



国立大学法人
東京農工大学
Tokyo University of Agriculture and Technology

化学的細胞接着法

大学院工学研究院

生命機能科学部門

准教授 寺 正行

2022年9月20日

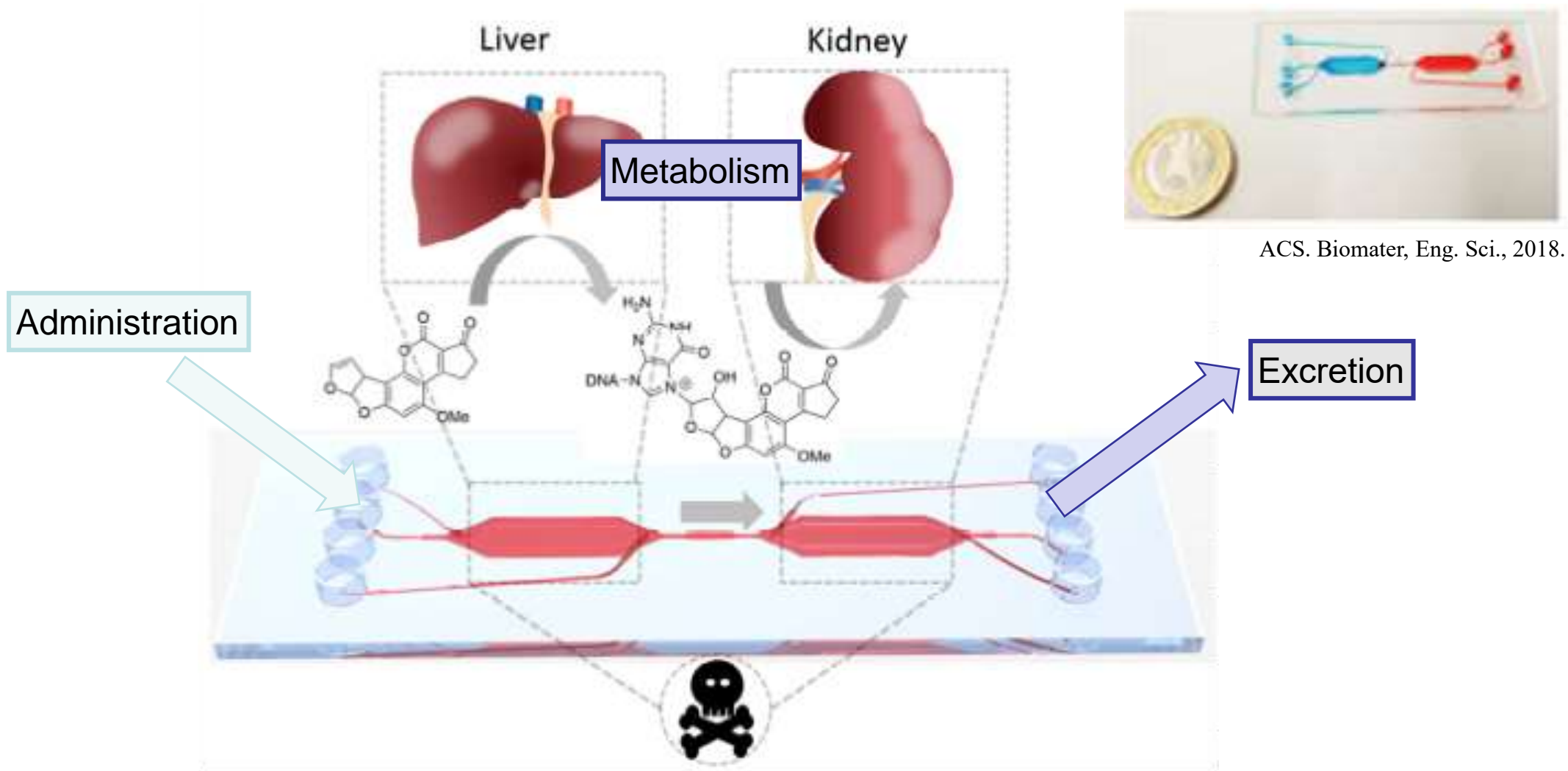
従来技術とその問題点

既に実用化されている細胞接着法の多くは細胞自身の接着因子に基づくものがほとんど。

したがって、細胞接着因子が結合しやすい素材（コラーゲン、ポリリジン）を培養基材に塗布するということが主に行われてきた。

しかし、この方法では接着に要する時間はタンパク質生成の時間域を超えることができない。また、金属や無機材料の一部には適用できない場合がある

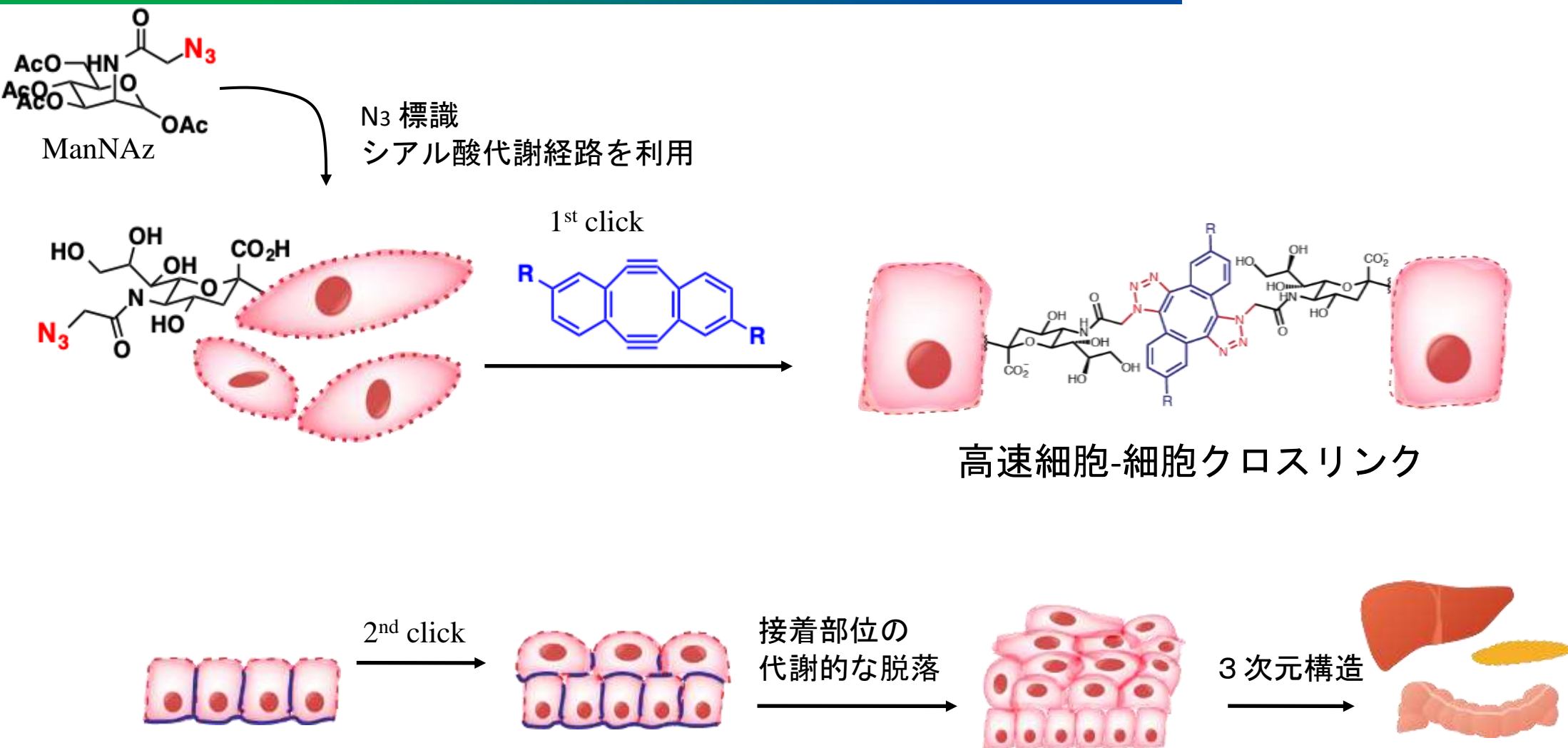
Lab-on-a-chip: 細胞-基材接着



ACS. Biomater, Eng. Sci., 2018.

動物の循環器モデル

スフェロイド・オルガノイド：細胞-細胞クロスリンク

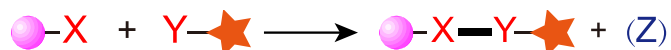


新技術の特徴・従来技術との比較

