

■ はじめに

細胞運動は形態形成や表皮の再生などの生理的な反応のみならず、ガン細胞の浸潤・転移と言った病態にも関わる重要な細胞機能である。Wound healing法やBoydon chamber assayは、実験室で細胞移動を評価する手法として古くから用いられており、ある種の評価基準として地位を確立している。しかしながらこれらの評価法は、液性因子の影響や、特定遺伝子の関与などを調べることに特化しており、周囲の細胞などの環境因子の影響を調べるには適していなかった。

発表者は、これまで光照射に応じて表面の細胞付着性が変化する培養基板を開発してきた。この基板上では、光照射をコントロールすることで、細胞を基板上的の任意の位置に付着させられるのみでなく、二次照射により細胞の付着領域を拡張することで細胞移動が誘導できる。Wound healing法と同じ感覚で細胞移動の観察を行うことになるが、光を刺激源とするために、周囲の細胞の影響を考慮した実験系が構築できる。さらにこの基板はカバーガラス製であるため、蛍光イメージングとコンパチブルである。

■ 活動内容

1. 光応答性基板の作製

光分解性基を介して末端に活性エステルを有するシランカップリング剤でカバーガラスの表面を修飾した。ここにポリエチレングリコールアミン(PEG, 分子量12K)を反応させることによって光応答性基板を作製した。基板表面はPEGで覆われているために、最初は細胞が付着することができないが、光照射によりPEGを除去することで細胞が付着できるようになる。

2. 細胞パターンニング

標準的な蛍光顕微鏡を使って、基板を波長365nmの近紫外光で照射することで基板上に細胞接着領域を形成する。この際、蛍光顕微鏡の視野絞りにフォトマスクを挿入することで、任意のパターンでの光照射が可能になる。光照射時間は数秒程度で、しかもこの光量で細胞の生存に支障がないことは確認済みである。

3. 細胞集団移動の評価

パターンニングにより初期形状を制御した細胞コロニーに対して二次照射を行うことで、細胞の集団移動を誘導した。この際、他の細胞の先陣を切って移動するリーダー細胞

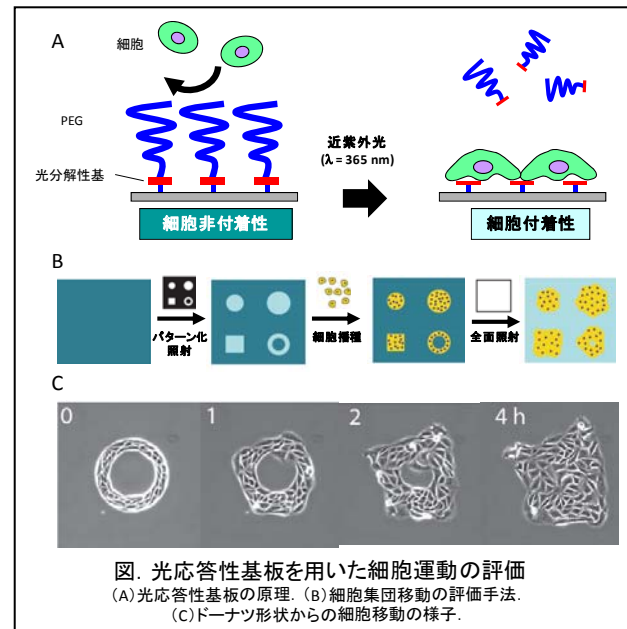
に注目したところ、コロニーサイズの拡大や培養時間の延長に応じてその出現率が低下することを突きとめた。以上のように本材料を用いて、細胞間相互作用が細胞の集団的挙動に影響を及ぼすことを直接示すことができた。

■ 関連情報等(特許関係、施設)

1. C. Rolli, H. Nakayama, K. Yamaguchi, J. P. Spatz, R. Kemkemer, and J. Nakanishi, "Switchable adhesive substrates: Revealing geometry dependence in collective cell behavior", *Biomaterials*, 33, 2409-2418, (2012); Selected as a leading opinion paper.

2. "光照射によって細胞付着性を付与可能にする細胞付着・培養用基材", 中西 淳, 山口和夫, 特開2009-65945, 出願人: 独立行政法人物質・材料研究機構, 学校法人神奈川大学, 出願日2007年9月15日。

3. 特許4761731号(特願2004-188461), "細胞を固定化した基板の作製方法および基板", 前田瑞夫, 宝田 徹, 中西 淳, 山口和夫, 出願人: 独立行政法人理化学研究所, 学校法人神奈川大学, 登録日2011年6月17日(出願日2004年6月25日)。



代表発表者 中西 淳 (なかにし じゅん)
所属 (独)物質・材料研究機構
国際ナノアーキテクトニクス研究拠点
問合せ先 〒305-0044 茨城県つくば市並木 1-1
TEL: 029-860-4569
NAKANISHI.jun@nims.go.jp

■キーワード: (1) 細胞移動
(2) ケージド化合物
(3) イメージング