

SH-SAW デバイス上における肺胞上皮組織の構築と組織傷害に伴う信号変調の解析

SATテクノロジー・ショーケース2015

■ はじめに

我々はこれまで、電子素子上に直接細胞を播種・培養し、細胞が発するシグナルを電子素子が直接検知することによって、細胞の状態をモニターする人工組織-電子素子複合体(バイオナノ協調体)のセンサ開発を行って来た。本研究では、表面弾性波(SAW)、特に表面に伝搬エネルギーが集中し、水溶液中におけるエネルギー減衰が少なく、表面性状によって伝搬特性が変化する水平せん断型表面弾性波(SH-SAW)に着目した。このSH-SAW伝搬面を表面改質して細胞接着性を賦与し、肺胞上皮組織を構築した(図1, SH-SAW/バイオナノ協調体)。次に、実用性を見据え、周辺装置のコンパクト化を図った。SH-SAWバイオナノ協調体を微小流体デバイスに収納することで、CO₂ インキュベータを必要とせず、加温パネルのみで長期間の培養を可能にした(SH-SAWバイオナノ協調体OCIS)。これらのバイオナノ協調体を用いて、SH-SAW伝搬面に播種された肺胞2型上皮細胞の細胞-細胞間結合の形成、及び、その後に過酸化水素の添加によって、SH-SAWの信号がどの様に変調するかを計測した。併せて、細胞-細胞間結合の形態変化を観察し、SH-SAWの信号変化の原因を解析した。

■ 研究内容

1. 実験方法

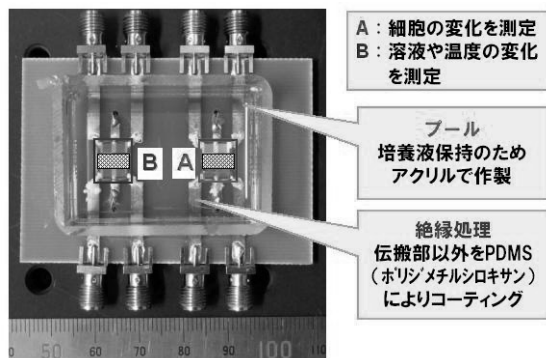


図1. SH-SAW バイオナノ協調体
細胞を播種するチップ(A)と播種しないチップ(B)を培養液のプールに浸し、CO₂インキュベータ内に設置して、信号計測する。

2. 結果と考察

ラット不死化肺胞2型上皮(SV40-T2)細胞を、表面改質したSAWチップに播種すると、細胞の接着・伸展と平行して、

SH-SAW信号の挿入損失及び位相差シフトは、漸次増大し、24-48時間後に一定に達した(図2)。

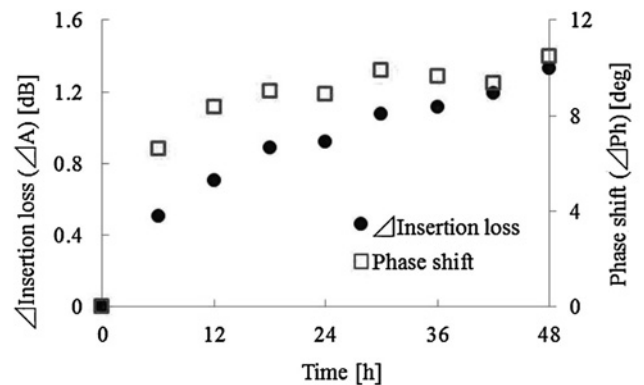


図2. 肺胞2型上皮細胞によるバイオナノ協調体形成に伴う SH-SAW 信号の変調

このSH-SAW バイオナノ協調体に1mM 過酸化水素を添加すると、6時間後細胞は依然チップに接着してはいたが、密着結合蛋白ZO-1の局在性は失われ、Transepithelial Electric Resistance (TER) 及び SH-SAW 信号の挿入損失と位相差シフトは、培養開始時の状態にまで減衰した。同様の変化は、cytochalasin D による細胞骨格の崩壊に続く細胞-細胞間結合の喪失によっても再現された。以上の結果から、SH-SAW 信号は、上皮組織の細胞-細胞間結合の状態を反映して変調されたと結論した。

次に、SH-SAW バイオナノ協調体を微小流体デバイスに収納し、同様の実験を行い、過酸化水素による上皮組織の傷害を再度確認した。これらの結果をご紹介します。

■ 参考文献

- Higashiyama et al. Detection of cellular damage by hydrogen peroxide using SV40-T2 cells on shear horizontal surface acoustic wave (SH-SAW) sensor. *Ultrasonics* 54: 1430-1438, 2014.
- Otori et al. Signal change of surface acoustic wave (SAW) caused by H₂O₂ damage to SV40-T2 Cells cultivated on SH-SAW Sensor. *Sensors and Actuators A* 200: 162-167, 2013.
- 特許 第4555773号
US Patent No. 8304238

代表発表者 持立 克身 (もちたて かつみ)
所属 (独)国立環境研究所
環境健康研究センター
問合せ先 〒305-8506 つば市小野川 16-2
TEL: 029-850-2538 FAX: 029-850-2402
mochitat@nies.go.jp
<http://www.nies.go.jp/researchers/100087.html>
<http://researchmap.jp/read0003791/>

■キーワード: (1) 表面弾性波
(2) 細胞-細胞間結合
(3) biotissue on chip
(4) 化学合成マトリックス