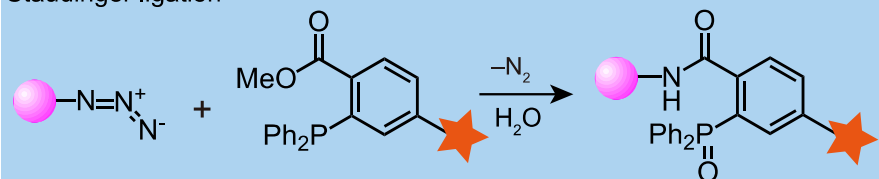
- 細胞を任意の場に5分以内に接着させることができる。
- 接着させた細胞は、細胞接着関連遺伝子の発現を誘導する。
- 本技術の適用により、細胞に対してダメージ少なく、高速に接着させることができる。

細胞表面における生体直交反応

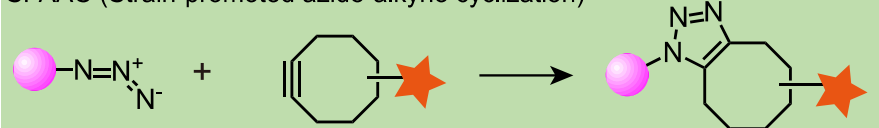
- ▶ 高い汎用性: 生体直交官能基を修飾すればどんな表面でも接着できる
- ▶ 高い反応速度: 細胞膜の性質を利用した反応加速
- ▶ 簡便性: 細胞への負荷を減らすための短工程



Staudinger ligation



SPAAC (Strain-promoted azide-alkyne cyclization)



Tetrazine-TCO ligation

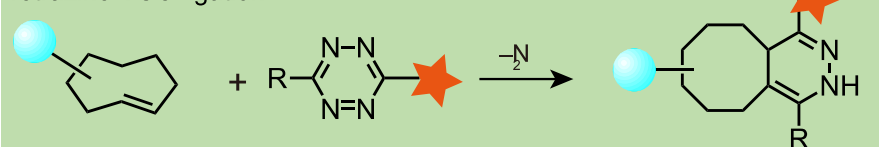
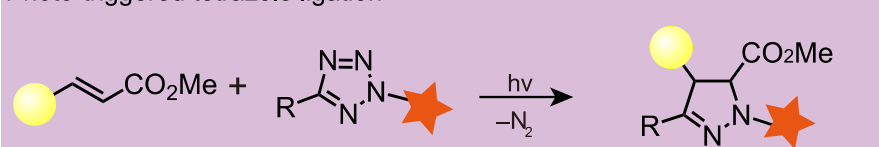


Photo-triggered tetrazole ligation

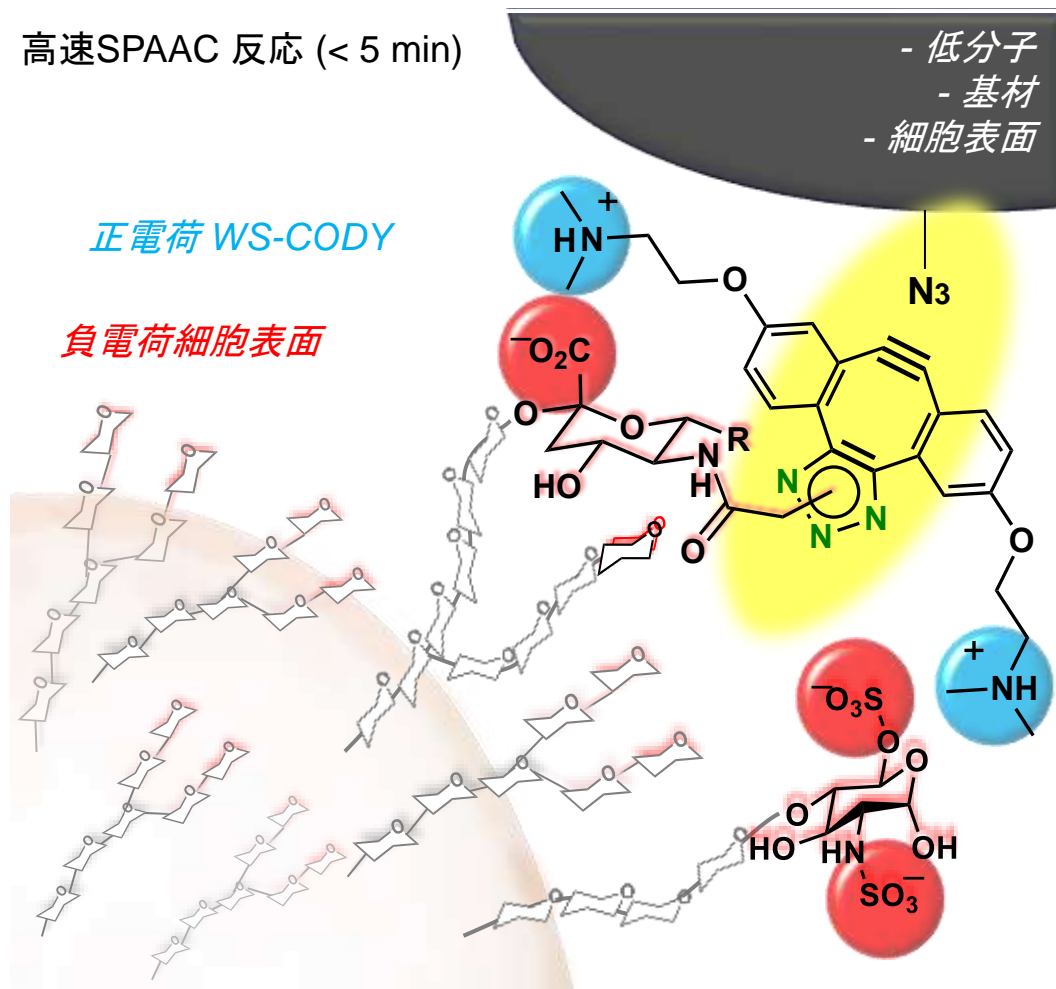


高速SPAAC 反応 (< 5 min)

