

# 近赤外レーザーを活用した細胞3D組織化：ミニ臓器構築に向けての新手法

## ~ Novel method for constructing a stable 3D cellular assembly by near-infrared laser ~

### 1. Introduction

#### 1.1 Topics

ミニ臓器の創成へ向けて、**光ピンセット**と**高分子枯渴効果**を利用して細胞を3次元に配置させ、安定な細胞組織体を構築することのできる新手法を報告。[1, 2]

#### 1.2 Motivation

- iPS細胞やES細胞などの万能細胞を、実際に、**再生医療**などの分野で活用させたい
- そのためには、分化した細胞を3次元的に配列させて、機能的な細胞組織体を人工的に構築するための技術が不可欠
- 従来の細胞組織体構築のための足場は、ゲルなどの人工物

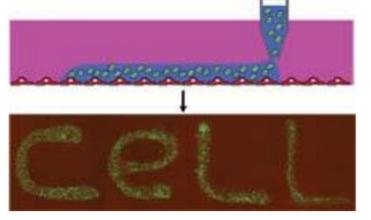


Fig.1 Method of cell adhesion using artificial scaffold.[3]

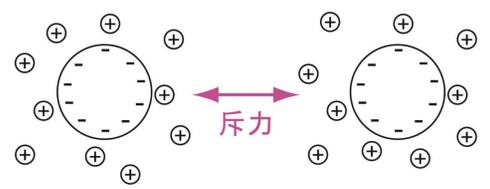
- 人工の足場を用いずに、生体にやさしい環境で、3次元細胞組織体を作成したい

#### 1.3 Remarkable Point of Our Research

- 光ピンセットによる「引力相互作用」と天然の親水性高分子(デキストラン)の「枯渴効果」により、**人工的な足場を使用せずに、安定な3次元細胞組織体を数分以内に作成**することに成功

### 2. Our Innovation

細胞間には斥力が働く



- 表面電荷由来の斥力
- 膜の波打ち由来の斥力
- 水和斥力
- Glycocalyx repulsion

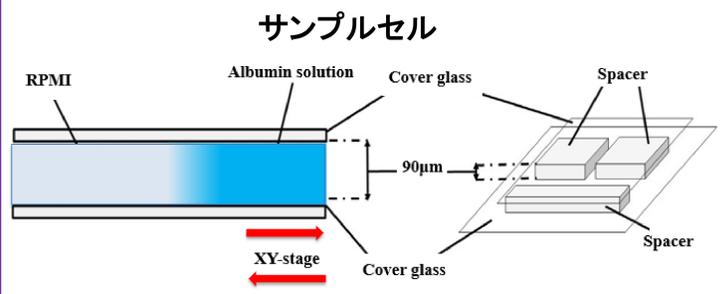
- 「集光レーザー場」と「高分子枯渴相互作用」がもたらす**引力相互作用**に着目

### 3. Materials and Methods

#### 3.1 Materials

- 細胞： マウスの乳腺上皮細胞(NMuMG cells)、Jurkat Cell (提供元: RIKEN BRC)
- 培地： D-MEM(細胞用液体培地、含ハイグルコース、10% FBS, 1% ペニシリン-ストレプトマイシン) (和光純薬より購入)
- 高分子： PEG (分子量  $5 \times 10^4$  g/mol)、デキストラン、アルブミン (和光純薬より購入)

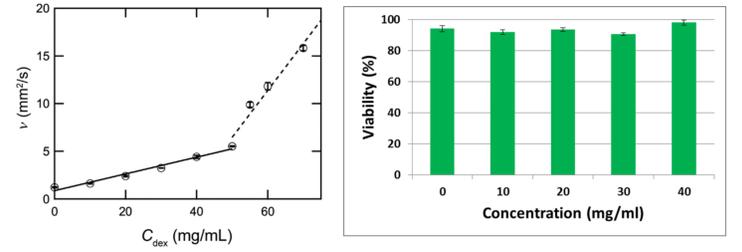
#### 3.2 Methods



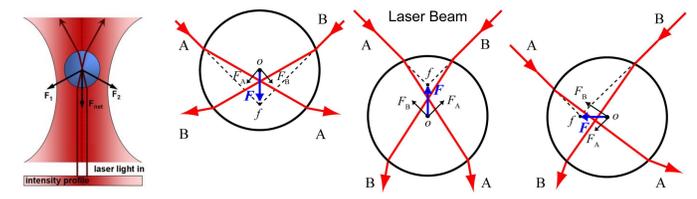
#### サンプルの組成 (一例)

- Albumin solution 200µL (Molecular weight 66,000)
- Jurkat Cell in RPMI 1µl (Human leukaemic T cell)
- NMuMG Cell in D-MEM (Epithelial cells from mouse)

