発光反応に対するコラーゲン細胞培養膜の影響評価

Effect of collagen cell culture sheet on luminescence reaction

(株)東芝 生産技術センター[1]，(株)東芝 研究開発センター[2]，(株)IDDK[3]

○和田 嵩輝[1]，徳野 陽子[1]，宇留野 さえ子[2]，川田 滋久[2]，菅野 美津子[2]，上野 宗一郎[3]

Toshiba Corp. Manufacturing Engineering Center[1],

Toshiba Corp. Research & Development Center[2], IDDK Corp.[3],

○Takaaki Wada[1], Yoko Tokuno[1], Saeko Uruno[2], Shigehisa Kawata[2], Mitsuko Sugano[2], Soichiro Ueno[3]

E-mail: takaaki1.wada@toshiba.co.jp

1. 背景と目的

細胞培養向けの培地のひとつとしてコラーゲンをナノファイバ化した細胞培養膜(Collagen Sheet ; CS)が一般的に用いられている．また，検査用 DNA などを細胞内に導入して培養後，細胞内での発光反応を利用して細胞の特性や活性を調べる評価方法も広く研究されている．このような細胞発光反応を CS 上で測定するとき，発光反応に対する CS の影響を考慮する必要があるが，十分に調べられてはいない．特に測定前に添加する発光基質溶液は CS の影響を受ける可能性が懸念される．そこで発光基質に着目して細胞発光反応に対する CS の影響について調査した．

2. 実験方法

CS はエレクトロスピニング法によりアルミ箔上に製膜し，その後剥離して作製した．レポーターDNA を導入した株化がん細胞を 96 穴黒色プレートに播種し，37℃で 24 時間培養した．あらかじめ発光基質溶液に CS を入れて静置したのち，混合攪拌した溶液と CS 除去のため上清のみを回収した溶液の 2 種類を調製した．培養後の 96 穴黒色プレートに CS 処理前の基質溶液，上清液，および混合分散液を添加し，プレートリーダで発光を検出した．

3. 結果と考察

上清液添加直後の発光強度は CS 処理前の基質溶液と比べて約 30%低下した．基質と CS の事前混合時に基質分子が CS に吸着し，反応系内の基質濃度が低下したと考えられる．また，CS 処理前の基質溶液と混合分散液での発光強度の経時変化を比較すると，混合分散液は初期の発光強度が低下するとともに，長時間発光が持続する現象が見られた(Fig.1)．これは CS 膜が一度吸着した基質分子を濃度低下に従って徐々に放出すること，あるいは基質溶液に含まれる細胞へダメージを与える基質溶液中の物質の影響を CS が抑制することで細胞の長寿命化が起こることなどが考えられる．このことから CS は基質濃度の調整や細胞の長寿命化の効果が期待される．

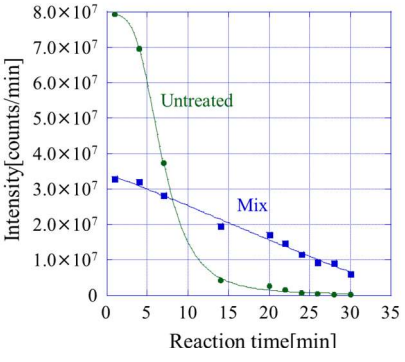

Fig.1 Intensity of cell luminescence

© 2020年 応用物理学会