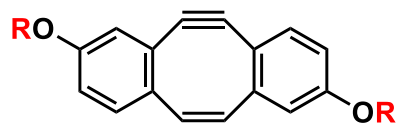
- 低分子
- 基材
- 細胞表面

正電荷 WS-CODY

負電荷細胞表面

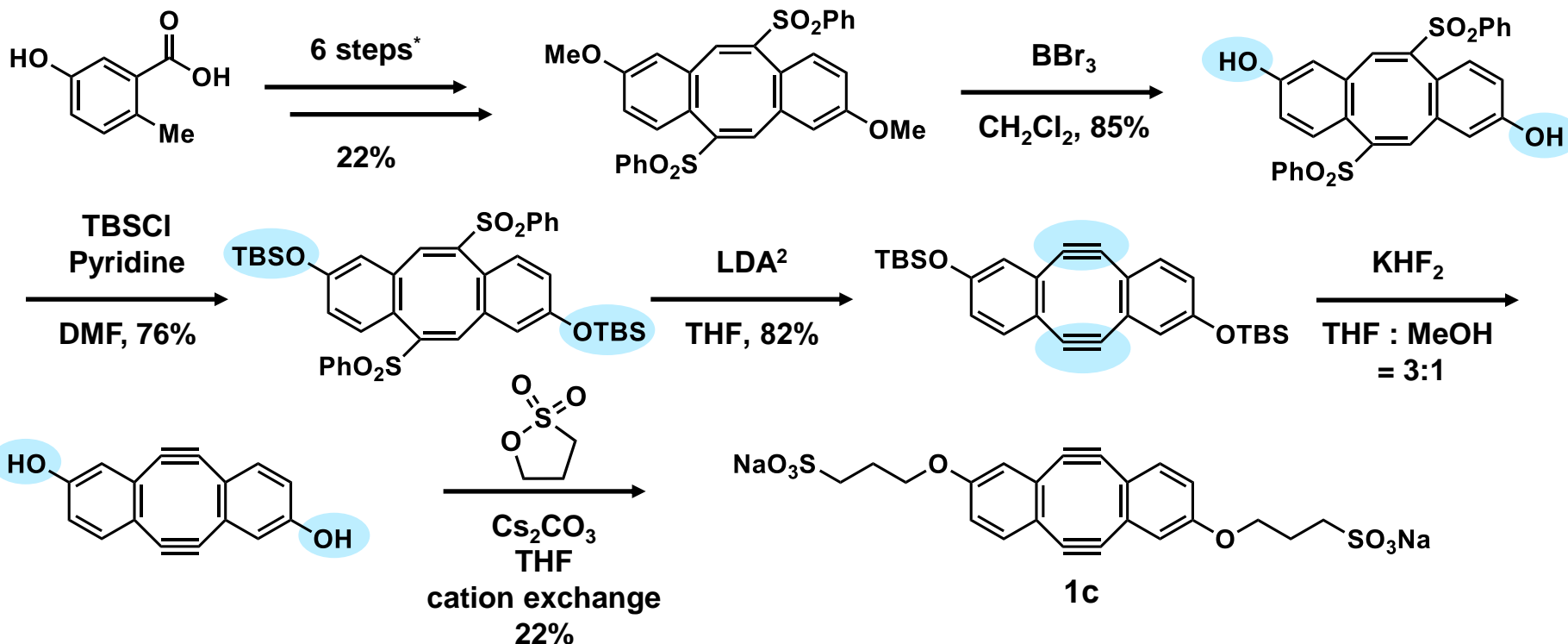
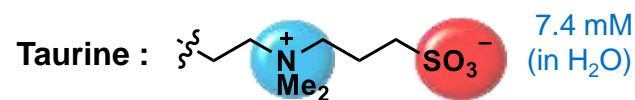


