

課題番号 : F-19-KT-0162
 利用形態 : 技術代行、機器利用
 利用課題名(日本語) : メカノバイオロジーを利用した細胞挙動制御法の開発
 Program Title (English) : Development of regulation system for cell behaviors using mechanobiology.
 利用者名(日本語) : 堀江正信
 Username (English) : Masanobu Horie
 所属名(日本語) : 放射性同位元素総合センター
 Affiliation (English) : Radioisotope Research Center
 キーワード/Keyword : 機械計測、ヒト iPS 細胞、メカノバイオロジー、形状・形態観察、AFM

1. 概要(Summary)

体を構成する様々な細胞に分化することのできる多能性幹細胞を利用した再生医療を実現するためには、大量かつ安価、高品質に細胞を製造するプロセスの開発が必須である。しかし、目的の細胞に分化誘導するためには多くの液性因子を使用するためにコストが高くなるだけでなく、濃度勾配などによる不均一性も問題となってくる。

近年、細胞が物理的な刺激を感知して自身の挙動を変化させることが明らかとなっており、幹細胞においても有効であることが報告されている。そこで本研究ではヒト iPS 細胞を対象とし、物理的な刺激を用いることによって目的の細胞へ均一かつ安価に分化誘導することを目的とした。物理的な刺激として、培養面に塗布したアクリルアミドゲルの重合度を変化させることによって、異なる硬さによる刺激を付与することとし、そのパラメーターを明らかにするために走査型プローブ顕微鏡システムを用いてゲル硬度の測定を行なった。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

C04 走査型プローブ顕微鏡システム

【実験方法】

アクリルアミドゲルの重合度を変化させることで様々な軟らかさの培養面を作成し、上記機器を用いて水中において硬度の測定を行なった。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

様々な混合度によって作成したアクリルアミドゲルを用意し、AFMを用いた液中硬度測定を行なった。混合度に関しては Tes らの論文(Tes *et. al.* Curr.Protc.Cell. Biol., 2010)を参考にした。測定した結果を Table. 1 に示す。予定していた硬度に比べて、作成したゲルの硬度

は高いことが明らかになり、参考論文とは異なる結果となった。これらは測定条件などが異なることも考えられるが、最も考えうるのはゲル化材の違いによる架橋度の違いであると考えられる。引用文献では UV を用いた架橋を行っていたが、本研究では TEMED を用いた架橋を行っている。この測定によってゲル硬度が明らかになったことにより、より正確なパラメーターの制御が可能となった。またこの測定した培養面を用いてまず癌細胞を培養することによって、伸展度など様々な細胞の挙動変化を誘導することができ、体内における組織ごとの挙動変化メカニズム解明の一助となる。今後ヒト iPS 細胞の培養も行い、挙動制御を検討していく。

Table.1

Theoretical Elastic Modulus (kPa)	Estimated Elastic Modulus (kPa)
0.48 ± 0.16* kPa	3.84 ± 1.68 kPa
1.00 ± 0.31* kPa	7.98 ± 0.57 kPa
3.24 ± 0.58* kPa	20.76 ± 4.96 kPa
34.88* kPa	142.89 ± 49.15kPa

* We used method of Tse and Engler 2010 as reference (Ref).

4. その他・特記事項(Others) なし

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

- (1) 「細胞外環境の硬さが及ぼす腫瘍転移への影響」、28Q-pm050, 日本薬学会 第 140 年会
- (2) A modified method for the preparation of polyacrylamide gel using N-hydroxysuccinimide-acrylamide (NHS-AA) ester to study cell-ECM mechanical interaction, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 投稿中

6. 関連特許(Patent) 検討中