

Click 反応による細胞接着の化学的制御～高次の組織形成を目指して～ Controlling of cell adhesion by click reaction toward complex tissue formation

埼玉大院理工¹, 東農工大院工² ○(M1)大熊 菜穂¹, 北川 浩平², 菅沼 雅美¹,
吉川 洋史¹, 寺 正行², 松崎 賢寿¹

Saitama Univ.¹, Tokyo Univ. of Agri. and Tech.², °Nao Ohkuma¹, Kohei Kitagawa²,
Masami Suganuma¹, Hiroshi Y Yoshikawa¹, Masayuki Tera², Takahisa Matsuzaki¹

E-mail: n.okuma.020@ms.saitama-u.ac.jp

【序論】細胞は周囲の基質や細胞と適切に生物学的・物理的に接着相互作用することで、高次の組織形成が達成される。その接着強度の制御に向けて、現状では細胞種によって変わる細胞外マトリックスの種類や濃度の探索に膨大な時間が費やされている。そのため、培養皿の上で作り上げる組織構造を生体内のように複雑なものへ近づける上では、接着法としては細胞種に依存しないような、化学的に厳密制御できるものが求められてきた。そこで本研究では、選択性と反応性がともに高いアジド-アルキン反応である click 反応を改良し、培養液中でも接着強度を厳密に制御できる新たな細胞接着法の開発を進めた。

【実験】反応活性点が2箇所ある環状アルキン誘導体(寺らが dibenzocycloocta-1,5-diyne, CODY^[1]を基本骨格に官能基-OR を導入して水溶化に成功)を用いて、アジド処理を施した細胞とガラス基板との接着強度を検討した (**Fig. 1(a)**)。ここで、実験には浮遊性のヒト肺腺がん細胞 (PC-9) を用い、培養液中に 100 μM アジド化マンノースを添加し、代謝的に細胞膜表面のシアル酸をアジド化した。一方、ガラス基板のアジド化は 0.25 v/v % NHS-peg-TES in toluene によるシランカップリングを用いた。細胞接着の強度の検証には干渉光強度を細胞-ガラス基板との距離 (h , 分解能 ~ 2 nm) に変換できる反射干渉法^[2]を用い、一般的な膜タンパク質と基板との接着距離 ($h \leq 40$ nm) の領域を強接着領域と定義して解析を行った。

【結果・考察】CODY 誘導体の添加有無での細胞の透過像と反射干渉像を示す (**Fig. 1(b)**)。透過像では細胞の接着状態の明瞭な変化は検出されなかったが、反射干渉像では CODY 誘導体によって基板との強接着領域(黒のコントラスト領域)が点状から面状へと大きく増大する様子が観察された。さらに、CODY 誘導体の官能基の種類を変えることで接着領域を約2倍減少することを見いだした (**Fig. 1(c)**)。これらの結果は、click 反応によって浮遊細胞の化学的接着を迅速に達成し、生体内で起こる様な接着強度へと微調整できる可能性を示している。発表ではより詳細な構造式や解析結果について述べる。

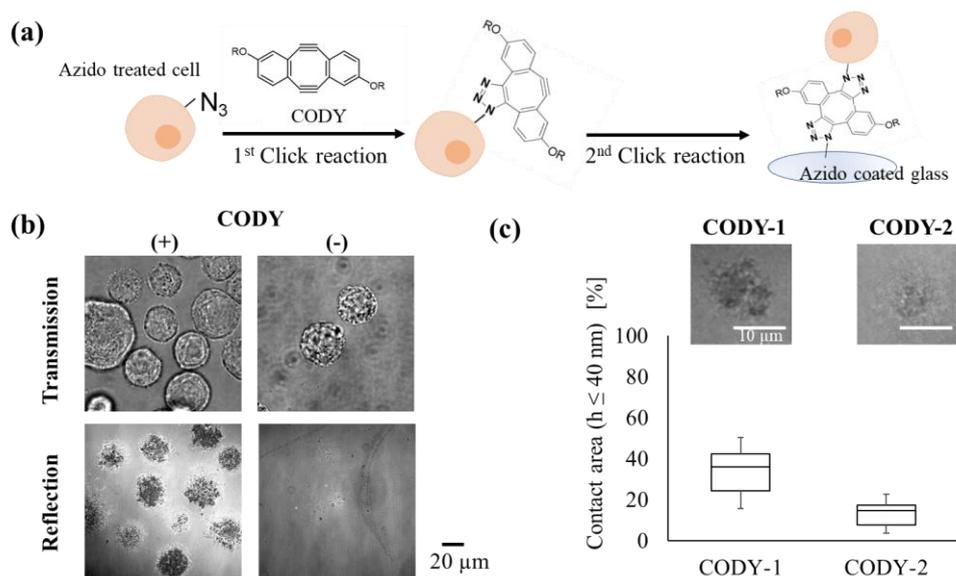


Fig. 1 (a) Concept of click reaction for cell-substrate adhesion. (b) Representative reflection and transmission images of cells in the presence / absence of CODY. (c) Statistical analysis of contact area [%] (= strongly adhesion area [μm^2] / total adhesion area [μm^2]) with CODY derivatives.

参考 : [1] Tera et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, 57 (2018). [2] Limozin et al., *Chem. Phys. Chem.*, 10 (2009).