側鎖修飾を容易とするWS-CODY合成法の確立

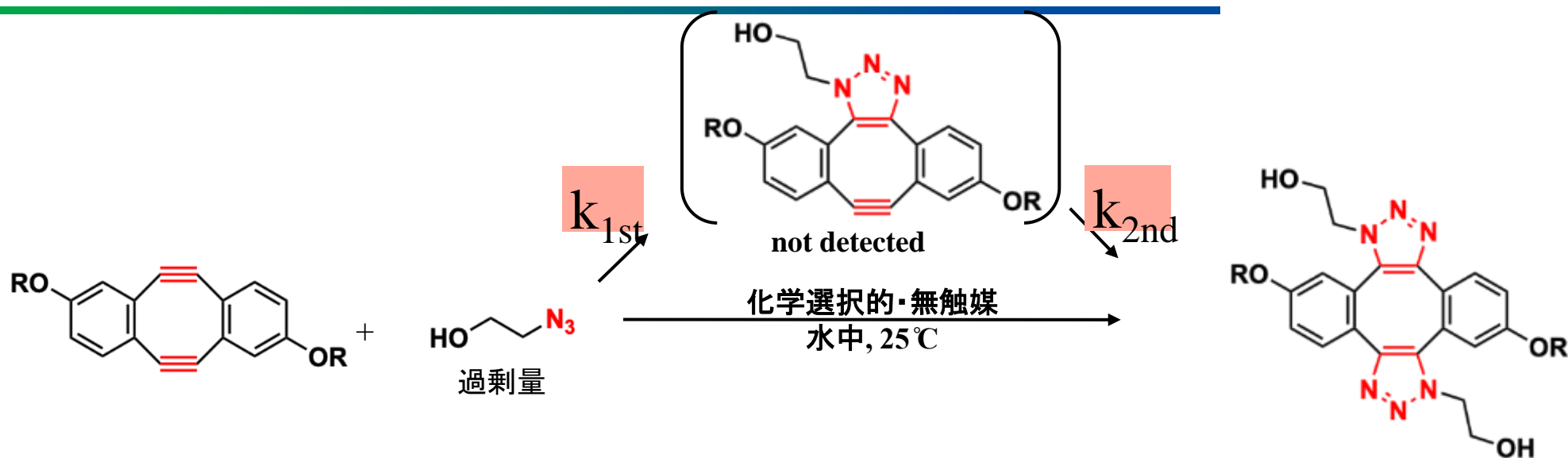


WS-CODYs

R =



基質の組み合わせによる反応速度の影響

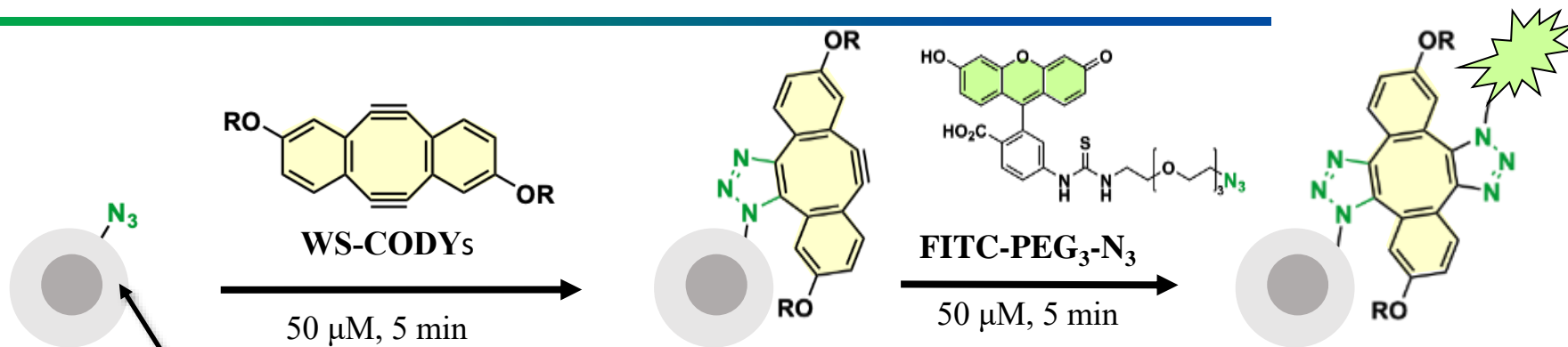


反応速度定数: k ($M^{-1} \cdot sec^{-1}$) (in H_2O)

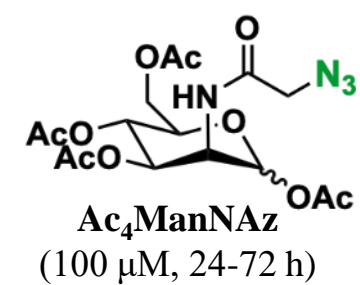
	R		
N_3			
N_3 -CH ₂ -CH ₂ -OH			CODY ¹
N_3 -CH ₂ -CH ₂ -SO ₃ Na			0.06 ± 0.00

