

課題番号 : F-15-HK-0069
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : 引張り負荷下における臍細胞間ギャップ結合コミュニケーションの経時変化
Program Title (English) : Temporal characterization of gap junction communication between tenocytes under tensile strain in vitro
利用者名(日本語) : 片海丞¹⁾, 前田英次郎¹⁾, 大橋俊朗¹⁾
Username (English) : H. Pian¹⁾, E. Maeda¹⁾, T. Ohashi¹⁾
所属名(日本語) : 北海道大学大学院工学研究院
Affiliation (English) : Graduate school of Engineering, Hokkaido University

1. 概要(Summary)

本研究は臍細胞のギャップ結合と生理機能制御の関連に着目し、細胞間物質輸送を可視化する共焦点顕微鏡法 FLIP 法に加えて、FLIP 実験結果から細胞内および細胞間拡散係数を推定する数理モデルを新たに作成し、力学刺激が細胞内および細胞間拡散係数に及ぼす影響を検討した。実験サンプルには、微細加工を用いて作製したマイクログループ細胞培養基板を組み込んだ PDMS 製デバイスに臍細胞を播種したものをを用いた。その結果、臍細胞の生理的刺激である 4%引張りひずみを静的に負荷した場合、負荷開始 1 時間後で細胞間拡散係数が有意に増加し、負荷後 24 時間に渡って増加したレベルを維持した。一方、過負荷である 8%引張りひずみを負荷した場合では細胞間拡散係数は増減を繰返し、不安定な挙動を示した。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

スピナー、マスクアライナー

【実験方法】

PDMS 製のマイクログループ実装実験デバイスを作製し実験に用いた。幅・間隔が 10 μm の溝パターンが描画されたガラスフォトマスクをマスクアライナーにセットし、スピナーを用いてフォトレジスト SU-8 が 10 μm コーティングされたシリコンウエハ片を紫外露光した。これを現像することでマイクログループ鋳型を作製した。次にソフトリソグラフィを用いて高さ・幅・間隔が 10 μm のマイクログループを PDMS 製薄膜の細胞培養面にパターンニングし、同じく PDMS で作製した流路パーツを接合することでデバイスを作製した。マイクログループ表面は細胞培養に先立ちプロネクチンでコーティングした。

デバイス内に播種した臍細胞に対して、臍細胞の生理

学的な力学刺激である 4%引張りひずみ(4%ひずみ群)と、過負荷に相当する 8%引張りひずみ(8%ひずみ群)を 24 時間に渡って静的に負荷し、負荷後 1, 2, 4, 6, 24 時間において FLIP 実験を行い、ギャップ結合物質輸送の指標として細胞間拡散係数を求めた。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

引張りひずみ負荷前(0h)の細胞間拡散係数は 1.31 [$\mu\text{m}^2/\text{sec}$]であった(Fig. 1)。4%ひずみを負荷すると、負荷 1 時間後で 4.59 [$\mu\text{m}^2/\text{sec}$]まで上昇した。その後も持続的に高い拡散係数を示し続けた。一方、8%負荷の場合、負荷 1 時間後に低下したのち負荷 2 時間から 4 時間にかけて 3.0~3.4 [$\mu\text{m}^2/\text{sec}$]まで回復するなど増減を繰返し、不安定な挙動を示すことがわかった。

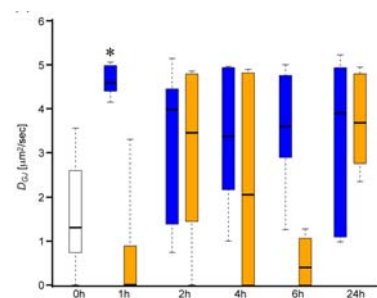


Fig. 1 Temporal trends of intercellular diffusion coefficient in tenocytes subjected to 4% (blue) or 8% (orange) static tensile strain for 24 h.

4. その他・特記事項(Others)

なし。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

(1) 片海丞, 前田英次郎, 大橋俊朗, 引張り負荷下における臍細胞間ギャップ結合コミュニケーションの経時変化. 第 28 回バイオエンジニアリング講演会, 2016 年 1 月 10 日.

6. 関連特許(Patent)

なし。