

D117

PEG ブラシ表面が与える細胞接着性の変化

(北九大工) ○ (正) 吉浦 由貴子・(学) 堺 裕輔・(学) 浅田 次郎・(正) 中澤 浩二*

【緒言】

近年、細胞のパターニング技術は、再生医療技術やバイオ人工臓器、細胞チップ開発への展開が期待されている。細胞のパターニング技術において、バイオマテリアル表面の細胞接着性を制御することは非常に重要であり、細胞非接着面を形成する優れたマテリアルの一つとしてポリエチレングリコール (PEG) が知られている。PEG はその高い体積排除効果により、タンパク質の吸着や細胞の接着を抑制することができる (図 1)。

本研究では、細胞非接着面の最適な条件設計を行うことを目的に、PEG ブラシ表面の分子量および密度依存的な細胞非接着性の関係を明らかにした。

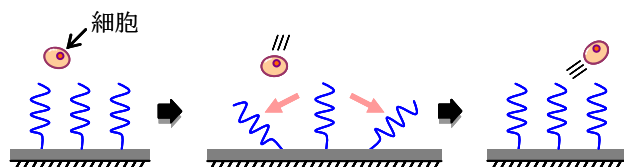


図1. PEG体積排除効果による細胞非接着性

【実験方法】

分子量の異なる 4 種類の PEG (MW : 2000、5000、10000、30000) を用い、基板表面の PEG ブラシ密度が異なる培養基板を作製した。これらの PEG は末端にチオール基を有するものを用い、Pt 蒸着した 35mm 組織培養ディッシュとの間で Pt-チオール結合させることで PEG ブラシ表面を形成させた。

各条件の PEG ブラシ基板を用いて、表面濡れ特性の評価 (水の接触角測定)、および細胞接着性の評価を行った。細胞接着性の評価はマウス線維芽細胞 (NIH3T3)、ヒト肝芽腫由来細胞 (HepG2) などの細胞を用い、培養 24 時間後の細胞接着率を評価した。

【結果・考察】

各 PEG ブラシ表面において、水の接触角の変化を測定した結果、分子量 2000 では PEG ブラシ密度に依存して徐々に接触角は低下し、親水面を形成した。分子量 5000、10000、30000 においては $0.05 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ 前後で接触角が急激に変化し、高親水面を形成した。

NIH3T3 細胞の 24 時間あたりの細胞接着率を評価した結果、分子量 2000 と 5000 の PEG では、分子量およびブラシ密度に依存して接着率が低下した。これに対して、分子量 10000 と 30000 の PEG では、細胞の接着性はブラシ密度にのみ依存しており、 $0.05 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ 以

上で細胞非接着面を形成した (図 2 および 3)。これらの結果より、分子量 5000 以下では PEG 自身の体積排除効果が比較的小さく、細胞の接着性は PEG のブラシ密度に依存する、一方、分子量 10000 以上では PEG 自身の高い体積排除効果により、低密度でも細胞非接着面を形成するものと考えられる。このような傾向は、他の細胞種においても観察された。

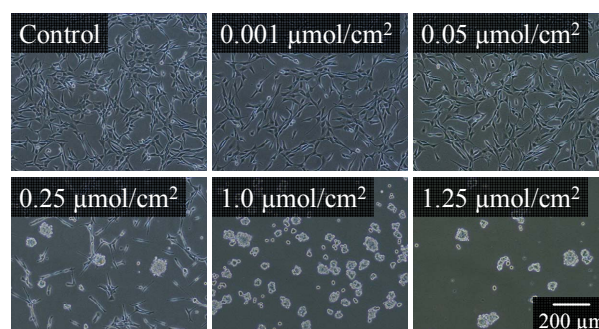


図2. PEG2000における各密度での3T3細胞の形態変化

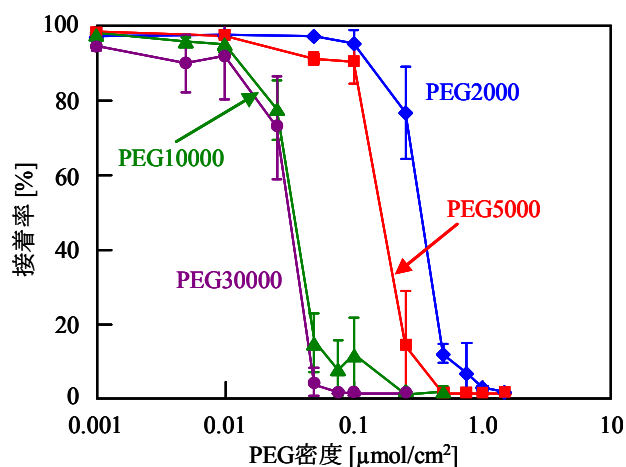


図3. PEGブラシ表面と3T3細胞接着率の関係

【結言】

本研究では、PEG ブラシ表面の分子量および密度依存的な細胞非接着性の関係を明らかにした。その結果、分子量 5000 以下の PEG では分子量およびブラシ密度依存的に細胞接着性が低下するのに対し、分子量 10000 以上の PEG ではブラシ密度依存的に細胞接着性が低下することを見出した。これらの情報は、細胞非接着面形成のための重要な知見である。

*E-mail: nakazawa@env.kitakyu-u.ac.jp