

iPS 細胞培養用マトリックスカドヘリンキメラ抗体のコーティング表面の AFM 及び QCM による分子レベル評価と培養標準化への指針

Molecular level AFM and QCM evaluation of iPS cell culture surfaces coated by matrix cadherin chimeric antibody with a view to cell culture standardization

国際科学振興財団 再生医工学バイオマテリアル研究所¹, 東京工業大学 生命理工学院²,
株式会社 アルバック³

○関 禎子^{1,2}, 我妻 美千留³, 後藤 光昭¹, 小畠 英理², 赤池 敏宏¹

Biomaterials Center for Regenerative Medical Engineering, FAIS¹,

School of Life Science and Technology, Tokyo Tech², ULVAC, INC.³

○Teiko Shibata-Seki^{1,2}, Michiru Wagatsuma³, Mitsuaki Goto¹, Eiry Kobatake², Toshihiro Akaike¹

E-mail: seki@fais.or.jp

再生医療の実現には、細胞ソース、分化誘導方法、大量培養方法など未だ解決すべき問題があり、中でも細胞培養は最も重要な技術である。しかし、細胞培養用マトリックスは細胞の増殖や分化誘導に決定的な影響を及ぼすことが知られているが、培養基剤と培養表面（ディッシュ表面）は未だ標準化されておらず、系統的に評価すら行われていない。ディッシュ表面に、我々が開発してきた細胞認識性キメラ型抗体 E-カドヘリン-Fc（E-cad-Fc）をコーティングし幹細胞を培養すると、未分化のまま培養出来ることやその後良好な分化誘導性能を示すことを明らかにしている。しかしディッシュ標準化に際し、E-cad-Fc コート表面でのその構造と機能発現の関連は明らかにされていない。

そこで、E-cad-Fc コート表面のタンパク質構造について解明し、iPS 細胞の未分化維持に対する E-cad-Fc の効果と構造変化の相関から標準化材としての可能性を評価するのが目的である。

今回、ディッシュのモデルとして、極めて平坦なポリスチレン基板を作製し、液中 AFM 観察及び QCM（水晶振動子マイクロバランス）測定を行い、ポリスチレンにコートされた E-cad-Fc の構造を調べた。Ca イオン存在下において構造変化する生体内のカドヘリンと同様の部位を有する E-cad-Fc は、AFM で長さ約 20nm のカドヘリン細胞外部位構造が観察された。AFM での吸着力及び弾性率マッピングより、カドヘリンドメインの Ca による構造変化とカドヘリン同士が結合した 2 層構造の存在が予想された。これは QCM 法による吸着量からも矛盾がなかった。また、QCM 法による粘弾性測定より、Ca イオン存在下では、非存在下よりエネルギー損失が大きく、構造変化を示唆する結果となった。E-cad-Fc の機能解明は、細胞培養に役立つのみではなく、発生学やがんの転移等、広範囲の分野の理解へと繋がる。今後、さらに細胞機能との関連について検討する予定である。

[1] 赤池敏宏他、再生医療 p338-359, 11, 2012

[2] Nagaoka M. et al., Plos ONE 1(1): e15. doi:10.1371/journal.pone.0000015

[3] Haque M. A. et al., Sci. Tech. Adv. Mat., 014106, 11, 2010

[4] 関禎子他、第 79 回応用物理学会秋季学術講演会、20p-PA3-1