

光によって瞬間にゲル化する天然由来機能性高分子の開発と3D細胞組織の形成制御

SATテクノロジー・ショーケース2026

■はじめに

従来の細胞培養は、ポリスチレンディッシュなどを用いた二次元(2D)単層培養が一般的である。しかし、創薬研究などにおいては、生体内環境を模倣する三次元(3D)培養系の構築が不可欠である。3D培養では栄養・酸素供給や細胞の空間配置制御に課題がある。そこで本研究では、温和な条件で分解可能なCarboxymethyl cellulose(CMC)の側鎖に、光二量化反応性をもつo-ethyl-nitrobenzyl(ENB)基を導入した新規光架橋性多糖(ENBCMC)を開発した。ENBCMC水溶液に光照射することで、ENB基が二量化し、架橋点として作用することでハイドロゲルが形成される。このゲルは培養細胞に対して非侵襲的に分解できることができ期待される。本研究では、ENBCMCの光ゲル化および酵素分解挙動を評価し、さらに細胞パターンシートの形成や新たな3D細胞培養系の構築を試みた。

■活動内容

1. 実験方法

ENBCMCは4-ethyl-3-nitroanilineをCMCに縮合させて合成し、PBS(-)に溶解しENBCMC溶液を得た。365 nmのUV光を照射することにより光架橋し、透明なENBCMCゲルを形成した。このゲルにセルラーゼを添加して分解挙動を評価した。フォトマスクを用いた光照射でパターンングゲルを作製し、マウス胎児皮膚纖維芽細胞(3T3細胞)を播種して細胞パターン形成および積層パターン培養を試みた。また、ゲル足場の酵素分解による細胞パターンシートの回収を検討した。さらに、ゲル内部での細胞を三次元的に固定化し、スフェロイド形成などの挙動を観察した。

2. 結果・考察

まず、1wt% ENBCMC溶液に365 nmのUV光を1秒間照射することで、ゲル-ゲル転移が誘起されゲル化した(Fig. 1)。調製したゲルに0.1wt%のセルラーゼ溶液を添加すると、15分で完全に分解することが観察された。次に、異なる光照射時間で調製したパターンングゲル上に3T3細胞を播種すると、長時間照射域で細胞が密に接着して伸展した一方で、短時間照射域ではほとんど接着伸展せず、その結果、細胞パターンが形成された(Fig. 2a, b)。また、細胞パターンを形成したディッシュに0.1wt%セルラーゼ溶液を添加することにより、パターン化細胞シートとして容易に回収可能であることが確認された(Fig. 2c)。異なるパターンを用いてこのプロセスを重ねて繰り返すことで作製した3層の積層パターン培養系の共焦点レーザー顕微鏡観察

像をFig. 3に示す。異なる蛍光で染め分けた各層内の細胞は異なるパターンからなる3層構造を形成、3D空間における細胞の配置をこうして任意に制御することで、生体組織構造を模倣した新規な3D培養系を構築できることが強く示唆された。さらに、ENBCMCゲル内部でHeLa細胞をin gel培養すると28日後には最大直径400 μ mのスフェロイドに成長したことから、ゲル内部に細胞を安定に保持し、酸素や栄養分の高い透過性を実現していることが示唆された。

以上により、新開発材料であるENBCMCを用いて、高い栄養・酸素透過性、細胞の空間的配置および低侵襲な細胞回収機能を兼ね備えた3D組織培養系を実現する有望なスキームが実証された。

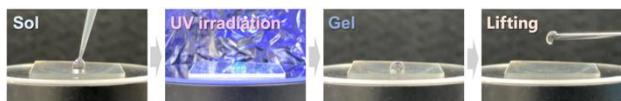


Fig. 1. Gelation process of 1 wt% ENBCMC aqueous solution upon UV (365 nm) irradiation for 1 second.

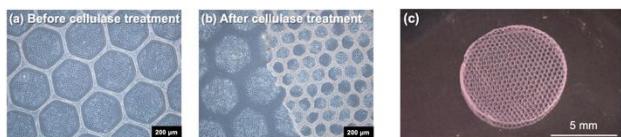


Fig. 2. Phase-contrast microscopy images of 3T3 cell patterns cultured on honeycomb-patterned 1 wt% ENBCMC gels: (a) before cellulase treatment and (b) after treatment with 0.1 wt% cellulase solution. (c) Photograph of isolated cell pattern sheet.

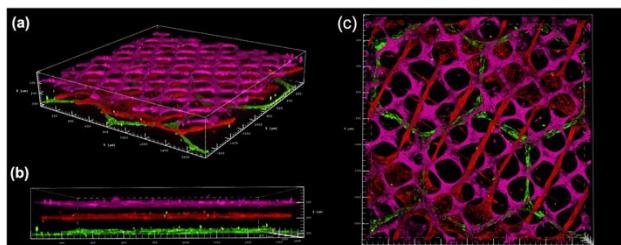


Fig. 3. Z-stack 3D images of three-layer stacked 3T3 cell pattern cultures in 1 wt% ENBCMC hydrogel obtained by confocal laser scanning microscopy: (a) oblique view from above, (b) side view and (c) top view,

■関連情報等(特許関係、施設)

特願 2025-112151 「ポリマー及びその製造方法」

■キーワード: (1)光応答性高分子
(2)ハイドロゲル
(3)細胞培養

■共同研究者: 須丸 公雄(産総研)
高木 俊之(産総研)
友田 綾花(産総研)

代表発表者
所 属
問合せ先
沖原 正明(おきはら まさあき)
国立研究開発法人 産業技術総合研究所
生命工学領域 細胞分子工学研究部門
〒305-8565 茨城県つくば市東 1-1-1
m.okihara@aist.go.jp