¹I. Kii, Yohsida, Hosoya *et al.*,
Org. Biomol. Chem., 2010,

生細胞表面におけるWS-CODYの反応加速がイオン対形成によるか検証

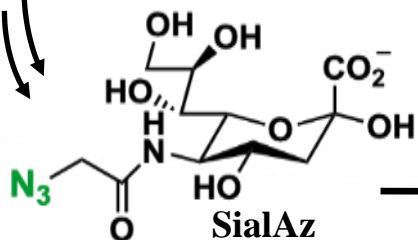


シアル酸合成経路を利用したN₃修飾



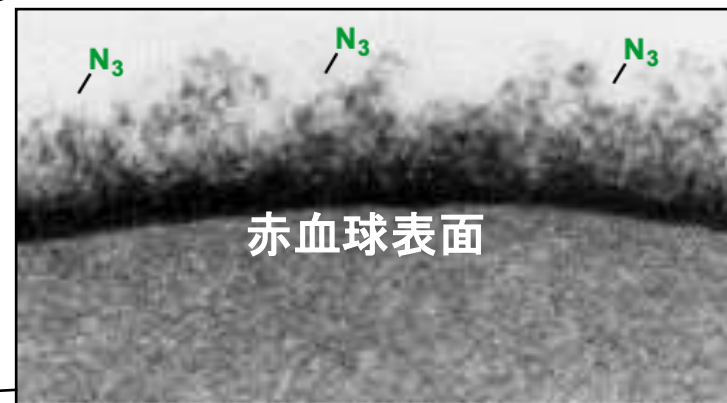
細胞膜

ManNAz



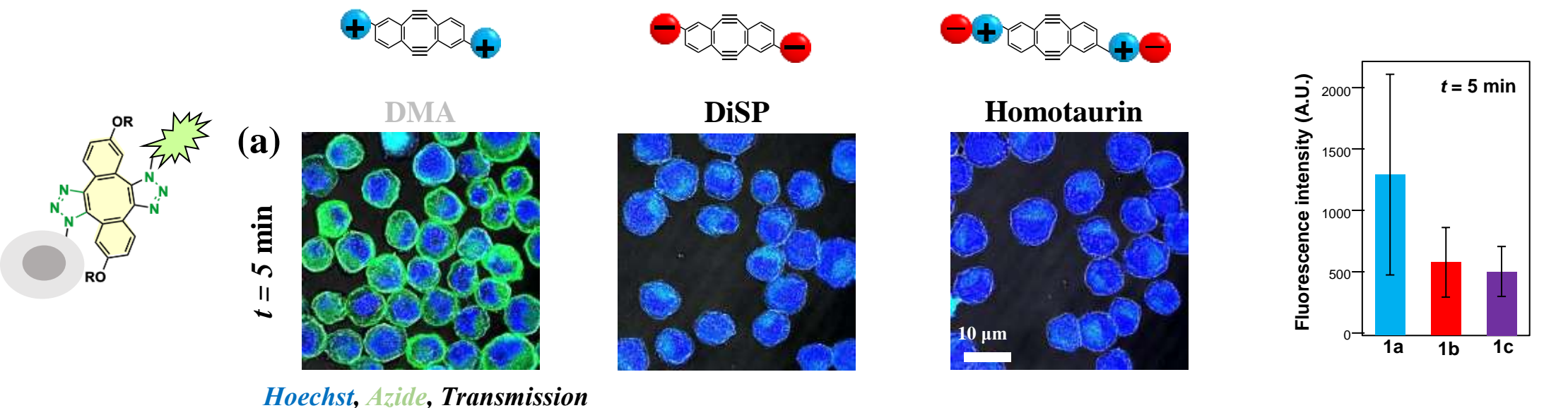
Golgi

nucleus

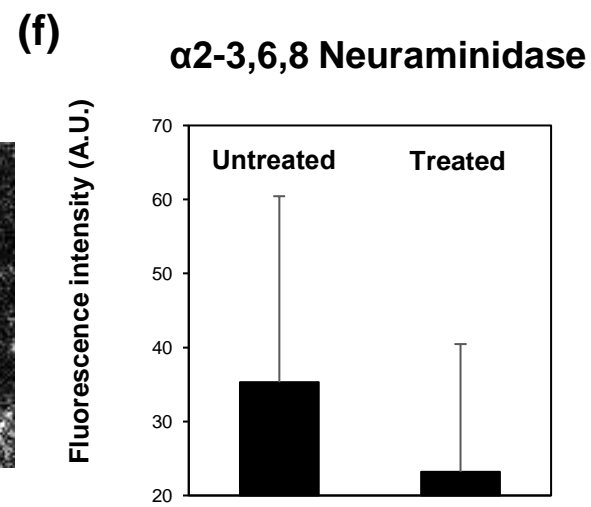
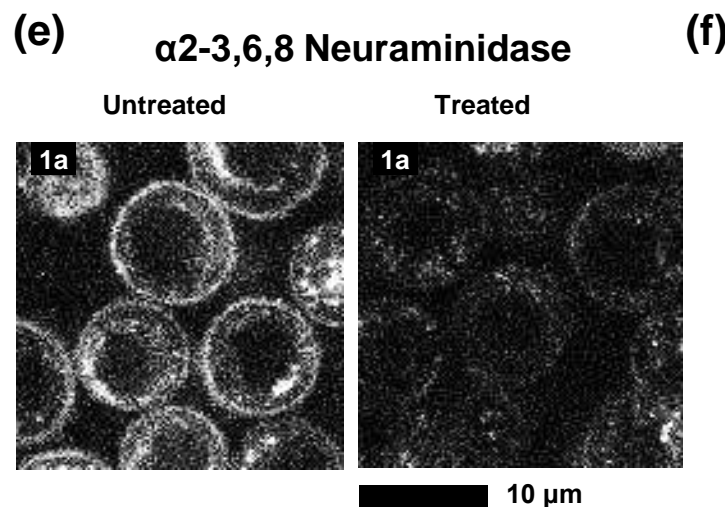
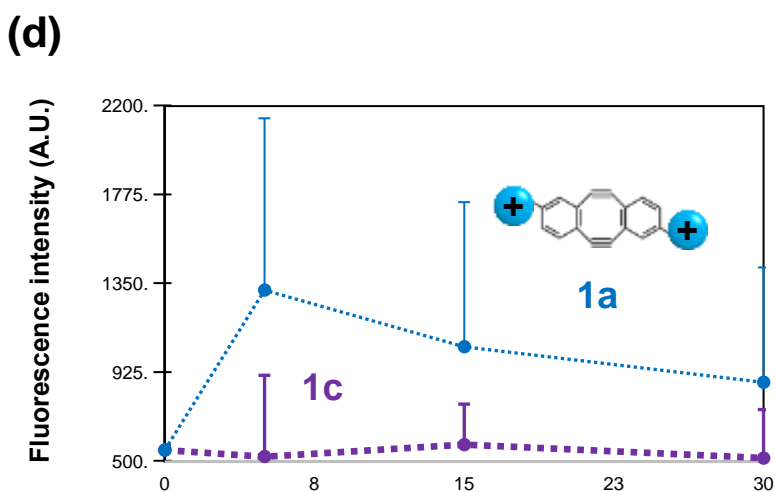


動物細胞はシアル酸を含む糖鎖により覆われている

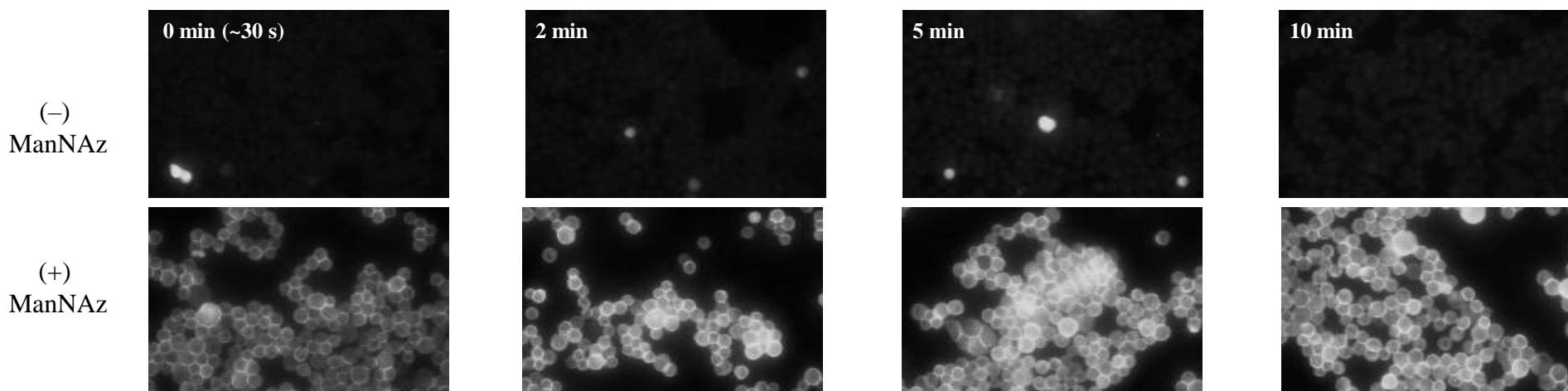
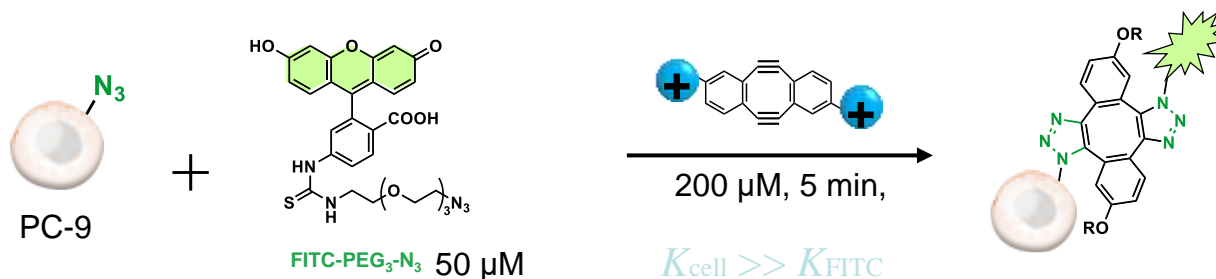
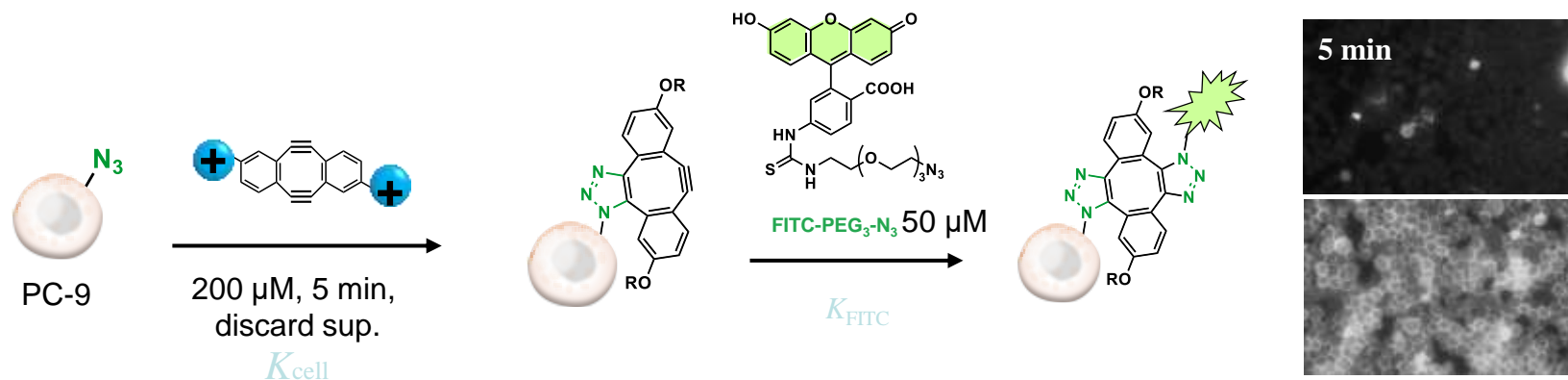
細胞表面における高速クリック反応の概念検証



