

幹細胞の機能を制御するマイクロパターン化培養基板の開発

SATテクノロジー・ショーケース2013

■ はじめに

近年、マイクロパターン状の細胞接着領域をもつ培養基板を用いて、種々の細胞の接着・増殖・分化などの機能が活発に研究されています。特に、幹細胞は再生医療の有望な細胞源として期待され、その分化に影響するファクターを調べることは再生医療の実現化にとってきわめて重要と考えられています。そこで私たちは、①幹細胞の形、②幹細胞の広がり(伸展面積)を制御できるマイクロパターン化基板を作製し、①、②それぞれのファクターが分化にどのように影響するかについて調べました。

■ 研究開発の内容

1. マイクロパターン化基板の設計と作製

①幹細胞の形を制御するため、等しい面積の三、四、五、六角形、円形パターンの細胞接着領域をもつ培養基板を作製しました。また、②幹細胞の伸展面積を制御するため、面積の異なる円形パターンの細胞接着領域をもつ培養基板を作製しました。

具体的にはまず、細胞が接着しない性質をもつことで知られるポリビニルアルコールに光反応性の分子を結合させました。次に、この光反応性高分子の水溶液を細胞培養用のポリスチレン基板の表面にコーティングしました。つづいて、①三、四、五、六角形、円形の等面積のパターン、②異なる面積の円形パターンのフォトマスクをそれぞれ使い、紫外線を照射することによって、光反応によるマイクロパターン化を行いました(図1)。

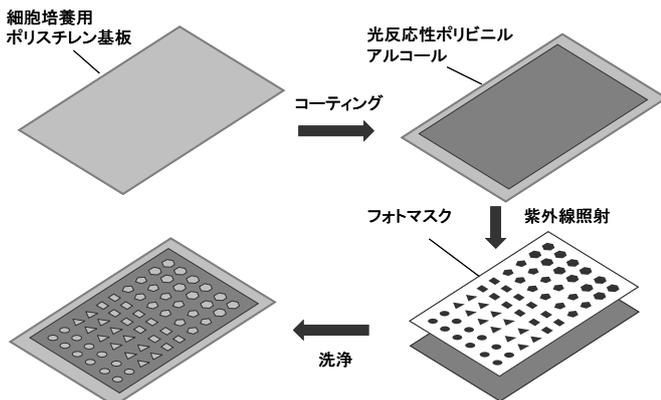


図1 マイクロパターン化基板の作製手順

得られたマイクロパターン化基板を光学顕微鏡で観察したところ、基板の表面にフォトマスクと同じ多角形と円の

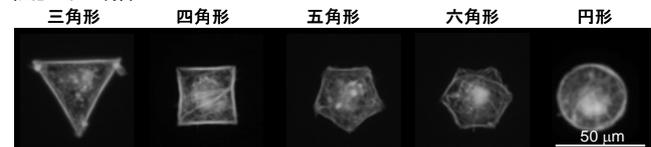
パターン(厚み数十ナノメートル)が確認されました。

2. マイクロパターン化基板を用いた幹細胞の培養

● マイクロパターン化基板を用いた細胞形形状、細胞伸展面積の制御

作製したマイクロパターン化基板にヒトの間葉系幹細胞を播き、6時間培養しました。細胞はポリスチレンの領域に接着し、マイクロパターンの形状や大きさに従って伸展していることが光学顕微鏡観察から分かりました(図2)

細胞の形の制御



細胞の伸展面積の制御

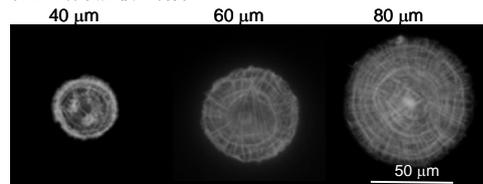


図2 マイクロパターン化基板を用いたヒト間葉系幹細胞の形と伸展面積の制御

● 細胞の形が脂肪分化に与える影響

脂肪細胞への分化を誘導するため、専用の培地で7日間培養しました。その後、脂肪滴を染色し、染色部分の面積を計測し、その結果をパターン間で比較しました。いずれのパターンでも脂肪への分化が観察されました。各パターンの染色面積を比べたところ、同じ程度に分化したことが示唆されました。

● 細胞の伸展面積が脂肪分化に与える影響

上記と同様に方法を用いて染色面積を比較した結果、細胞の伸展面積が小さくなるにつれて、脂肪細胞に分化する間葉系幹細胞の割合が増加することが分かりました。

■ おわりに

今後、マイクロパターン化培養基板によって、幹細胞の機能を効率よく制御するための知見が増え、再生医療研究が推進されることが期待されます。

■キーワード: (1) 再生医療
(2) 幹細胞
(3) マイクロパターン

代表発表者 川添 直輝 (かわぞえ なおき)
所属 独立行政法人物質・材料研究機構
国際ナノアーキテクニクス研究拠点
生体組織再生材料ユニット
問合せ先 〒305-0044 茨城県つくば市並木 1-1
TEL:029-860-4605 FAX:029-860-4706
KAWAZOE.Naoki@nims.go.jp