#### 高分子添加の影響: 粘度(左)と生存率(右)の変化

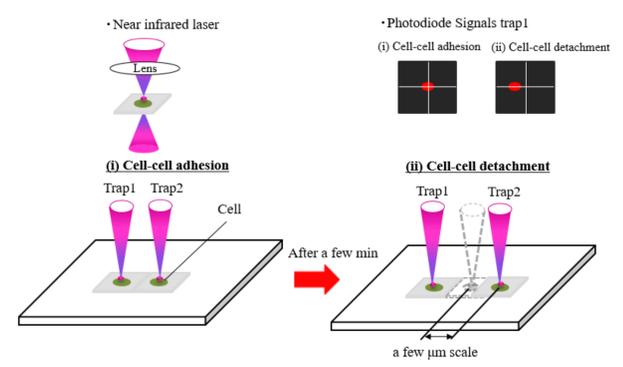


#### 光ピンセット: NanoTracker2 (JPK Instruments)



- 光子の屈折に伴う作用反作用 → **トラップ力**
- レーザーの波長: 1064nm (細胞にダメージを与えない)
- レーザーの強度: 最大1500mW

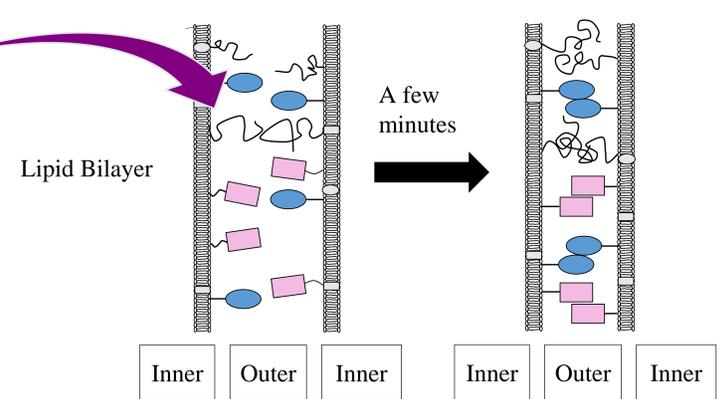
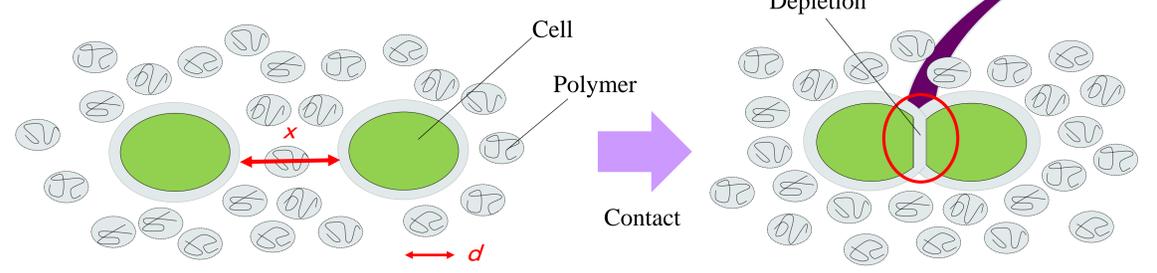
#### フォトダイオードを用いた細胞間相互作用の測定



