

利用課題番号 : F-13-KT-0021  
利用形態 : 技術補助  
利用課題名 (日本語) : 細胞培養用ハイドロゲル基盤の AFM 顕微鏡システムによる弾性測定  
Program Title (English) : Measurements of hydrogel-substrates elasticity for cell culture by AFM  
利用者名 (日本語) : 樋口清香  
Username (English) : Higuchi Sayaka  
所属名 (日本語) : 独立行政法人 理化学研究所  
Affiliation (English) : RIKEN

### 1. 概要 (Summary) :

人工多能性幹細胞(iPS 細胞)は、生命倫理的問題と拒絶反応を回避できる幹細胞として、生物学・創薬・医療分野に、貢献が期待されている。通常、iPS 細胞培養には、接着の為の足場細胞、“フィーダー細胞”が必要である。本研究では、iPS 細胞に及ぼす力学刺激を人工的に操作し、フィーダー細胞無しでの、iPS 細胞誘導を目指す事を目的とした。貴センターにおいては、細胞培養に用いた自作ハイドロゲルの弾性を測定させて頂いた。

### 2. 実験 (Experimental) :

利用した機器 | C04: 走査型プローブ顕微鏡システム  
実験方法 | 解析用サンプルとして、Tse JR and Engler AJ.\*の論文を参照に作成したハイドロゲルを持ち込んだ。PBS 中でのゲルの硬さを、AFM 計測機能を用いて測定した。

\* Tse JR1, Engler AJ. “Preparation of hydrogel substrates with tunable mechanical properties.”  
Curr Protoc Cell Biol. 2010 Chapter 10: Unit 10.16.

### 3. 結果と考察 (Results and Discussion) :

Tse JR and Engler AJ.の論文を参照にハイドロゲルを作製した。アクリルアミドとビスアクリルアミドとの配合条件の違いにより作成されるゲルの弾性は彼らの論文に記載されていた。しかし、我々は、ゲル上で細胞培養を行うことから、水溶液中でのゲルの弾性を調べる必要があった。

結果を、「Tse JR and Engler AJ の論文値→ 実測値」の順で以下に記載した。

0.2±0.03kpa → < 0.1kpa (柔らかすぎて測定不能)

1.0±0.31kpa → 0.5kpa

2.83kpa → 4kpa (n=3 each)

論文値とほぼ大差無い値を得ることが出来た。論文値とズレが生じた原因は、液中でのゲルの膨潤が考えられる。実際に別実験で計測したゲルの厚さは、順に、 $13.5 \pm 3.8 \mu\text{m}$ ,  $11.8 \pm 5.9 \mu\text{m}$ ,  $27.6 \pm 13.8 \mu\text{m}$  で、硬いゲルでより膨潤が認められた。

### 4. その他・特記事項 (Others) :

論文投稿後、reviewer の指摘によって、自作ゲルの弾性を測定できる AFM 顕微鏡を探していた所、京大ナノハブ利用施設を発見した。この施設で実験させてもらえたからこそ、論文を再投稿することが出来た。機器の利用説明、技術相談、オペレーション&トレーニング、試行錯誤しながら一緒に実験を全面的に手伝って頂いた、技術職員の方には、心から感謝の意を表す。技術職員のサポートなしには、短い期間での納得のいくデータの取得はなかったと思う。

本研究は、JSPS 科研費 25871141 の助成を受けたものです。

### 5. 論文・学会発表 (Publication/Presentation) :

Higuchi S, Watanabe TM, Kawauchi K, Ichimura T, Fujita H. “Culturing of mouse and human cells on soft substrates promote the expression of stem cell markers.” J Biosci Bioeng. 2013 Dec 17. pii: S1389-1723(13)00434-9. doi: 10.1016/j.jbiosc.2013.11.011. [Epub ahead of print]

### 6. 関連特許 (Patent) :

なし。