

低分子ハイドロゲル化剤の細胞培養基材への有用性

(信州大学院総合工) ○鈴木正浩・那須将樹・寺本 彰・
阿部康次・英 謙二

【緒言】 近年、細胞培養技術の進歩により再生医療の研究が注目されている。細胞培養の足場材料として高分子がよく使われているが、低分子材料を用いた細胞足場の報告はまだ少ない。本研究では、L-リシンを基盤とした低分子ハイドロゲル化剤の細胞培養足場材料としての有用性について検討した。

【実験】 今回ゲル化剤として、末端に負電荷をもつ L-リシン誘導体を用いた。リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) に加熱溶解させた末端に電荷をもつ L-リシン型ゲル化剤の溶液を細胞培養用 Dish (TCD) の底面へ 200 μ l ずつ滴下した。滅菌として紫外線照射を施しながら室温にて静置することでゲルを形成させ、培養基材として用いた。この基材上にマウスの繊維芽細胞 (L929) を 5×10^4 cell/well で播種し、 $37^\circ\text{C} \cdot 5\% \text{CO}_2$ の条件で培養した。所定時間培養後、ゲル基材上の上澄み培養液を回収し、非接着

細胞数をカウントすることで基材への細胞接着率を求めた。また、位相差顕微鏡を用いて播種から 24 時間後の基材上に接着した細胞の形態観察を行なった。

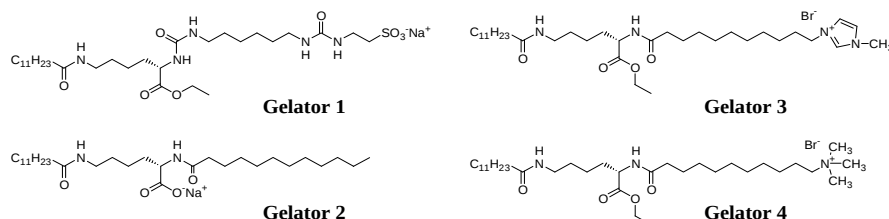


Figure 1. Chemical structures of L-lysine based hydrogelators.

【結果・考察】 合成した化合物は水溶液をゲル化するハイドロゲル化剤として機能することが分かった。特に PBS に対しては 10 mg/ml 以下の低濃度でゲルを形成した。また、濃度 1 mg/ml に調製したサンプルの原子力間顕微鏡像 (DFM 像) よりすべてのゲル化剤はそれぞれほぼ一定の太さのナノファイバーを形成していることが観察された。

各ゲル基材上に細胞を播種してから 24 時間後の接着率はゲル化剤の構造に依存した。いずれのゲル基材上でも細胞は高い接着率を示した。特に **1** から成るゲル基材上では培養 1 時間後から 80% 以上の接着率となった。また位相差顕微鏡を用いて播種から 24 時間後の細胞の形態観察を行なった。**1** の基材上では細胞が基材に接着し伸展している様子が観察された。丸いままの細胞も混在していたが、コントロールに用いた TCD に接着した細胞のような高アスペクト比の伸展形態をとっていた。一方、**3, 4** の基材上では細胞は丸いまま接着しており伸展は見られなかった。一般的に細胞と細胞外マトリクスの間は接着タンパクを介して接着が起こるため **1** では接着タンパクと良好な相互作用が働き、細胞は接着・伸展したと考えられる。また **3, 4** ではゲル化剤の正電荷と細胞表面の負電荷による静電的作用によって強く引き付けられるため伸展しなかったと考えられる。以上より、低分子ゲル化剤から成る基材上においても、細胞は接着・伸展し、中でも負電荷で末端にスルホン酸基を有するゲル化剤の基材では良好な結果が得られた。また末端にスルホン酸基を持つ他のゲル化剤についても同様の調査を行なった結果を報告する。

Availability of Low-Molecular-Weight Gelators to Cell Culture Scaffold Material

M. Suzuki, M. Nasu, A. Teramoto, K. Abe, Kenji Hanabusa (Shinshu Univ., msuzuki@shinshu-u.ac.jp)

We synthesized new L-lysine-based hydrogelators and examined their hydrogelation abilities. These compounds functioned as a hydrogelator that formed hydrogels in aqueous solutions. The DFM observation demonstrated that these hydrogelators self-assembled into nanofibers and created the network structures. To apply these supramolecular hydrogels having nano-network structures to a cell culture material, L929 cells were cultured on the hydrogels. For some hydrogels, the adhesion and spread of L929 cells were observed. In particular, it was found that the hydrogels formed by hydrogelators with a terminal sulfonate group were a good cell culture material.