

課題番号	: F-20-FA-0010
利用形態	: 機器利用
利用課題名(日本語)	: 微小孔アレイデバイスを用いた細胞解析技術の構築
Program Title (English)	: Development of cell analysis techniques using microhole array devices
利用者名(日本語)	: 吉田悟志, 仲摩綾香, 妹尾真希, 岩井俊太郎, 黒田崇公, 安田隆
Username (English)	: S. Yoshida, A. Nakama, S. Iwai, T. Kuroda, M. Senoh, <u>T. Yasuda</u>
所属名(日本語)	: 九州工業大学 大学院生命体工学研究科
Affiliation (English)	: Graduate School of Life Science and Systems Engineering, Kyushu Institute of Technology
キーワード/Keyword	: リソグラフィ・露光・描画装置、成膜・膜堆積、SiN、N&MEMS、バイオ&ライフサイエンス

1. 概要(Summary)

直径2~7 μm の微小孔をアレイ状に形成した膜厚約1 μm の窒化ケイ素(SiN)製自立膜の周囲を、シリコン製フレームで支持した。これを細胞培養膜として用い、単一ニューロン解析、細胞外電位計測、細胞外ベシクル生成成分離などの細胞解析技術を構築した。これらの技術を、新薬の効果や安全性を評価する創薬分野に応用することを目標としている。以下に、SiN膜に微小孔アレイとともに微小電極アレイを形成した細胞外電位計測デバイスについて説明する。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

プラズマ CVD 装置、電子ビーム描画装置

【実験方法】

支援機関において、プラズマ CVD を利用して SiN を成膜した。その際に、各種ガス流量、基板ヒータ温度、反応室圧力などの条件を最適化し、SiN 膜の内部応力と屈折率を制御した。また、支援機関において、電子ビーム描画装置等のリソグラフィ装置群を用いて、複数枚のガラスマスクを製作した。利用者機関において、これらのガラスマスクを用いて、両面マスクアライナによる UV 露光、プラズマエッチング、ウェットエッチングなどにより、微小孔アレイ、微小電極アレイ、配線などのパターンニングを行った。電極・配線材料を Au とし、SiN との接着層として Ti を選択し、利用者機関において、Ti と Au を連続的にスパッタすることで、電極・配線層を形成した。Au 電極上に白金黒をめっきすることで、電極インピーダンスを低下させた。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

製作したデバイスの写真を Fig. 1 に示す。SiN 膜裏面

にアストロサイトを培養し、膜表面(電極形成面)にニューロンを培養した。これにより、アストロサイトとの共培養を行いつつニューロンを確実に電極表面に接着させることが可能になり、微小孔を通じた細胞間コミュニケーションを実現しながら、神経ネットワークの電氣的活動を同時多点で安定的に計測できることを実証した。

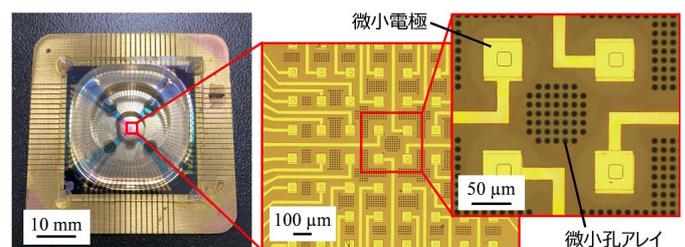


Fig.1 Photographs of the fabricated device.

4. その他・特記事項(Others)

本研究の一部は、日本学術振興会 科学研究費補助金 JP20H04506 及び 20K21903 の支援により実施された。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

- (1) 吉田悟志 他, 第 37 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム論文集, 27P2-SS1-5 (2020)
- (2) 仲摩綾香 他, 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第 42 回研究会講演要旨集, p. 148 (2020)

6. 関連特許(Patent)

- (1) 安田隆, 山中誠, 森迫勇, “細胞培養シート、およびその製造方法、並びにこれを用いた細胞培養容器”, 特許第 6124051 号, 平成 29 年 4 月 14 日登録。
- (2) 安田隆, 八尋寛司, “細胞外電位計測デバイス及び細胞外電位計測方法”, 特許第 6550694 号, 令和 1 年 7 月 12 日登録。