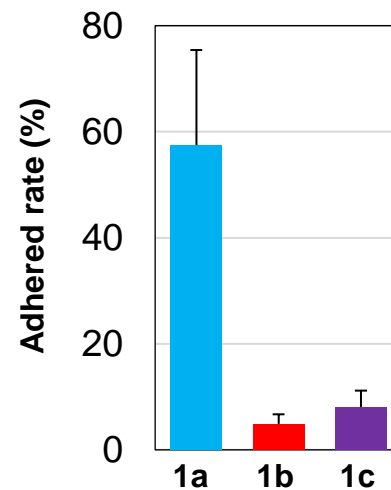
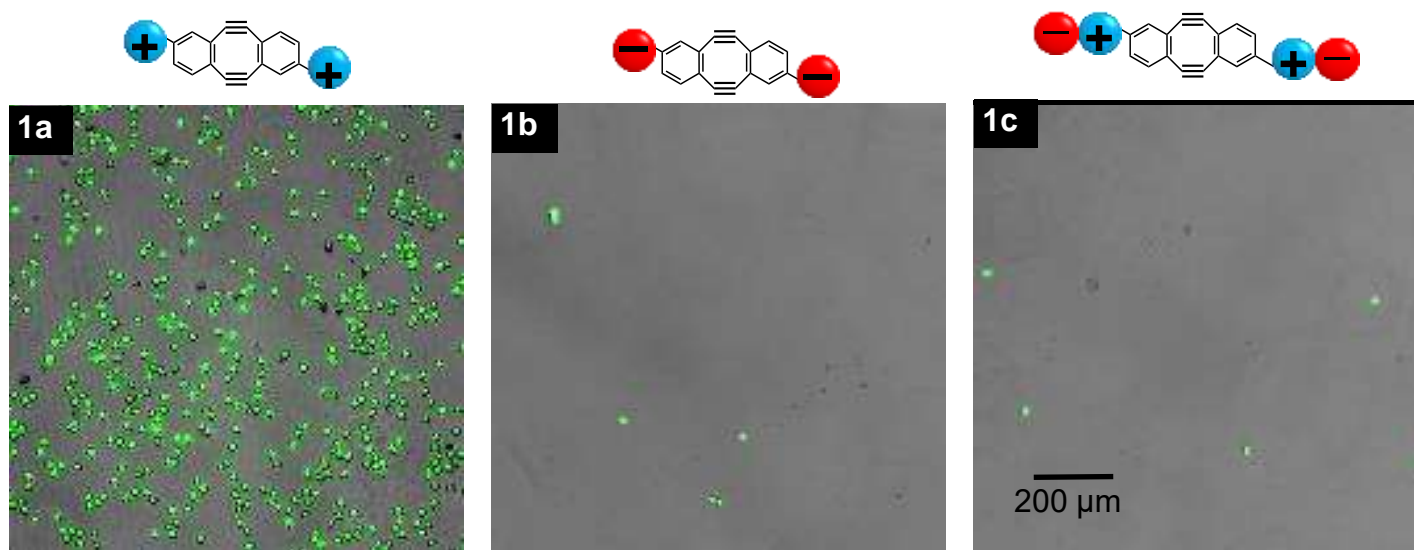
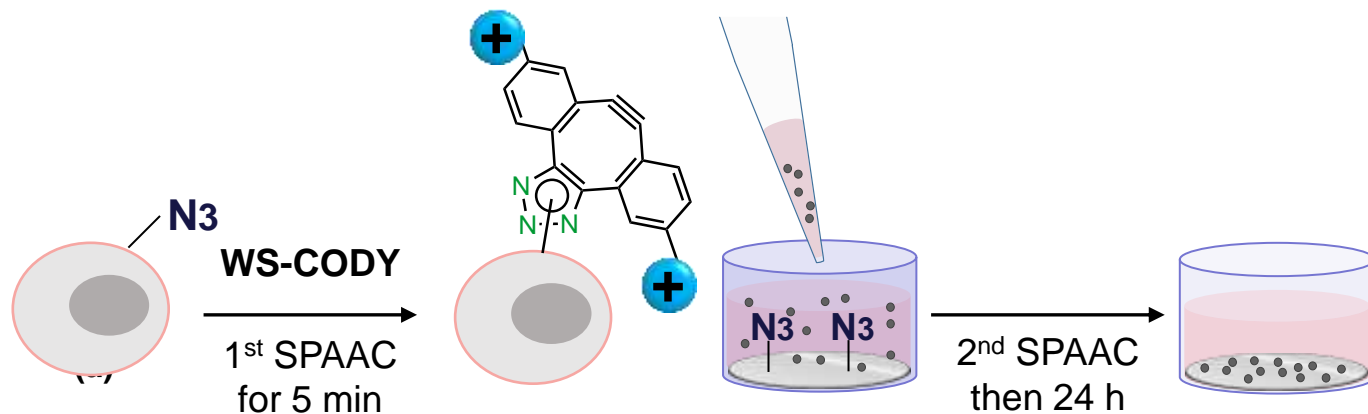
Hoechst, Azide, Transmission