### 4. Depletion Effect of Polymer Solution (Attractive Interaction)

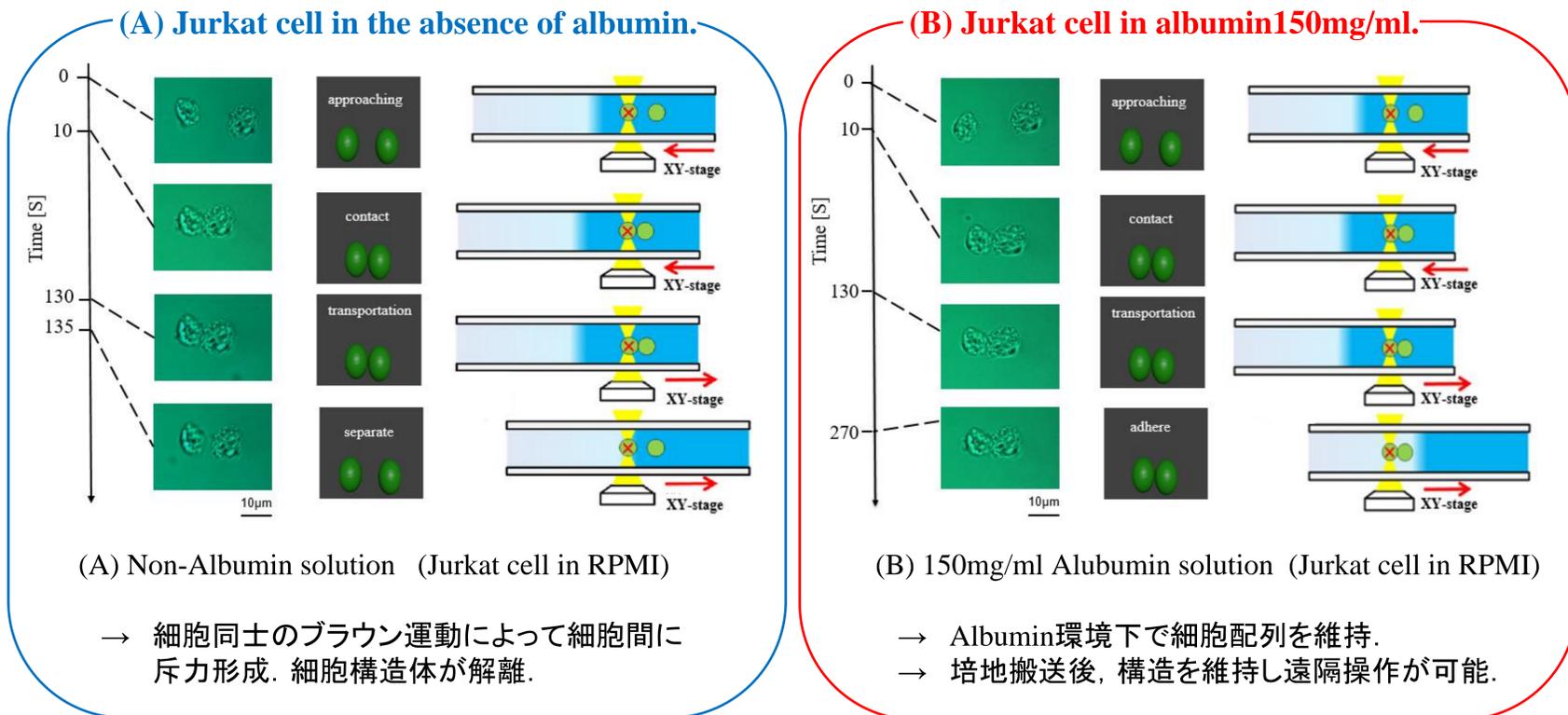
$$P_{dep} \approx -\frac{\partial \epsilon_x}{\partial x} = -\pi p \quad \text{when } x \leq 2d$$

