

水晶振動子を用いた温度応答性スマートサーフェスによる
 フィブロネクチン接着/脱離挙動の *in situ* 観察
***In situ* monitoring of fibronectin adhesion on smart coatings
 using quartz crystal microbalance**

○李 嘉図¹、加來 大晴¹、都倉 勇貴¹、松川 滉²、本間 健太²、秋元 文²、長瀬 健一³、金澤 秀子³、
 白鳥 世明¹ (1. 慶大理工、2. 東大工、3. 慶大薬)

○Jiatu Li¹, Taisei Kaku¹, Yuki Tokura¹, Ko Matsukawa², Kenta Homma², Aya Mizutani Akimoto², Kenichi Nagase³, Hideko Kanazawa³, Seimei Shiratori¹

(1. Keio Univ. of Sci., 2. Univ. of Tokyo of Eng., 3. Keio Univ. of Phar.)

E-mail: shiratori@appi.keio.ac.jp

再生医療や病態メカニズムを探索する研究において、細胞分離技術は必須である。現在一般的に用いられる細胞分離技術としてはフローサイトメトリーが挙げられるが、この手法では細胞に蛍光物質などをラベル化する必要があり、回収細胞の生理活性低下が懸念されている。

そこで、我々は、生理活性を維持したまま細胞分離を達成する手法として、温度応答性高分子膜を用いた手法に注目した^[1]。poly(*N*-isopropylacrylamide)(PNIPAAm)膜は 32°C より低温で親水性、高温で疎水性を示す。細胞種に依存して、膜に対する温度依存的な接着/脱離性が異なることを利用して、細胞分離が達成される。本システムの分離性能向上にあたっては、温度変化に伴うダイナミックな細胞挙動変化をその場観察することが重要であると考えられる。

そこで本研究では、水晶振動子(QCM)を用いて細胞の *in situ* 接着/脱離挙動観察システムの構築を試みた。PNIPAAm を被膜した QCM を、細胞のモデル物質であるフィブロネクチン(FN)を含む水系溶媒に入れ、液温を変化させた時の周波数変化から、接着と脱離の挙動を推計した。

NIPAAm、ブチルアクリレート(BAA)、*N*-2-ヒドロキシエチルアクリルアミド(HEAAm)のラジカル重合により、P(NIPAAm-*r*-BAA-*r*-HEAAm)を得た。これをメタノールに溶解し、エレクトロスピンング法により QCM 電極上に製膜した。真空下で焼成後、FN を含むリン酸緩衝液に QCM 電極を浸漬させた。恒温恒湿槽を用いて、液温を周期的に変化させたときの振動数の変化(Δf)を測定し、FN を含まない溶液に未加工 QCM を入れて測定したデータと比較した。

作製した膜の表面温度が低温(28°C)の時、水の接触角は 37°であったのに対し、高温(40°C)においては 78°であった(Figure 1)。したがって、温度変化による膜の濡れ性変化が確認された。

1時間ごとに恒温恒湿槽の温度を 25°C、37°C と繰り返し変化させた時の、FNの有無による Δf の時間変化とその差分を Figure 2 に示す((a)製膜、FN有り、(b)未加工、FN無し、(c)差分)。初め、2種の QCM 電極ともに振動数が大きく変化せず、低温では FN が接着しないことが示唆された。次に、温度を 37°C に変化させた時、Figure 2a では Δf が一旦上昇

したのちに時間発展に伴って徐々に減少したのに対し、Figure 2b では上昇のみ見られた。また、再度 25°C に変化させた際には、逆の現象が見られたが、Figure 2a での Δf 上昇挙動が速く平衡に達したため、接着よりも脱離の方が迅速に起こることが示唆された。今後、実際の細胞を用いて同様の測定を行い、QCM の振動数に関する公式より、細胞接着量の定量化に取り組む。

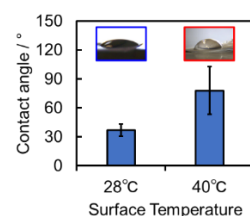


Fig. 1 Water contact angle of smart surface with different temperature.

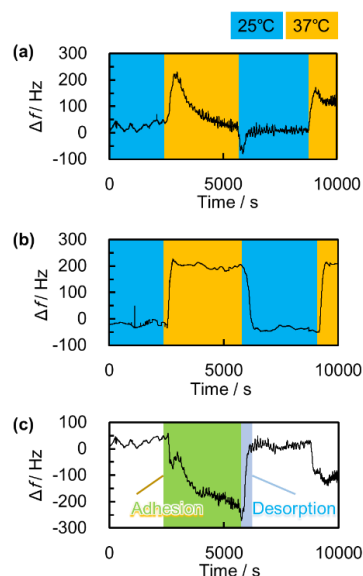


Fig. 2 Time course of Δf by (a) FN adhesion/desorption, (b) temperature shift, and (c) the difference.

Reference

[1] K. Nagase *et al.*, *Biomacromolecules* 2015, **16**, 532.