

しなやかな半立体ハイドロゲル構造体を用いた新しい細胞培養

SATテクノロジー・ショーケース2019

■ はじめに

医薬品開発では、細胞アッセイを利用した医薬品スクリーニングが行われている。その際に、ポリスチレンやガラスのような硬い基材上での細胞培養系が従来用いられてきたが、ヒト生体内の環境との大きな差異による信頼性の低さが問題点として挙げられてきた。

そこで我々は、こうした問題を解決すべく、光照射により作製した半立体ハイドロゲル構造体を細胞の足場とする新しい細胞培養系を考案した(Fig.1)。この培養系は、足場の柔軟性や細胞への酸素・栄養分の十分な供給といった利点を持つことが見込まれ、培養環境をより生体内に近づけられると期待される。

我々はこうしたハイドロゲル構造体の作製法をすでに報告しているが、細胞培養系への応用には至っていない(K. Sumaru et al., *Soft Matter*, 2018)。そこで、本研究ではハイドロゲル構造体の新たな作製法の開発と、細胞培養系への応用検討を行った。

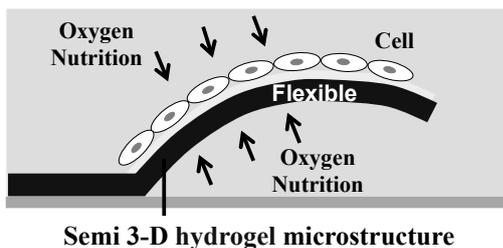


Fig.1: Novel cell culture system using semi 3-D hydrogel microstructure.

■ 実験材料・方法

1. 半立体ハイドロゲル構造体の露光作製

まず、poly (acrylic acid)(PAAc)と紫外光応答性の光酸発生剤であるNAI-106(みどり化学)を含む溶液を、ポリスチレン(PS)表面にスピコートした。PC制御型微小パターン照射システム(エンジニアリングシステム)を用いて、波長365 nmの紫外光をプレゲル薄層に照射してPAAcを架橋した。光照射後、水で未架橋のプレゲル層を洗浄除去した。次に、水溶性ポリマーのhydroxypropyl cellulose(HPC)と、酸触媒架橋剤の1,3,4,6-tetrakis(methoxymethyl) glycoluril、NAI-106を含む溶液を架橋PAAc層の上にオーバーコートした。上記と同様の方法で、別パターンに沿って紫外光をプレゲル薄層に照射し、酸を発生させた。光照射後、85 °Cで加熱してHPCの酸触媒

架橋を進行させ、その後、水で未架橋のプレゲル層を洗浄除去した。

2. ハイドロゲル層への細胞接着性付与

1.と同様の方法で、光照射によりパターン架橋された2層を作製した。その上に、poly (styrene-maleic anhydride)(PSMA)を含む溶液をオーバーコートした。その後、HPCゲル層を部分的にPS基材から剥離させるために、NaOH水溶液に架橋2層を浸した。そして、ヒト子宮頸がん由来のHeLa細胞を構造体上に播種し、37 °Cで数日間培養した。

■ 結果・考察

1. 半立体ハイドロゲル構造体の露光作製

パターン架橋された2層をNaOH水溶液に浸したところ、架橋PAAc層の形成領域でのみHPCゲル層がPS基材から剥離、その結果、ポケット状の半立体的なHPCゲル構造体が得られた(Fig.2)。以上より、HPC層の架橋と剥離の両方を、2回のパターン照射によりそれぞれ独立に制御できることが示された。

2. ハイドロゲル層への細胞接着性付与

構造体上に播種したHeLa細胞は、PSMA溶液をコートしなかった場合にはHPCゲル層に全く接着しなかった一方で、コートした場合には基材から剥離した部分も含めゲル層に接着・伸展し増殖した。このことから、PSMAコートが、細胞接着阻害性のHPCゲル層に接着性を付与できることが示された。

謝辞: 本研究は科研費(基盤(B):No.25282148,16H03845)の助成を受け、実施されたものである。

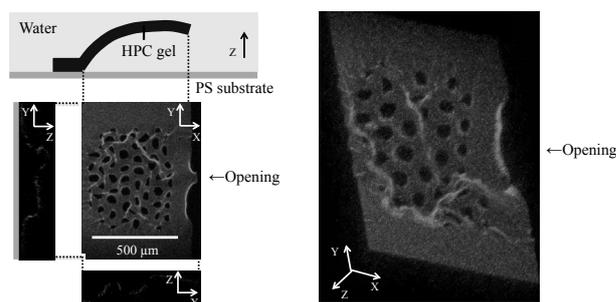


Fig.2: Confocal image of pocket-like semi 3-D HPC gel microstructure.

代表発表者 露久保 淳(つゆくぼ あつし)
 所属 筑波大学 グローバル教育院
 ライフサイエンス学位プログラム
 (国研)産業技術総合研究所
 創薬基盤研究部門
 医薬品アッセイデバイス研究グループ
 問合せ先 〒305-8565 茨城県つくば市東 1-1-1
 TEL:029-861-6373 FAX:029-861-6278
 E-mail: k.sumaru@aist.go.jp

■キーワード: (1) 半立体ハイドロゲル構造体
 (2) 光架橋ゲル
 (3) 細胞接着性

■共同研究者: 須丸 公雄¹・金森 敏幸^{1,2}
¹産総研 創薬基盤・²筑波大 グローバル教育院