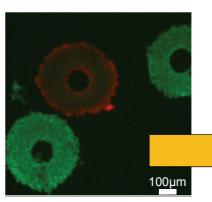
Retrieving cellular aggregation



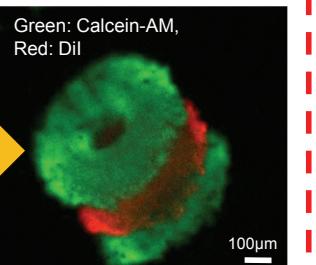
- トロイダル形状の細胞凝集体の回収に成功
- 細胞の生存率は、95%以上であった。

トロイダル形状の細胞凝集体の作成に成功

細胞凝集体のアセンブリ



3個の細胞凝集体のアセンブリに成功



5. Conclusions

- 長期間培養のための細胞凝集体培養装置の作成方法を提案した。
- 培養チャンバーの形状は、グレイスケール露光によって実現でき、マスクレスリソグラフィー装置を利用することで安価に作成できた。
- チャンバーに非接着処理を行い、トロイダル形状の細胞凝集体の作成、及びその回収に成功した。
- 現行の三次元スフェロイド培養の問題点である栄養分の供給不足・老廃物の排出不全が改善された。
- 今回作成したトロイダル形状の細胞凝集体は、今後、3次元組織構造として必要な血管系及び神経系の導入を含めたアセンブリ技術、ひいては生体組織の再構築技術への展開が期待される。

本研究に関するお問い合わせ先: 益田 泰輔(Taisuke Masuda)

E-mail: masuda@mech.nagoya-u.ac.jp, URL: <http://www.biorobotics.mech.nagoya-u.ac.jp/>,

TEL: 052-789-5656, FAX: 052-789-5213

〒464-8603 名古屋市千種区不老町 名古屋大学大学院工学研究科 マイクロ・ナノシステム工学専攻 新井研究室

