

課題番号 : F-21-KT-0100  
 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 2  
 Program Title (English) : AFM measurement of hydrogels 2  
 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 $\mu$ m、バネ定数 $\sim$ 0.2N/m)
- 測定: コンタクトモード  
 掃引速度(押し込み速度) 2 $\mu$ m/s  
 測定範囲: 15 $\mu$ 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。

〔2 回目測定〕

5、8、20%GelMA の測定結果を Table 2 に示す。

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  |

Table 2. Elastic modulus (2nd trial).

|         | 単位: Pa |    |       |       |     |       |       |        |        |         |         |         |
|---------|--------|----|-------|-------|-----|-------|-------|--------|--------|---------|---------|---------|
|         | 5%     |    |       | 8%    |     |       | 20%   |        |        |         |         |         |
|         | 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得できるようになった。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  |  |

ル間のバラツキが抑えられ、比較的安定してデータを得できるようになった。得できるようになった。

### 4. その他・特記事項(Others)

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

参考文献: [1] H. Iijima, A. Ito *et al.*, Age-related increase in matrix stiffness downregulates  $\alpha$ -Klotho in chondrocytes and induces cartilage degeneration. Preprint bioRxiv 2021, March 14, 2021 (doi:10.1101/2021.03.13.434679).

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

6. 関連特許(Patent) なし。