

研究種目：共同研究

研究期間：平成 29 年 10 月～平成 31 年 9 月

研究課題名：力学特性を時空間的に制御可能な高分子を基盤とした革新的メカノバイオマテリアルの創成

ラボ長

所属：物質創成専攻化学工学領域

氏名：中畑雅樹

## 研究成果

本研究は、主に材料科学的な視点からメカノバイオロジーにアプローチし、特異な力学的性質を有する材料を基盤として生体のモデルとしてのバイオインターフェイスを構築し、応用することを当初の目的としてスタートした。具体的には、細胞内のメカノセンサー分子に特異的にはたらきかける材料の開発とその表面での細胞動態の詳細な解明（図 1）を目指した。

平成 30 年度の研究目的は以下のものであった。

1. 応力緩和の時定数の正確な決定と材料設計へのフィードバック：高周波数（＝短い時間スケール）

領域まで正確に測定可能な光散乱型レオメーターを用いて、本年度で得られた材料の応力緩和現象のタイムスケールを正確に決定する。材料調製に関わる細かい条件をさらに検討し、幅広いタイムスケールで緩和を示す材料のバリエーションを増やす。

2. 応力緩和現象特異的メカノセンサーの発見：分子生物学、細胞生物学的手法、ライブイメージングなどを駆使して総合的に解析を行い、メカノセンサーの詳細な特性に対する理解を深めると共に、応力緩和現象特異的に発現するメカノセンサーの発見を目指す。

3. 二次元界面、三次元材料中でのメカノバイオロジーへの展開：応力緩和に勾配を持たせた二次元表面や異種材料の界面における細胞動態を観察することにより、材料表面だけでなく材料界面での細胞の振る舞いに関する知見を蓄積し、応用へ繋げる。

### (1) 力学特性の詳細な測定

本年度はまず、前年度までに作製したグラフトポリマーを有する高分子ゲルについて、プローブ粒子のブラウン運動から粘弾性を測定する光散乱型レオメーターを用いてその力学特性を測定することとした。ゼラチンを主鎖とし、側鎖にポリアクリルアミドを末端修

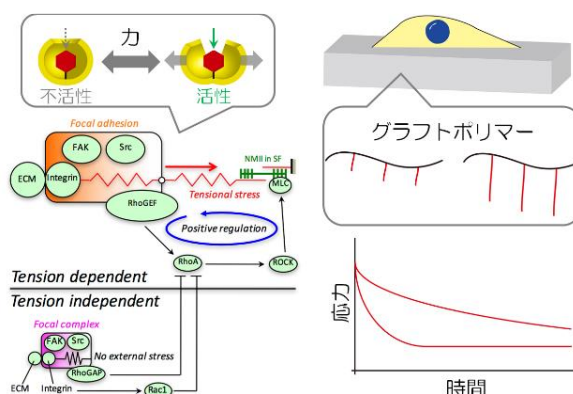


図 1. 力学的シグナル伝達の模式図と本研究の材料設計指針

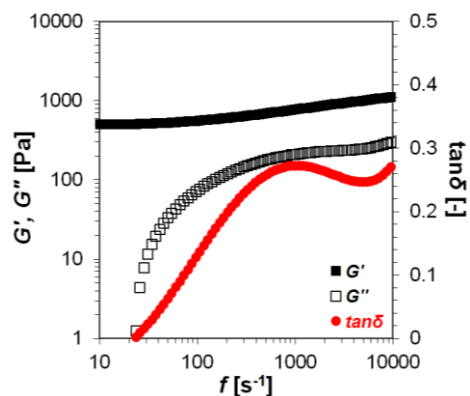


図 2. 光散乱型レオメーターによる測定結果の一例

## 平成 30 年度 未来研究ラボシステム 研究成果報告書

飾したヒドロゲル (Gela-e-pAAm gel) の測定結果の一例を図 2 に示す。周波数  $f = 10^3 \text{ s}^{-1}$  付近に緩やかな緩和が見られることが示された。これが材料上での細胞の動態に影響を及ぼす原因なのかどうかについて更なる検証が必要と考え、次項の検討に移った。

### (2) 高分子の分子構造に着目した新しい材料設計

本研究でデザインした材料上で繊維芽細胞の接着・伸展が見られたことを前年度に報告した。細胞の動態は周囲の環境により影響を受け、そこには様々な複雑な要因が含まれる。より具体的には、電荷や親水性・疎水性、高分子の形状や剛直性、それらに起因する細胞接着タンパク質の吸着といった化学・生物学的要因、弾性・粘性やそれらの時間発展 (応力緩和等)、表面のラフネスといった物理的要因などが挙げられる。本研究は特に粘弾性の時間発展に着目した材料設計を提案するものであったが、その効果を立証するためにはそれ以外の要因を排除することが必要である。そこで本年度はより広い視点から、高分子の分子構造にも着目し、図 3a に挙げた 6 種類の高分子ゲルを設計・合成し比較することとした。すなわち、高分子鎖の長さのみならず、修飾位置 (末端/ランダム)、主鎖と側鎖の間の化学結合の有無といった材料の分子構造の詳細な差異まで比較できるような設計とした。実際に、これら 6 種類のポリマーおよびゲルを調製し、化学組成、ヤング率、親水性・疎水性 (接触角測定)、ゼータ電位の測定を行ったところ、大きな差異は見られなかった (詳細なデータは割愛)。また細胞接着タンパク質である Fibronectin を蛍光標識したものを平滑なゲル表面に吸着させたところ、同等の蛍光強度を示した (図 3b) ことから、表面の性質において大きな差異は確認されなかった。このゲルの上にマウス C2C12 細胞を播種したところ、伸展において差がみられた (図 3c)。詳細については解析中であるが、本研究独自の材料設計が細胞の動態制御に繋がる可能性が示された。