$$P_{dep} \approx 0 \quad \text{when } x > 2d$$

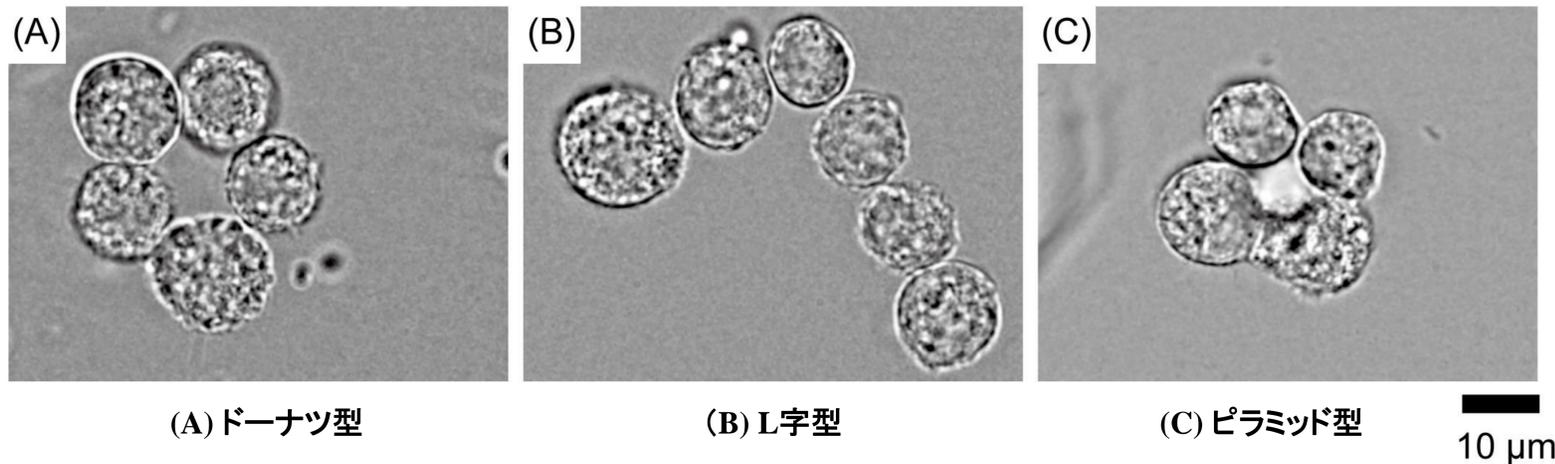


## 5. Results and Discussion

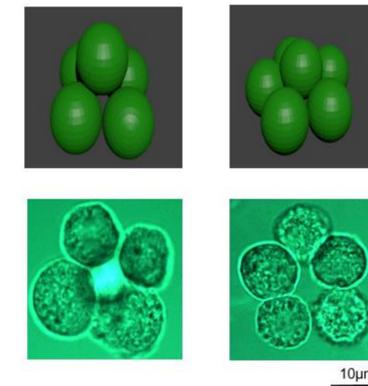
### 5.1 Cell-cell contact experiment. Construction of 3-D stable cellular assembly[1]



### 5.2 Assemblies of NMuMG of various shapes in a medium with dextran (40 mg/mL)

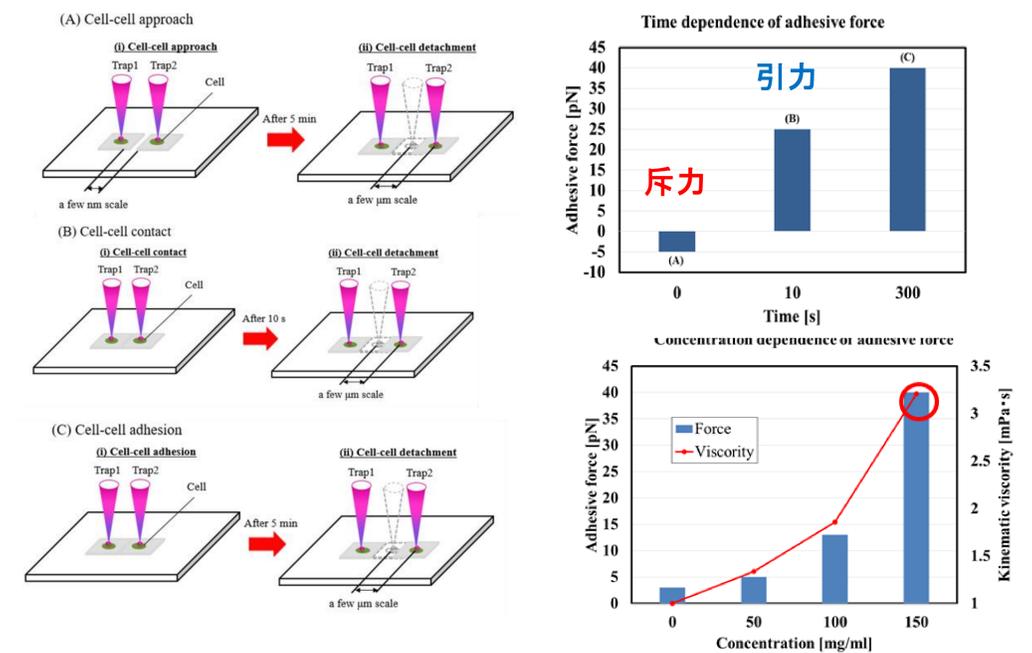


### 5.3 Construction of 3-D stable cellular assembly[1]



- ▶ 人工的な足場を用いることなく、3次元細胞組織体を構築することに成功
- ▶ 細胞数が10個のときまでは、溶液中で安定し、バラバラにはならない
- ▶ 細胞数が10個以上のときは、重力の影響を考慮する必要がある

### 5.4 Viscosity and Adhesion force measurement



- ▶ Albumin 150mg/ml, 300sでは40pNの接着力を形成.
- ▶ 40 pNはインテグリンやセレクチン系の接着力に相当.

## 6. Conclusion

- ▶ 細胞集団の安定な3D組織化は、生体由来のタンパク質Albuminなど可溶性高分子を含む培地環境下で近赤外線レーザーによる任意細胞の遠隔操作によって実現する.
- ▶ レーザ光の透過率および混雑効果における高分子の濃度特性を利用することで短時間かつ非侵襲的に培養細胞を3D組織化する人口足場に代わる新規的手法を明らかにした.

## References

- [1] A. Yoshida, S. Tsuji, H. Taniguchi, T. Kenmotsu, K. Sadakane, K. Yoshikawa, *Polymers*, **9**, 319 (2017).
- [2] S. Hashimoto, A. Yoshida, T. Ohta, H. Taniguchi, K. Sadakane, K. Yoshikawa, *Chem. Phys. Lett.*, **655**, 11-16 (2016).
- [3] H. Tavana, et al., *Adv Mater*, **22**, 2628-2631 (2010).