

課題番号 : F-19-KT-0175
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : フィブロイン基質上と SAM 上における軟骨細胞挙動の比較
Program Title(English) : Comparison of chondrocyte behavior on fibroin substrates and on SAMs
利用者名(日本語) : 辰巳朗、平岩倫、富田直秀
Username(English) : A. Tatsumi, R. Hiraiwa, N. Tomita
所属名(日本語) : 京都大学大学院工学研究科
Affiliation(English) : Graduate School of Eng. Univ. of Kyoto
キーワード/Keyword : 成膜・膜堆積、表面処理、SAM

1. 概要(Summary)

フィブロンスポンジ内で軟骨細胞を培養し、その表面上に軟骨細胞層を形成させ、欠損部に貼り付けることで軟骨組織が再生されることが報告されている。

今回、京都大学ナノテクノロジーハブ拠点の設備を利用して4種類の官能基を有する自己組織化単分子膜(以下、SAM)を形成し、軟骨細胞層形成の機序解明のため、フィブロイン基質上と各官能基を有するSAM表面上における軟骨細胞の挙動を比較することを試みた。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

電子線蒸着装置、UV オゾンクリーナー・キュア装置

【実験方法】

UV オゾンクリーナー・キュア装置を用いてカバーガラスを150°Cで10分間洗浄した後、電子線蒸着装置を用いてカバーガラスに10nmのクロム層を成膜し、次いで20nmの金層を成膜した。その後、1mMの各官能基を有するアルカンチオールのエタノール溶液中に室温下で15時間浸漬してSAMを形成させた。CH₃基を有するアルカンチオールとして1-ドデカンチオール、COOH基を有するアルカンチオールとして11-メルカプトウンデカン酸、NH₂基を有するアルカンチオールとして11-アミノウンデカンチオール、OH基を有するアルカンチオールとして11-メルカプト-1-ウンデカノールを使用した。浸漬後、エタノールおよび超純水で交互に3回すすぎ、クリーンベンチ内で70vol%エタノール水溶液に10分漬け置き、PBSで洗浄して使用した。

フィブロインをコーティングしたカバーガラスとSAMを形成したカバーガラス上に軟骨細胞を播種し、24時間10分間隔のタイムラプス観察を行った。得られた動画から細胞位置を抽出し、細胞凝集率を算出した。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

細胞凝集率の結果をFig.1に示す。Fig.1から各官能基間の結果に有意差があることがわかり、今回行った手法でSAMが形成されていると考えることができる。また、フィブロイン基質上とCH₃基を有するSAM上で細胞凝集率が高いことがわかる。

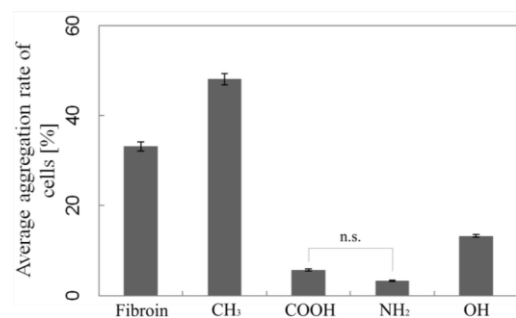


Fig. 1 The average aggregation rate of cells on fibroin substrate and on each SAMs. Data represents means \pm S.E. n.s.: not significant by Tukey-Kramer test.

4. その他・特記事項(Others)

なし。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

(1) 辰巳朗, 京都大学大学院工学研究科修士論文、2020.

6. 関連特許(Patent)

なし。