

C307 培養環境探索を指向した灌流培養マイクロチャンバーアレイチップの開発

(産総研 器官発生) ○ (正) 服部 浩二, (正) 杉浦 慎治*, (正) 金森 敏幸

1. 緒言

近年、我々は医薬品開発における細胞アッセイを効率化するため、灌流培養マイクロチャンバーアレイチップを開発した¹。一方、細胞の接着、増殖、分化は培養環境に強く依存するため²、個々の細胞に適した培養環境を探索する必要がある。このような探索を網羅的に実施するには、従来技術では手間がかかる実験を何度も繰り返さなければならない。そこで本研究では、マイクロチャンバー内で異なる液性因子と ECM を組み合わせることでチップ上に多様な培養環境を構築し、個々の細胞に最適な培養環境を網羅的に探索することを指向した灌流培養マイクロチャンバーアレイチップを開発した。

2. 実験方法

マイクロチャンバーアレイとマイクロ流路から成るチャンバーアレイチップを PDMS のソフトリソグラフィによって作製した¹。このチャンバーアレイチップは個々に独立した 64 個のマイクロチャンバーとマイクロ流路で構成されており、右側から細胞懸濁液を、左側から異なる液性因子を含む 4 種類の培地を導入するようになっている (Fig. 1)。

また、3 種類の ECM (collagen, fibronectin, laminin) が 2 列ずつ並ぶ ECM アレイチップを既報の方法で作製した³。ECM アレイはマイクロチャンバーアレイにちょうど重なる寸法で配置されており、流路の並びと ECM アレイの並びが直交するように両アレイチップを接着して、1 枚の灌流培養マイクロチャンバーアレイチップを作製した。

3. 結果および考察

蛍光標識した 3 種類の ECM を 2 列ずつ固定化した結果、ECM が相互汚染なく固定化され、マイクロチャンバーに収まる直径 1mm 程の ECM アレイを正確なパターンで形成できた (Fig. 2)。また、両アレイチップを貼り合せ、異なる 4 種類の色素溶液を流した結果、各溶液が相互汚染なく流れたことを確認した (Fig. 1)。灌流培養マイクロチャンバーアレイチップ上に (4 種類の ECM) x (4 種の液性因子) = 16 通りの培養環境を構築できることが示された。

作製した灌流培養マイクロチャンバーアレイチップを用いて CHO 細胞の 12 時間の静置培養、次いで 24 時間の灌流培養を行ったところ fibronectin を固定したマイクロチャンバー内においては、静置培養により細胞が良好に接着し、灌流培養により増殖した。一方、collagen および laminin を固定したマイクロチャンバー内では CHO 細胞は接着しにくく、接着が弱い場合灌流培養すると細胞がはがれた。固定化した ECM の性質が細胞接着・増殖に寄与したことが示唆される (Fig. 3)。

本研究のマイクロチャンバーアレイチップは、異なる液性因子を含む 4 種類の培地を灌流することが可能であり、4 種類の ECM との組み合わせにより 16 通りの培養環境をマイクロチャンバー内に構築できる。各チャンバー内の細胞を個別に解析することで最適な培養環境を効率的に探索できると考えられる。

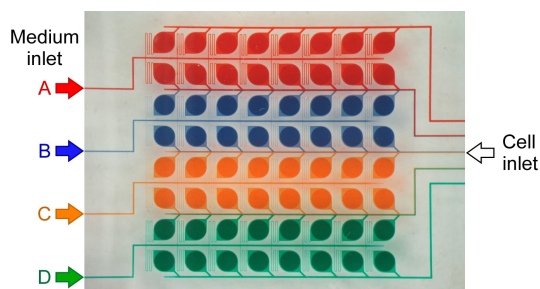


Fig. 1; チャンバーアレイチップの流路構成

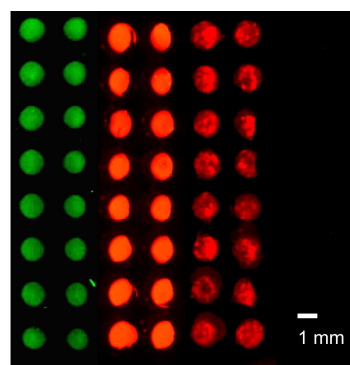


Fig.2; ECM アレイチップ表面の蛍光画像

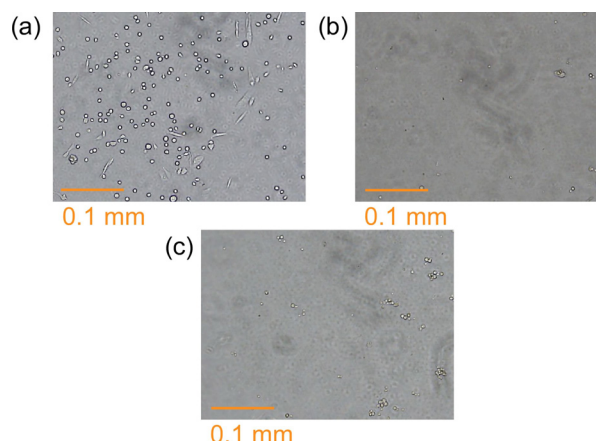


Fig. 3; マイクロチャンバー内における CHO 細胞の灌流培養, (a) fibronectin, (b) collagen, (c) laminin

4. 参考文献

- 1) Sugiura, S. *et al.*, *Biotechnol Bioeng*, **100**, 1156 (2008)
- 2) Flam C. J. *et al.*, *Stem Cells Dev*, **17**, 29 (2008)
- 3) Hattori, K. *et al.*, *Proc. μTAS2009*, 469 (2009)

*E-mail: shinji.sugiura@aist.go.jp