

近赤外線レーザーによる細胞3D組織体の構築

タンパク共存効果の検討

Constructing stable 3D cellular assemblies by use of optical tweezers in a medium with protein

同志社大, °宮崎幹, 山崎健広, 貞包浩一朗, 剣持貴弘, 吉川研一

Doshisha Univ., °Miyazaki Tsuyoshi, Yamazaki Takehiro,

Koichiro Sadakane, Takahiro Kenmotsu, Kenichi Yoshikawa

E-mail:bmp0045 @ mail4.doshisha.ac.jp

iPS や ES 細胞を用いる再生医療分野の発展にとって, ゲルなどの人工的な足場を用いることなく任意の培養細胞を3次元組織化し, Organoid(ミニ臓器)を形成させる技術の創出は重要な課題となっている. 我々の研究グループでは, 合成高分子の PEG などによる混雑環境下で近赤外線レーザーを用い, 細胞集団の安定的形成が可能になるとの実験結果を報告してきている.^[1,2]

本研究では, depletion効果を示す高分子として, lysozymeを用い安定な 3D の細胞組織体の構築を試みた. 細胞組織体構築にはNMuMG(マウス乳腺上皮細胞)を使用した. レーザーの波長は1064nm, レーザー強度は1500mWである. 光ピンセットにより2秒間単一細胞同士を接着させた後, レーザーをオフにし経過観察したときの実験例をFig.1に示す. 高分子を添加していない溶液中(D-MEM, 10%FBS, 1%P/S)では細胞を配列後, 斥力相互作用^[3]のために, ブラウン運動に伴い, 接触させた細胞対が脱離するが, 30mg/mlのLysozymeを含有したMedium溶液中では細胞間の配列を維持することを確認した. レーザー操作による, 3次元組織体の形成についても可能であることを明らかにした. (Fig.1 右図参照) 次に細胞配列後の細胞集団の接着安定性についての計測も行ったので併せて報告する. ここでは変位, 力に関連する単位に細胞のブラウン運動による揺らぎの信号を利用している. レーザーによりトラップした細胞のパワースペクトルの測定値をローレンツ型に適合させることで感度(m/V), トラップ剛性(N/m)を取得し, 細胞間の接着力を推測した. 結果, 1秒間細胞同士を接着した場合, 30mg/mlのlysozyme含有溶液環境下での接着力は8.8pN, 10mg/mlのlysozyme含有溶液環境下での接着力は3.3pNであった. (Fig.2)

文献

[1] S. Hashimoto, et al., Chem. Phys. Lett. 655, 11(2016)

[2] A. Yoshida, et al., Polymers. 9, 319(2017)

[3] E. Sackmann, et al., Soft Matter, 10, 1644(2014)

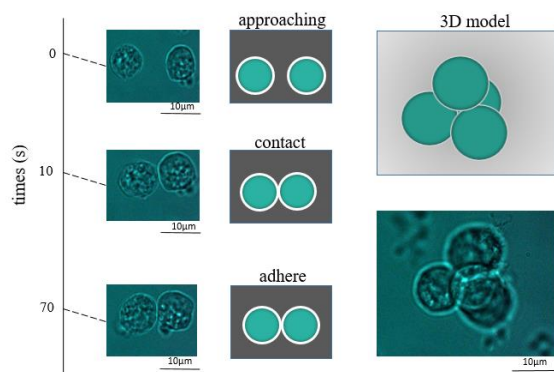


Fig. 1 Left: Laser manipulation of a pair of epithelial cells (NMuMG) in the presence of lysozyme (30 mg/ml) Right: Construction of 3-D stable cell-assembly

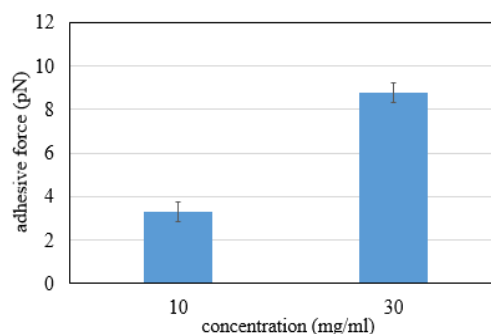


Fig. 2 Apparent adhesion force between cells estimated from the analysis of fluctuation under laser trapping. Dependence of concentration of lysozyme