

アジド標識細胞と歪みジインによる細胞凝集体の作製と接着関連遺伝子変動の解析

(1. 東農工大院工、2. 東農工大院農) ○吉永 萌華¹・佐藤 史也¹・北川 浩平¹・竹前 等²・寺 正行¹

Formation of cell aggregates by azide-labeled cells and water-soluble cyclooctadiyne and analysis of the gene fluctuation related to cell adhesion (1. *Graduate School of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology*, 2. *Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology*)

○Moeka Yoshinaga¹, Fumiya Sato¹, Kohei Kitagawa¹, Hitoshi Takemae², Masayuki Tera¹

We have developed the water-soluble cyclooctadiyne (WS-CODY) equipping polar functional groups on their side chains, which could spontaneously and promptly crosslink two azides in water, through the proximity effect caused by the ion-pair interactions. In this study, we utilized WS-CODY to the cell aggregates where azide-labeled non-adherent cells and the cationic WS-CODY were mixed and centrifuged. After 48 hours incubation, we extracted mRNA from the cell aggregates and subjected to transcriptome analysis. As a result, cell-cell adhesion related genes were upregulated, suggesting that cell-cell chemical crosslinking could trigger the induction of biological adhesion.

Keywords : Chemical biology; Click reaction; Cell aggregates; Cell adhesion; Strained alkyne

【目的】再生医療や創薬研究分野では、生体モデルとして細胞凝集体を構築する技術が求められている。これまでに細胞自身が有する接着能に基づいて細胞同士を自発的に凝集させる手法が開発されているが、接着因子の発現に依存しているため、凝集化に時間を要することや細胞接着能の低い細胞では凝集体の形成が難しいなどの課題がある。一方、細胞表面での生体直交反応を利用した方法は、細胞間を直接的に架橋することができるため、人工的な細胞接着法の一つとして有望である。当研究室では荷電側鎖を有する水溶性歪みジイン (WS-CODY) を開発している¹⁾。WS-CODYは、歪み促進型アジド-アルキン付加環化反応により水中でアジド二分子を連結でき、側鎖のイオン対形成により反応効率を調節できる。本研究では、WS-CODYを用いた細胞凝集体の作製、化学的な細胞間接着に伴う遺伝子変動を精査することを目的とした。【結果】まず、ヒト肺癌由来の難接着性細胞株である PC-9 の細胞表面をアジド標識した。この PC-9 細胞に対しカチオン性 WS-CODY (**1a**) を作用させ、遠心処理することで細胞凝集体を作製できた (Figure 1)。一方、双性およびアニオン性側鎖を持つ **1b**、**1c** を用いた場合は細胞凝集体が形成されなかった。得られた細胞凝集体を 48 時間培養後に mRNA を抽出し、トランスクリプトーム解析により遺伝子発現の変動を調べた。その結果、*CLDN9* や *CTNNA1* などの細胞間接着に関連する遺伝子発現が上昇していることを見出した。すなわち WS-CODY による細胞間の共有結合が生物学的な細胞接着を誘導していることが示唆された。

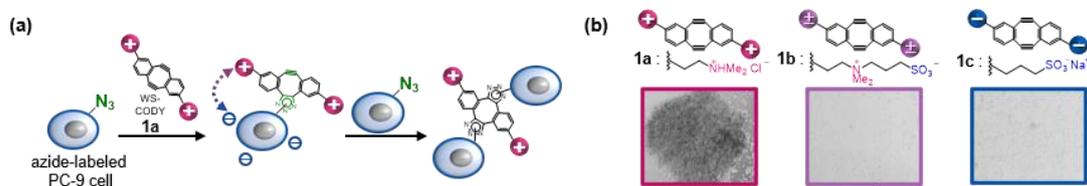


Figure 1. (a) Schematic illustration of cell-cell adhesion by WS-CODY. (b) Images of the cell aggregation by WS-CODY. Scale bars represent 500 μm .

【参考文献】 1) M. Tera, Z. Harati-Taji, N. Luedtke, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, 57, 15405.