細胞表面における高速クリック反応の概念検証

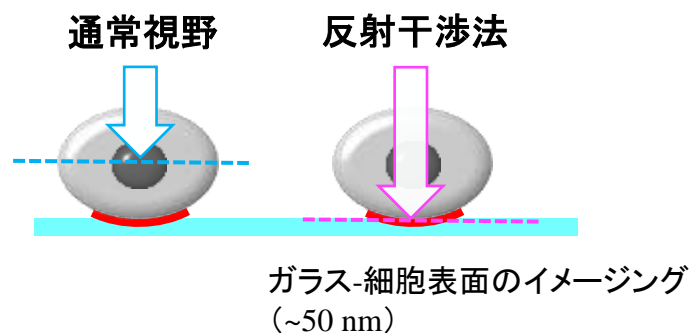
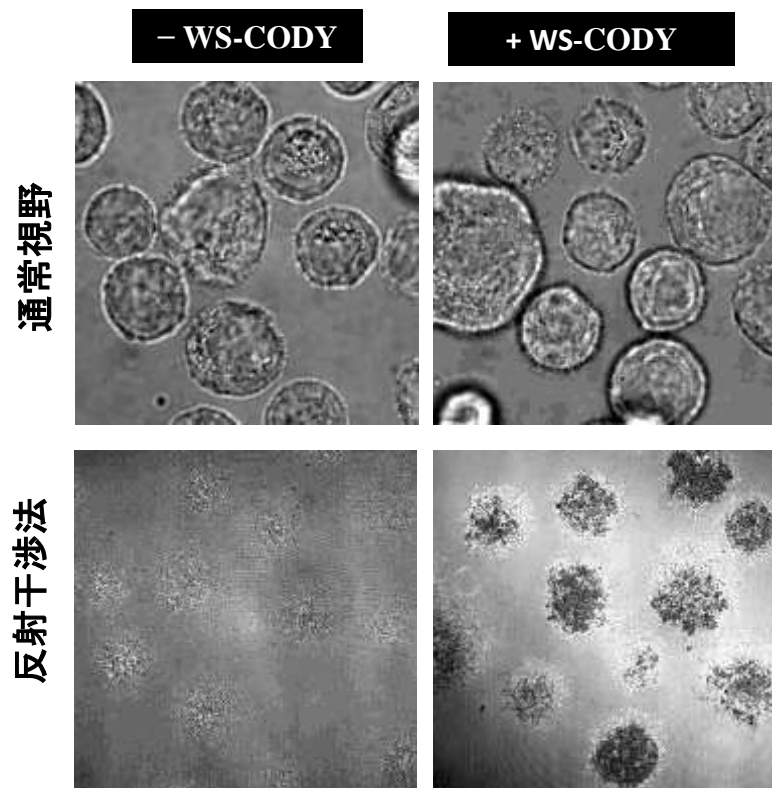
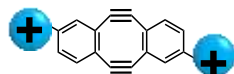


WS-CODYを用いた細胞-ガラス基材接着

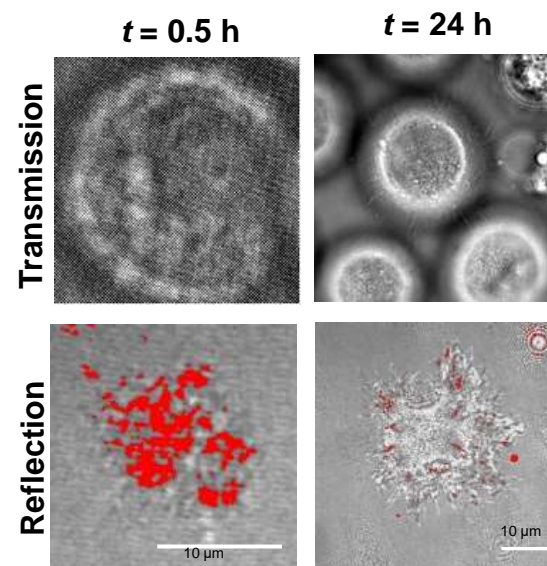
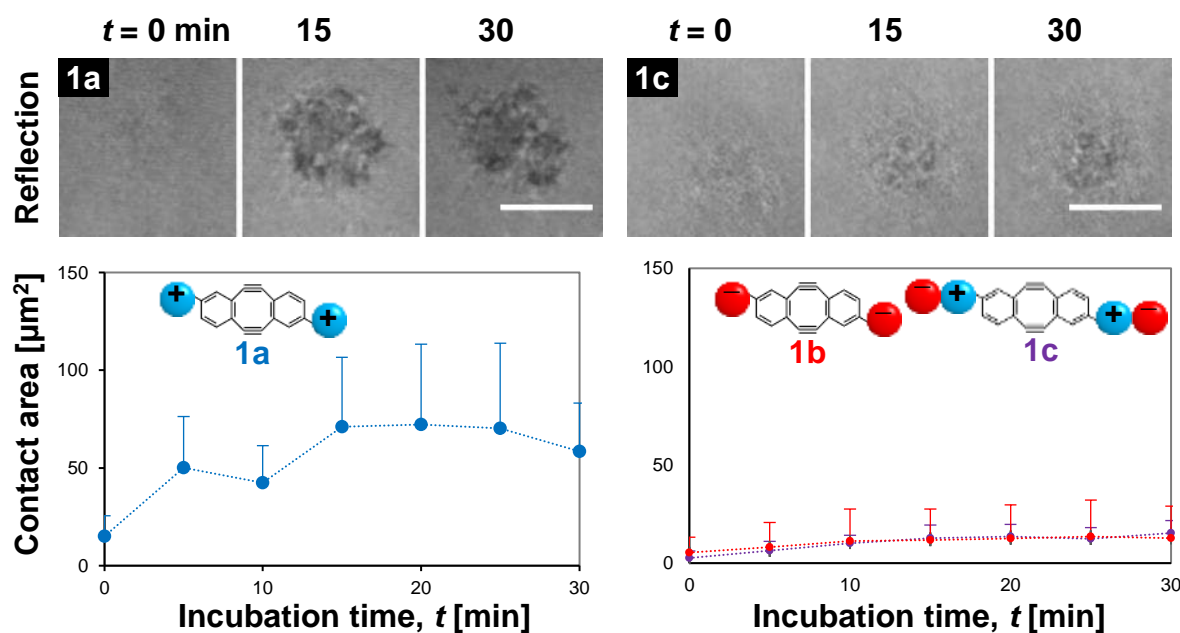


