

単一筋管細胞誘導のための貫通スリット薄膜構造の作製と応用

Manufacture and Application of Through Slit Membrane Structure for Single Myotube Cell Induction

名大院工¹, °柴垣 竜資¹, 秋田谷 美乃¹, 丸山 央峰¹, 星野 隆行¹

Nagoya Univ.¹, °Shibagaki Ryusuke¹, Akitaya Mino¹, Maruyama Hisataka¹, Hoshino Takayuki¹

E-mail: hoshino.takayuki.v7@f.mail.nagoya-u.ac.jp

1. 背景

骨格筋は人体の30~40%を占め、運動と生存に不可欠である。骨格筋疾患をモデル化し、より高いスループットと低コストで薬剤をスクリーニングするためのプラットフォームとして、人工の *in vitro* 骨格筋構造体が必要である。現在までに *in vitro* で培養された筋管細胞は全て筋芽細胞の誘導分化から得られている。これにより、様々な成熟レベルの筋管細胞と未分化筋芽細胞の混合グループが生じ、同じ成熟レベルの筋管細胞を得ることは不可能である。単一の筋管細胞を *in vitro* で培養することは、筋管細胞の生体力学的適応を正確に研究するためのより優れたモデルを提供しうる[1]。そこで、本研究では PDMS でできた貫通スリットを有する薄膜上で細胞誘導を行い、単一の筋管細胞を作製した。スリットが貫通していることにより、溝内での培養よりも優れた循環培養環境が形成される。また、薄膜を伸縮させることで容易に筋管細胞へ応力を加えることができる (Fig1)。

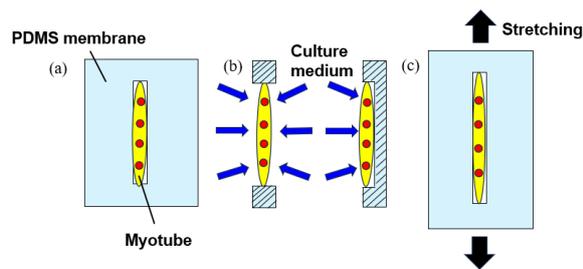


Fig.1 (a) Single myotube cultured in through slit membrane (b) Cross section of membrane. Culture medium circulates more easily than in a groove. (c) Stretching PDMS membrane and myotube.

2. 実験

本実験では、マウス由来の筋芽細胞 C2C12 を用いた。C2C12 は向きをそろえることで、筋管細胞に分化しやすくなることが報告されている[2]。細胞の基質としては SU-8 フォトレジストでマイクロパターンを作製したものを転写した poly-dimethylsiloxane (PDMS) を用いた。作製した薄膜は幅 40 μm 、長さ 500 μm 、の貫通

スリットを等間隔に空けているものである (Fig2)。C2C12 を PDMS 薄膜に播種後、分化培地に切り替えることによって筋管細胞を作製した。

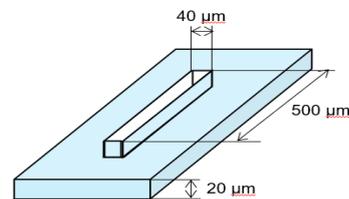


Fig.2 Design of through slit membrane

3. 結果

Fig.3 に貫通スリット付近での筋管細胞の様子を示す。

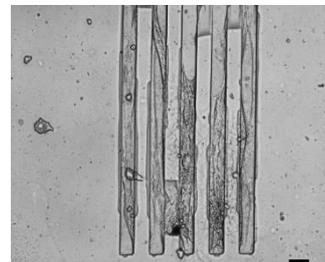


Fig.3 Myotubes cultured in through slit membrane (scale bar = 50 μm)

4. まとめ

今回作製した貫通スリット薄膜上に単一筋管細胞を作製し、溝内での培養よりも優れた循環培養環境を形成した。また、薄膜を伸縮させることで単一筋管細胞の伸縮を可能にした。今回の結果によって単一筋管細胞の解析への応用が期待できる。

参考文献

[1] Depeng Ren, et al., *frontiers in Physiology*, 2021 Aug2;12:689492.

[2] J. Ostrovidov, et al., *J. Tissue Eng Regen Med.*, DOI:10.1002/term.1956 (2014)