

レーザ走査光触媒リソグラフィを活用した液中細胞パターンニング

Laser-scanning photocatalytic lithography for in situ cell patterning

早大理工¹, 広大先端研², 東北大学際研³ 藤城翔偉^{1,*}, 関根浩平¹, 河野 翔¹, 池田 丈²,黒田章夫², 山本英明³, 谷井孝至¹ *E-mail: fujishiro@tanii.nano.waseda.ac.jp

【背 景】単一細胞レベルでの細胞機能解析や集団としての細胞機能発現のためには、基板表面における個々の細胞の接着位置制御—細胞パターンニング—が必要となる。基板表面に細胞接着領域と非接着領域を作りわけ、そこに細胞を播種して接着位置を制御することがこれまで行われてきた。一方、がん／正常細胞といった異種細胞同士の界面制御や神経細胞のネットワーク構造制御では、基板表面の特定部位に接着した細胞の遊走や形態変化の方向を、細胞活性を維持したまま培養液中で制御する方法—液中細胞パターンニング—が必要となる。私たちはこれを実現できる基板材料として TiO_2 に着目した[1]。その理由は、 TiO_2 が透明かつ化学的に安定で生体適合性[2]を有し、さらに光照射により酸化チタン上の有機物を分解する光触媒作用[3]を有するためである。すなわち、培養液中で局所的に UV 照射を行うことにより、基板表面の非接着性有機膜を部分的に分解除去でき、その部位へと細胞を遊走させたり形態を変化させたりできる。前回の報告[4]では、Si-tag とよばれるタンパク質 RPL2 [5]の TiO_2 表面への選択的吸着を利用して、神経細胞の接着位置を制御できることを示した。今回、UV レーザ走査を用いた液中表面改質により、線幅 $\sim 5 \mu\text{m}$ のラインパターンに神経細胞の突起を誘導し、神経細胞同士を接続することに成功した。

【実 験】はじめに、UV レーザの走査速度とパターン線幅の関係を実験的に評価した。ガラス表面上に TiO_2 膜 (スパッタ蒸着, 厚さ $\sim 120 \text{ nm}$) を成膜し、その表面にオクタデシルシラン単分子膜 (OTS SAM) を成膜した。OTS SAM 表面に培養液中の BSA を吸着させることで、この膜を細胞に対する非接着性膜とすることができる。UV レーザ走査 (波長: 375 nm) によりライン状に OTS SAM を分解除去し、 TiO_2 表面への RPL2 の選択吸着を利用して、蛍光標識 RPL2 をライン上に選択的に吸着させた。蛍光像から改質ライン幅を計測したところ、走査速度 $10 \mu\text{m/s}$ で最小線幅 $5 \mu\text{m}$ (FWHM) を得た。次に、この手法を用いて、神経細胞からの突起伸長制御を試みた。水銀ランプからの UV 光を絞りを介して照射し、OTS SAM を八角形に分解除去した後、その部位への RPL2-プロテイン A の選択的吸着および、これと抗ラミニン抗体およびラミニンの結合を利用して、胎生 18 日ラット海馬神経細胞を八角形領域内に接着させた (図 1 (a))。その後、2つの八角形の間 (OTS SAM で被覆されている) 領域に UV レーザでラインパターンを 4 本作製し、神経細胞からの突起伸長の方向を制御した (図 1 (b))。レーザの走査本数にしたがって選択的に神経突起の伸長が制御できたことは (図 1 (c))、UV 照射により細胞が致命的ダメージを被らないこと、および、線幅 $5 \mu\text{m}$ の表面改質が神経突起誘導に有効であることを示している。なお発表では、パターン分解能を向上するための方策、および、 TiO_2 への可視光応答性付与によるダメージ軽減の可能性についても報告する予定である。なお、本研究は科研費・基盤研究(C) (20339708) の助成を受けて実施されている。

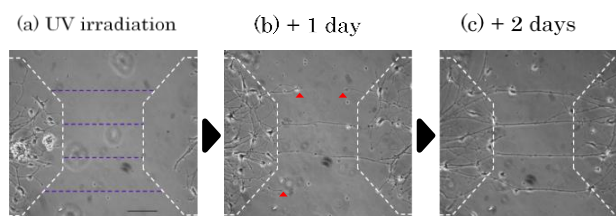


Fig. 1 In situ surface modification for the guidance of individual neurites
Scale bar, $100 \mu\text{m}$

【参考文献】

[1] H. Yamamoto et al., *Biofabrication* 2014.[3] N. Negishi et al., *Chem.Lett* 1995[2] PI Branemark et al., *The Journal of Prosthetic Dentistry*[4] K. Sekine et al., *e-JSSNT*. 2015

1983

[5] T. Ikeda et al., *Anal. Biochem.* 2009.