UVによる親水処理とシランカップリングによるガラス表面のN3修飾

反射干渉法による細胞接着斑の経時的イメージング

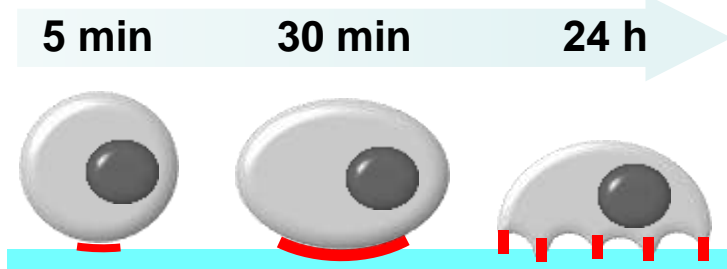


反射干渉法による細胞接着斑の経時的イメージング

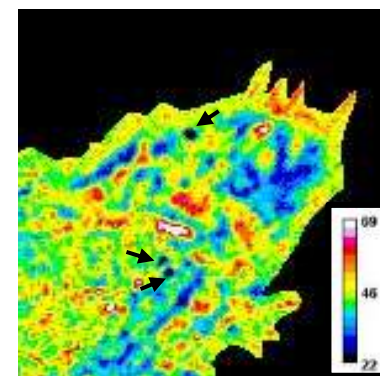


化学的接着

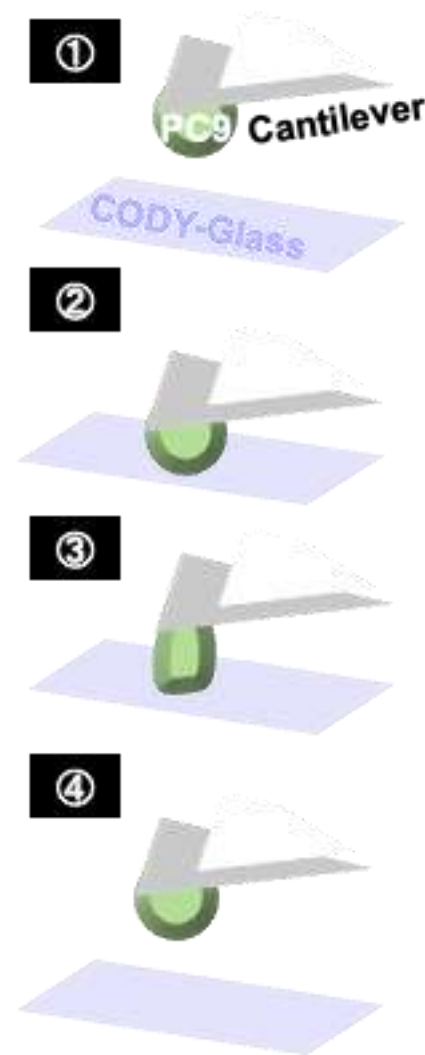
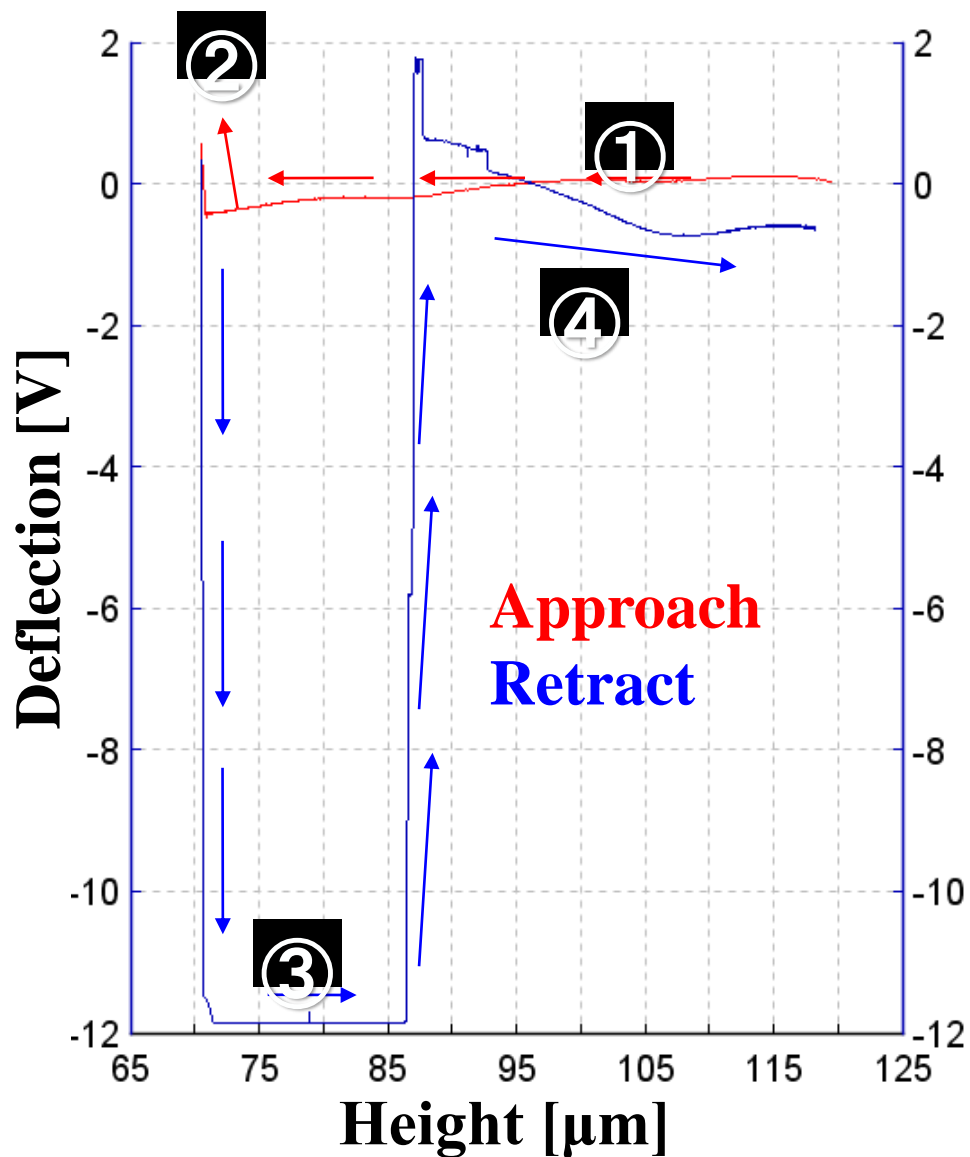
生物学的応答



Height images $t = 24$ h



細胞固定の応用例: AFMカンチレバーへの固定



想定される用途

- ガラス・金属など無機材料にも細胞を接着可能。
- 細胞-細胞接着により、細胞凝集体を生成できる。
- 細胞と材料との複合体の設計が容易になる。

実用化に向けた課題

- 現在、PC-9細胞、CHO細胞でのみ本技術を開発済み。細胞種・微生物での検証が未実施である。
- 金属表面への接着事例について未実施だが、固定化に必要な化合物は合成済み。
- マイクロ流路技術を持っていないため、ラボオンチップのプロトタイプが作成できていない。

企業への期待

- マイクロ流路への応用技術を持つ企業との共同研究を希望。
- スフェロイド作製の技術を持つ企業からの技術課題を知りたい。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称：複合体、複合体の製造方法及び化合物
- 出願番号：出願済み、PCT/JP2022/007624
- 出願人：国立大学法人東京農工大学
- 発明者：寺正行、北川浩平、吉永萌華、
松崎賢寿、大熊菜穂、吉川洋史

お問い合わせ先

東京農工大学
先端産学連携研究推進センター

Tel 042-388-7550

Fax 042-388-7553

e-mail suishin@ml.tuat.ac.jp



MORE
SENSE

Tokyo University of
Agriculture and Technology