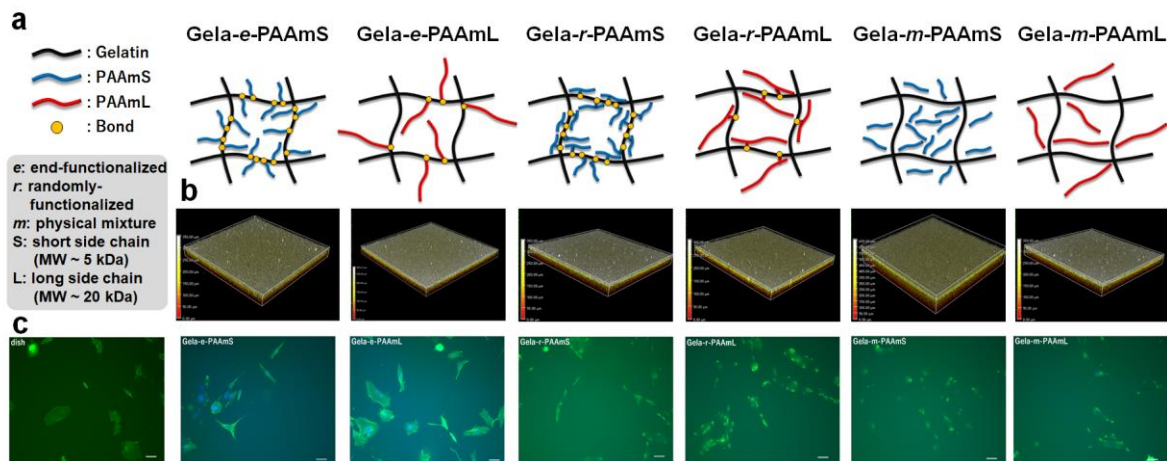


図 3. (a) 新たにデザインした高分子ゲル 6 種類、(b) 細胞接着タンパク質の吸着を示したゲル表面の共焦点蛍光顕微鏡画像、(c) ゲル上での C2C12 細胞の形態 (アクチンを緑、核を青で染色)

### (3) ゲル粘弾性と焦点接着斑の関係を探るための変異体発現細胞の作製

基質硬さ応答に関与する分子として報告されている、細胞接着構造を構成するタリンに着目した。タリンは複数のビンキュリン結合部位・アクチン結合部位を有しており、静的な力の大きさに依存して他分子との結合活性が変化するタンパク質として知られているが、応力緩和特性を有

# 平成 30 年度 未来研究ラボシステム 研究成果報告書

する基板での機能は未だ不明である。そこでタリン内のビンキュリン結合部位や結合数と、接着構造の形成や細胞移動能との関連を明らかにすべく、ビンキュリン結合部位を欠損させたタリン変異体を作製した。今後、変異体発現細胞を応力緩和ゲル上に播種し、機能解析を行っていく。

全体としてみると、研究全体計画から考えるとやや遅れている状況ではあるが、来年度は、本年度で準備が整った材料と細胞を用いて、細胞運動の様子をより動的に観察すると共に、本年度の未達成課題となった3について取り組み、遅れを取り戻す。具体的には、

- ・組成にグラデーションを持たせた材料表面
- ・組成の異なる材料界面

での細胞の振る舞いを定量的に明らかにする。その上で、細胞の動的制御に適した環境を提供するための人工材料の材料設計指針へとフィードバックしていく。

キーワード：メカノバイオロジー、バイオマテリアル、高分子ゲル、細胞動態制御

## 研究経費（H30 年度）の内訳

備品費	消耗品費	旅費	謝金	その他	合計
127,440 円	620,560 円	0 円	0 円	0 円	748,000 円

## 共同研究者等

(1)共同研究者（氏名・所属）

松井翼（機能創成専攻生体工学領域）

(2)研究協力者（氏名・所属・学年（学生の場合））

山際祐輝（物質創成専攻化学工学領域・M1）

## 発表論文等（平成 31 年 3 月 31 日現在）

研究代表者および主な共同研究者の研究業績のうち、本研究課題に関連するもののみを、現在から順に発表年次を過去に遡って記入してください。

〔雑誌論文〕 なし

〔著書〕 なし

〔学会発表〕 なし

〔その他〕

外部資金獲得状況・申請状況（本研究課題に関連して、科研費、JST 等の競争的資金、受託研究、奨学寄付金を受給された場合、また、申請された場合はその状況を記入ください）

研究代表者：中畑雅樹

# 平成 30 年度 未来研究ラボシステム 研究成果報告書

獲得済

平成 30-31 年度 若手研究「迅速な三次元組織体の構築を実現するための形状記憶造形法の開発」

共同研究者：松井翼

申請中

平成 31 年度 挑戦的研究（萌芽）「上皮細胞シート内アクチン束の単離方法の開発」

参考となるHP等

なし