

課題番号 : F-20-KT-0155
 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) : 京都大学放射性同位元素総合センター
 Affiliation (English) : Radioisotope Research Center, kyoto University
 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、バイオ&ライフサイエンス

1. 概要(Summary)

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】

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。

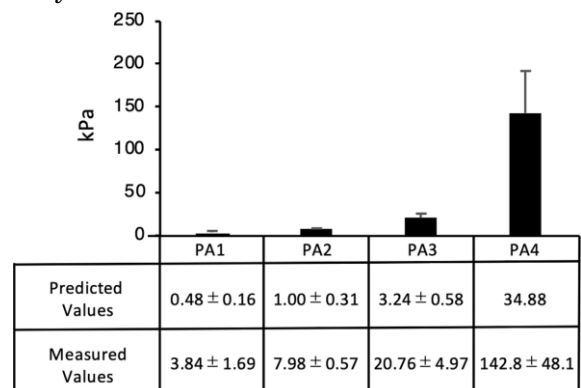
3. 結果と考察(Results and Discussion)

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。なおタンパク質架橋剤として Tes らが述べている Sulfo-SANPAH でなく、より安価な NHS-acrylamide ester を用いた新しいポリアクリルアミドゲル培養系を構築した。

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。アクリルアミドゲルは作成時に最も硬く、その後培養していくにつれて膨潤し硬度

が低下することがデータで明らかになっており、Tes らのデータはあくまで基準にしか過ぎず、今後経時変化のデータも必要であることが示唆された。一方、Tes らのデータと比べて約 6~8 倍に収まっており、基準となる Tes らのデータも間違いではなさそうである。本報告では細胞培養に供する安価なゲル作成を論文として報告したが、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 Predicted Young's modulus and measured values by AFM.



4. その他・特記事項(Others) なし

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

(1) J. Kumai, S. Sasagawa, M. Horie and Y. Yui, A Novel Method for Polyacrylamide Gel Preparation Using N-hydroxysuccinimide-acrylamide Ester to Study Cell-Extracellular Matrix Mechanical Interactions, *Frontiers in Materials*, 24 Feb. 2021
 doi:10.3389/fmats.2021.637278.

6. 関連特許(Patent) 出願予定