

## C308

## マイクロ流体デバイスを用いた異方的ゲルファイバーの作製と細胞共培養系への応用

(千葉大工) (学)菅谷 紗里・○(正)山田 真澄\*・(正)関 実

## 【緒言】

アルギン酸は  $\text{Ca}^{2+}$  等の 2 価カチオンの存在下で水ゲルを形成する多糖類であり、その生体適合性・力学的強度・加工の容易さから、微生物や酵素の固定化担体や 3 次元的組織構築のためのスキャホールドとしての利用が期待されている。中でもファイバー状のアルギン酸ゲルは、生分解性縫合糸として利用されているほか、高密度細胞培養のためのマトリックスとしても有用である。通常、ファイバー状のアルギン酸ゲルの作製には、ノズルを用いてアルギン酸水溶液をゲル化水溶液中に押し出す手法と、ローラー等を用いてファイバーを巻き取る引き上げ法の二つが用いられており、また近年、マイクロ流体デバイスを用いた作製手法も提案されている (1, 2)。しかしながらこれらの手法では、ファイバー径の制御が困難な場合が多く、また、左右で成分の異なる異方的なファイバーといった、より高機能なバイオマテリアルの合成は不可能であった。

そこで本研究では、異方的なアルギン酸ファイバーを作製するためのマイクロ流路システムを提案する。マイクロ流路層流系において形成される並行多相流を利用し、さらにアルギン酸のゲル化速度を調節するための薄層バッファー溶液を導入することで、連続的なファイバー状水ゲルの合成を試みた。実験では、作製されるファイバー径に影響を与える要因の検討を行うとともに、左右で力学的強度の異なるファイバーや微小な液滴を含むファイバーの作製を行い、さらには異なる種類の細胞を左右に埋包することで、細胞共培養系への応用を行った。

## 【実験方法および結果】

マイクロ流路を用いたアルギン酸ファイバー作製の原理を図 1 に示す。複数の入口分岐を有する流路構造に対し、中心側の分岐からアルギン酸 Na 水溶液を、その外側から  $\text{Ca}^{2+}$  イオンを含まないバッファー溶液を、さらにその外側から  $\text{CaCl}_2$  水溶液をそれぞれ連続的に導入する。マイクロ流路内に形成される安定な層流系において、 $\text{Ca}^{2+}$  イオンが拡散によってアルギン酸相に取り込まれることで、アルギン酸 Ca 水ゲルが構成され、ファイバーが出口から連続的に回収される。なお、アルギン酸水溶液の入口を複数設け、異なる組成のアルギン酸水溶液を導入することで、異方的なファイバーを得ることができる。

実験では、入口流路幅 100  $\mu\text{m}$ 、合流部の幅 400  $\mu\text{m}$ 、深さ 90  $\mu\text{m}$  の PDMS 流路構造を作製した。溶液としては、10% (w/v) デキストラン (分子量 500,000) を含む 0.1 M  $\text{CaCl}_2$  水溶液、バッファー溶液として 10% (w/v) デキストラン水溶液、(主に) 2% (w/v) アルギン酸 Na 水溶液を、それぞれ

シリンジポンプを用いて連続的に導入した。

まず流量調節によってファイバー径の制御を試みたところ、得られるファイバーは、アルギン酸 Na 水溶液の流量が大きいほど径が大きく、バッファー溶液の流量が小さく  $\text{CaCl}_2$  水溶液の流量が大きいほど径が均一になり、その値は数  $\mu\text{m}$  ~ 50  $\mu\text{m}$  程度で調節可能であった。また、アルギン酸 Na 水溶液の入口を 2 つあるいは 3 つ有する流路構造を用いることで、2 成分あるいは 3 成分の異方的ファイバー作製が可能であること、アルギン酸 Na 水溶液の一方にアルギン酸プロピレングリコールを混合することでらせん状のファイバー作製が可能であること (図 2)、さらに、液滴 (油滴) を内包するファイバーの作製も可能であることが確かめられた。また NIH 3T3・HeLa・JM 細胞等の培養細胞を埋包したファイバーを作製したところ、これらの細胞はファイバー内でスフェロイド状に増殖することが観察された。さらにファイバーの左右において HepG2 と NIH 3T3 細胞の共培養を行ったところ、共培養条件下において HepG2 のアルブミン産生能が高まることが確認された。本研究で作製したアルギン酸ファイバーは、マイクロメートルオーダーで正確にその異方が制御できるため、高機能バイオマテリアルとしての利用が期待される。

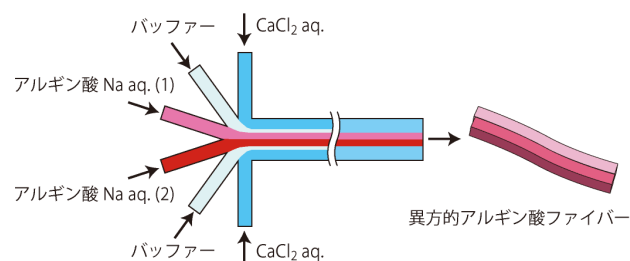


図 1 異方的アルギン酸ファイバー作製の模式図。

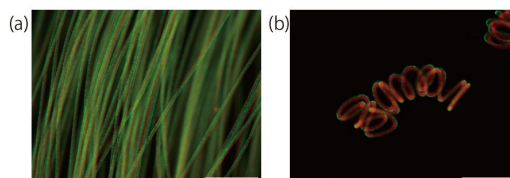


図 2 作製したファイバー (緑色・赤色の蛍光粒子を含む) の例。(a) 2 成分直線状ファイバー、(b) らせん状ファイバー。スケールバー : 500  $\mu\text{m}$ 。

## 【参考文献】

- (1) S. Sugiura, et. al., *Lab Chip*, **8**, 1255-1257 (2008).  
 (2) J. Su, Y. Zheng, H. Wu, *Lab Chip*, **9**, 996-1001 (2009).

\*Tel/Fax: 043-290-3398

E-mail: myamada@faculty.chiba-u.jp