Title	ハイドロゲルカプセル化技術の開発
Sub Title	Development of hydrogel-based encapsulation method
Author	山下, 忠紘(Yamashita, Tadahiro)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2023
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2022.)
JaLC DOI	
Abstract	本研究は、従来組織工学分野で細胞の包埋材料として用いられてきた天然高分子・アルギン酸を改変し、細胞接着性の官能基を持つcRGD-アルギン酸を用いて細胞をカプセル化する技術の開発を目的とし、以下の研究に取り組んだ。まず、ハイドロゲルの作成に足る十分な量のcRGD-アルギン酸を得るため、導入反応のスケールアップに取り組んだ。ところが、試薬量を10倍に増やすと反応中のアルギン酸が急激にゲル化して反応が停止してしまうことが明らかになり、中間生成物であるBCN-アルギン酸の反応条件の最適化に取り組んだ。BCN-アルギン酸が得られた後、cRGD基を導入し、細胞接着性のcRGD-アルギン酸を十分量得ることができた。次に、合成したcRGD-アルギン酸を用いて、均一な粒径のハイドロゲルビーズの作成に取り組んだ。ハイドロゲルビーズを簡便かつ大量に生成する方法を検討し、本研究は最終的に遠心液滴生成法を採用した。まず、遠沈管の蓋を貫通して固定されたキャピラリー内に、cRGD-アルギン酸を導入する。遠沈管内には塩化カルシウム水溶液を入れる。この状態で遠沈管を遠心分離機で回転させることにより、cRGD-アルギン酸を塩化カルシウム水溶液内に滴下することで固化し、均一な粒径のハイドロゲルビーズを得る。回転速度とキャピラリー位置を適切に設定することで、直径400-1300μmの範囲で、充分に真球と呼ぶことができる球形状のビーズを成形することができた。このビーズの上で血管平滑筋細胞を播種したところ、3日に渡って培養することができ、ビーズ自体が細胞毒性を示さないことを確認した。本研究は、細胞培養のための新しいアルギン酸素材の合成および成形に成功した。今後、本手法と細胞懸濁液の操作と組み合わせることで、様々な様式で細胞をハイドロゲル素材内に生きたまま閉じ込めるための技術的な基盤となることが期待される。 This study developed a chemically modified natural polymer by introducing cRGD group into alginate, in pursuit of the establishment of the technical basis to encapsulate living cells. We first attempted to scale up the chemical reaction introducing cRGD into alginate. Despite the success of the preliminary experiment with a smaller amount, we found that this process is highly sensitive to the total amount of the reaction solution and often ended up in unexpected gelation. The increase in the reaction scale required further care for the tool for the reaction and mixing. After optimizing the reaction process, we obtained enough amount of cRGD−alginate. We then developed a method to create alginate hydrogel beads with controlled diameters, adopting a centrifuge-based dripping method. cRGD−alginate solution is introduced into a capillary penetrating the lid of a centrifuge tube containing calcium chloride solution. The solution was dripped into the calcium chloride solution by centrifuging the tube and then immediately solidified. By changing the centrifuge speed, we succeeded in fabricating alginate hydrogel beads with diameters spanning from 400 to 1300 μm; the beads had a symmetrical shape enough to be called true spheres. Vascular smooth muscle cells were cultured on the beads for three days, confirming the biocompatibility of the synthesized material. This material as well as the fabrication technique provides a feasible method to obtain biocompatible hydrogels with defined shapes, and serves as a basis to encapsulate cells in hydrogels.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2022000010-20220150

2023年6月27日

2022年度　学事振興資金（個人研究）研究成果実績報告書

研究代表者	所属	理工学部	職名	専任講師	補助額	500 （特B）千円
	氏名	山下 忠紘	氏名（英語）	Tadahiro Yamashita		

研究課題（日本語）

ハイドロゲルカプセル化技術の開発

研究課題（英訳）

Development of hydrogel-based encapsulation method

１．研究成果実績の概要

本研究は、従来組織工学分野で細胞の包埋材料として用いられてきた天然高分子・アルギン酸を改変し、細胞接着性の官能基を持つ cRGD−アルギン酸を用いて細胞をカプセル化する技術の開発を目的とし、以下の研究に取り組んだ。まず、ハイドロゲルの作成に足る十分な量の cRGD−アルギン酸を得るため、導入反応のスケールアップに取り組んだ。ところが、試薬量を 10 倍に増やすと反応中のアルギン酸が急激にゲル化して反応が停止してしまうことが明らかになり、中間生成物である BCN−アルギン酸の反応条件の最適化に取り組んだ。BCN−アルギン酸が得られた後、cRGD 基を導入し、細胞接着性の cRGD−アルギン酸を十分量得ることができた。次に、合成した cRGD−アルギン酸を用いて、均一な粒径のハイドロゲルビーズの作成に取り組んだ。ハイドロゲルビーズを簡便かつ大量に生成する方法を検討し、本研究は最終的に遠心液滴生成法を採用した。まず、遠沈管の蓋を貫通して固定されたキャピラリー内に、cRGD−アルギン酸を導入する。遠沈管内には塩化カルシウム水溶液を入れる。この状態で遠沈管を遠心分離機で回転させることにより、cRGD−アルギン酸を塩化カルシウム水溶液内に滴下することで固化し、均一な粒径のハイドロゲルビーズを得る。回転速度とキャピラリー位置を適切に設定することで、直径 400−1300μm の範囲で、充分に真球と呼ぶことができる球形状のビーズを成形することができた。このビーズの上で血管平滑筋細胞を播種したところ、3 日に渡って培養することができ、ビーズ自体が細胞毒性を示さないことを確認した。本研究は、細胞培養のための新しいアルギン酸素材の合成および成形に成功した。今後、本手法と細胞懸濁液の操作と組み合わせることで、様々な様式で細胞をハイドロゲル素材内に生きたまま閉じ込めるための技術的な基盤となることが期待される。

２．研究成果実績の概要（英訳）

This study developed a chemically modified natural polymer by introducing cRGD group into alginate, in pursuit of the establishment of the technical basis to encapsulate living cells. We first attempted to scale up the chemical reaction introducing cRGD into alginate. Despite the success of the preliminary experiment with a smaller amount, we found that this process is highly sensitive to the total amount of the reaction solution and often ended up in unexpected gelation. The increase in the reaction scale required further care for the tool for the reaction and mixing. After optimizing the reaction process, we obtained enough amount of cRGD—alginate. We then developed a method to create alginate hydrogel beads with controlled diameters, adopting a centrifuge-based dripping method. cRGD—alginate solution is introduced into a capillary penetrating the lid of a centrifuge tube containing calcium chloride solution. The solution was dripped into the calcium chloride solution by centrifuging the tube and then immediately solidified. By changing the centrifuge speed, we succeeded in fabricating alginate hydrogel beads with diameters spanning from 400 to 1300 μm; the beads had a symmetrical shape enough to be called true spheres. Vascular smooth muscle cells were cultured on the beads for three days, confirming the biocompatibility of the synthesized material. This material as well as the fabrication technique provides a feasible method to obtain biocompatible hydrogels with defined shapes, and serves as a basis to encapsulate cells in hydrogels.

３．本研究課題に関する発表

発表者氏名（著者・講演者）	発表課題名（著書名・演題）	発表学術誌名（著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月（著書発行年月・講演年月）