

課題番号 : F-21-KT-0004
 利用形態 : 技術代行
 利用課題名(日本語) : ハイドロゲルの AFM 測定
 Program Title (English) : AFM measurement of hydrogels
 利用者名(日本語) : 伊藤明良
 Username (English) : A. Ito
 所属名(日本語) : 京都大学大学院医学研究科
 Affiliation (English) : Graduate School of Medicine, Kyoto University
 キーワード/Keyword : 形状・形態観察、バイオ&ライフサイエンス、マテリアルサイエンス、ゼラチン

1. 概要(Summary)

ハイドロゲルの硬度が細胞代謝に及ぼす影響を解析するため、特定の硬度を有するハイドロゲルを作成するためのプロトコルを確立する。本研究では、ハイドロゲルとしてゼラチンメタクリロイル (GelMA) を用い、ゼラチン濃度を調整して硬度の異なるゲルを作成し、AFM 測定(京都大学ナノテクノロジーハブ拠点の設備を利用)にてそのヤング率を測定する。

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

【実験方法】

35mm 径ガラスボトムディッシュのガラス部に、5、8、10、20%の GelMA をマイクロピペッターで薄く広げた。冷蔵庫内でゲル化させ、純水を満たすことで空気との接触を防止した後、2分間 UV で光架橋した。約1日後、以下の方法でフォースカーブを測定した。

- 装置: Burker (JPK) 製 Nanowizard III
- カンチレバー: CP-CONT-BSG-A-5(直径 5 μ m、バネ定数~0.2N/m)
- 測定: コンタクトモード
 掃引速度(押し込み速度) 2 μ m/s
 測定範囲: 15 μ m 5 点
- 解析: 弾性領域が直線 Hertz の式で近似し弾性率算出

3. 結果と考察(Results and Discussion)

【1 回目測定】

5、10、20% GelMA を測定し(Table 1)、濃度が高くなるにつれ直線的に弾性率も上昇することを確認した。

Table 1. Elastic modulus (1st trial).

	単位 Pa					
	5%-1	5%-2	10%-1	10%-2	20%-1	20%-2
Max	196	31	38572	32899	116802	112571
Min	7	12	31667	26271	87868	51832
Ave	71	24	34574	30160	104749	88061
STDEV.P	54	6	2138	2767	9150	17563

【2 回目測定】

5、8、20% GelMA の測定結果を Table 2 に示す。

Table 2. Elastic modulus (2nd trial).

	単位: Pa											
	5%			8%				20%				
	Gel 1	Gel 2		Gel 1	Gel 2		Gel 1	Gel 2		Gel 1	Gel 2	
Max	26	31	37	365	473	3,270	3,423	86,013	98,671	458,300	157,736	168,852
Min	8	24	25	160	241	2,140	1,171	69,843	72,423	132,112	132,813	133,983
Ave	15	28	31	247	311	2,753	1,998	77,710	81,558	194,300	144,431	149,061
STDEV.P	5	3	4	93	84	389	674	5,781	7,031	118,668	9,580	11,581

【3 回目測定】

8、20% GelMA の測定結果を Table 3 に示す。サンプル間のバラツキが抑えられ、比較的安定してデータを取得できるようになった。

Table 3. Elastic modulus (3rd trial).

	単位: kPa								
	8%					20%			
	Gel 1	Gel 2	Gel 3	Gel 4	Gel 5	Gel 1	Gel 2	Gel 3	
Max	0.592	0.459	1.225	5.715	0.627	48.50	69.65	66.15	
Min	0.511	0.401	1.119	4.252	0.573	41.74	25.80	48.04	
Ave	0.546	0.439	1.180	5.000	0.599	45.18	55.28	53.16	
STDEV.P	0.028	0.021	0.038	0.545	0.017	2.20	11.59	5.34	

4. その他・特記事項(Others)

共同研究者: University of Pittsburgh 飯島弘貴様
 技術代行していただいた岸村眞治様に感謝します。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

(1) H. Iijima, A. Ito *et al.*, Age-related increase in matrix stiffness downregulates α -Klotho in chondrocytes and induces cartilage degeneration. Preprint (doi: 10.1101/2021.03.13.434679).

6. 関連特許(Patent) なし。