

課題番号 : F-18-KT-0111
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : 軟培養面を用いた細胞挙動制御
Program Title (English) : Regulation of cell phenotype with soft substrate
利用者名(日本語) : 堀江正信¹⁾, 杉浦拓也²⁾
Username (English) : M.Horie, T. Sugiura
所属名(日本語) : 1) 京都大学、環境安全保険機構附属放射性同位元素総合センター
2) 京都大学、人間環境・環境学研究科
Affiliation (English) : 1) Kyoto Univ., Radioisotope Research Center
2) Kyoto Univ. Graduate School of Human and Environment studies
キーワード/Keyword : 培養面、ヒト iPS 細胞、形状・形態観察、分析

1. 概要(Summary)

事故や疾患などによって失われた臓器や組織を細胞によって体外で構築し、移植することによって治療効果を得る再生医療を実現するためには、通常の無機物質などを用いた製剤と同様に細胞を安価かつ大量に「製造する」技術が必要になる。しかし、細胞は生き物であるために無機物質のように品質が安定しないことに加えて、培養して増やす(製造)するために多くの添加薬剤が必要となりコストの高さが問題となる。中でも近年、無限に増殖し増やすことのできる「自己複製能力」と、体を構成する様々な細胞に変化することのできる「多分化能力」を併せ持つヒト iPS 細胞は再生医療のための細胞源として期待されているが、多分化能力を維持したまま培養するためには多くの高価な液性因子を含んだ培養液を必要とするため、製造コストの高さが医療応用への障壁の一つとなっている。さらに液性因子の場合、培養液中における濃度勾配によって細胞挙動の不均一化が発生し、細胞製造における問題点となりうる。そこで申請者は細胞が外部からの物理的な刺激を感知して自身の挙動を制御する、メカノトランスダクションという現象を細胞製造へ応用できないかと考えている。物理的刺激とは具体的には流れによる圧力や引っ張りによる張力などを指し、これまで筋肉から採取した細胞をゴムのフィルム上で培養し、引っ張りによる張力を加えることで筋肉特異的な遺伝子発現が向上するといった報告がなされている。本研究ではプラスチックの硬い培養皿で通常は培養しているヒト iPS 細胞をターゲットとし、重合度を変化させたゲルを培養面として「軟らかさ」という物理刺激を変化させて培養し、その挙

動を安価かつ均一に制御することを目的とする。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

走査型プローブ顕微鏡システム(AFM)、共焦点レーザー走査顕微鏡

【実験方法】

培養面の「軟らかさ」を指標としてヒト iPS 細胞の挙動を制御するには、その軟らかさ(ヤング率: kPa)を定量的に測定し、軟らかさと細胞の挙動変化を関連付けて理解する必要がある。培養面の軟らかさを変化させるため、本研究では重合度を変化させることによって軟らかさを変化させることができるアクリルアミドゲルを用いる。様々な重合度で作成したゲルの軟らかさを、走査型プローブ顕微鏡システムによって測定後、ヒト iPS 細胞を培養して増殖能力や多分化能力を評価し、培養面の軟らかさによる影響を明らかにする。さらにヒト iPS 細胞が培養面の軟らかさによって様々な挙動を示した場合、その挙動の変化の機序は細胞内部の変化(例えば細胞の形を維持する細胞骨格など)に起因すると考えられ、遺伝子などのマクロな視点での評価では明らかにすることができない。よってマーカーとなるタンパク質に対して標識できる抗体を用いて蛍光標識し、共焦点レーザー走査型顕微鏡を用いて可視化した。

3. 結果と考察 (Results and Discussion) :

各軟らかさのゲル培養面上で培養することで、細胞骨格におけるストレスファイバー形成に明らかな違いがあることが示された(Fig. 1)。

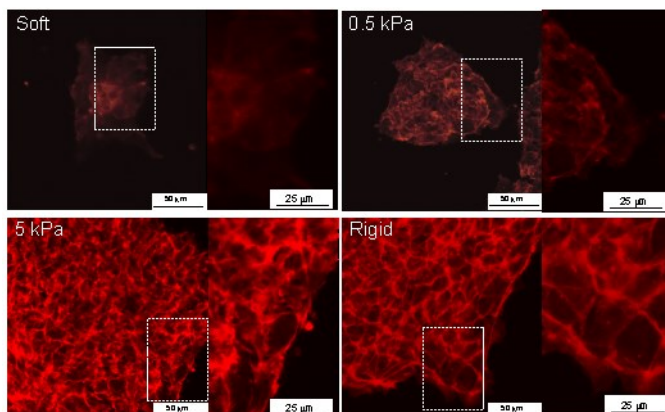


Fig. 1 Stress-fiber formation on different gels.

4. その他・特記事項 (Others) :

特になし。

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

- (1) R. Ding, M. Horie “Substrate stiffness dependent growth properties of human induced pluripotent stem cells”, Biotechnology Towards Next Generation Single Cell Analysis, 平成 30 年 10 月 25 日
- (2) M. Horie “自己組織化現象を用いた人工骨格筋組織の構築”, 化学工学会第 50 回秋期大会, 平成 30 年 9 月 18 日

6. 関連特許 (Patent) :

なし。