慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	金属製細胞培養器を利用した配向性を有する細胞シート生成プロセスの開発
Sub Title	Development of oriented cell sheet production process using metallic dish
Author	小茂鳥, 潤(Komotori, Jun)
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	高齢化が急速に進行している我が国では，難治性疾患のために再生医療に関する研究が盛んに行われている．再生医療では，細胞シートの移植が行われる．この細胞シートの回収には温度によって細胞の接着性が変化する温度応答性培養基材が広く用いられている．現在市販されている温度応答性培養皿（UpCell®□）は，ポリスチレン製の使い捨ての培養皿に電子線照射によって温度応答性ポリマーを化学固定して作製されている．したがって細胞シートの需要の増加に伴う大量生産を考えた際に，生産コストの高さや廃プラスチックなどの環境問題といった課題が生じると考えられる．大量に生産することを念頭においた細胞シートの生成法としては低環境負荷かつ安価であることが必要である．本研究では，Ti-6Al-4V合金表面に温度応答性ポリマーであるPIPAAmを化学的に固定し，その表面上で細胞シートの生成・回収を試みた．オートクレーブ滅菌がPIPAAm固定表面に及ぼす影響を検討し，金属を用いた繰り返し使用可能な温度応答性培養表面を提案した． 本年度の研究により得られた成果は以下の通りである． (1)Ti-6Al-4V表面に化学的に固定されたPIPAAmの膜厚は，ポリスチレン基材表面やガラス基材表面での先行研究と同様に，電子線重合の際に用いるIPAAmモノマー溶液濃度によって制御可能である． (2)Ti-6Al-4V合金表面に化学的に固定されたPIPAAmの固定量について，オートクレーブ滅菌（121℃，2気圧，20 min）後の急激な変化は確認されなかった．高温の蒸気を使用するオートクレーブ滅菌を行っても，表面にPIPAAmのポリマー層が存在することにより，シランカップリング剤と基材表面の化学結合が保持されるためである考えられる．このことは，本研究で開発した温度応答性ポリマーを修飾した金属製培養表面が繰り返し使用することが可能なことを示唆している． (3) PIPAAmを表面に化学的に固定したTi-6Al-4V合金表面でコンフルーエントまで細胞を培養し，温度変化させることで細胞シートの剥離が可能である． In this study, we chemically immobilized PIPAAm, a temperature-responsive polymer, on the Ti-6Al-4V alloy surface, and tried to generate and collect cell sheets on the surface. We investigated the effects of autoclave sterilization on PIPAAm-immobilized surfaces and proposed a reusable temperature-responsive culture surface using metal. The results obtained from this year's research are as follows. (1) The film thickness of PIPAAm chemically fixed on the Ti-6Al-4V surface can be controlled by adjusting the concentration of the IPAAm monomer solution used during electron beam polymerization. (2) The amount of PIPAAm chemically immobilized on the Ti-6Al-4V alloy surface did not change rapidly after autoclave sterilization (121°C, 2 atm, 20 min). This suggests that the metallic dish surface modified with the temperature-responsive polymer developed in this study can be used repeatedly. (3) Cells are cultured to confluence on the Ti-6Al-4V alloy surface chemically fixed with PIPAAm, and the cell sheet can be detached by changing the temperature.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2022000010-20220015

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2022年度　学事振興資金（個人研究）研究成果実績報告書

2023年3月28日

研究代表者	所属	理工学部	職名	教授	補助額	500 （特B）千円
	氏名	小茂鳥 潤	氏名（英語）	KOMOTORI Jun		

研究課題（日本語）

金属製細胞培養器を利用した配向性を有する細胞シート生成プロセスの開発

研究課題（英訳）

Development of oriented cell sheet production process using metallic dish

１．研究成果実績の概要

高齢化が急速に進行している我が国では，難治性疾患のために再生医療に関する研究が盛んに行われている．再生医療では，細胞シートの移植が行われる．この細胞シートの回収には温度によって細胞の接着性が変化する温度応答性培養基材が広く用いられている．現在市販されている温度応答性培養皿（UpCell®）は，ポリスチレン製の使い捨ての培養皿に電子線照射によって温度応答性ポリマーを化学固定して作製されている．したがって細胞シートの需要の増加に伴う大量生産を考えた際に，生産コストの高さや廃プラスチックなどの環境問題といった課題が生じると考えられる．大量に生産することを念頭においた細胞シートの生成法としては低環境負荷かつ安価であることが必要である．本研究では，Ti-6Al-4V 合金表面に温度応答性ポリマーである PIPAAm を化学的に固定し，その表面上で細胞シートの生成・回収を試みた．オートクレーブ滅菌が PIPAAm 固定表面に及ぼす影響を検討し，金属を用いた繰り返し使用可能な温度応答性培養表面を提案した．

本年度の研究により得られた成果は以下の通りである．

(1)Ti-6Al-4V 表面に化学的に固定された PIPAAm の膜厚は，ポリスチレン基材表面やガラス基材表面での先行研究と同様に，電子線重合の際に用いる IPAAm モノマー溶液濃度によって制御可能である．

(2)Ti-6Al-4V 合金表面に化学的に固定された PIPAAm の固定量について，オートクレーブ滅菌（121℃，2 気圧，20 min）後の急激な変化は確認されなかった．高温の蒸気を使用するオートクレーブ滅菌を行っても，表面に PIPAAm のポリマー層が存在することにより，シランカップリング剤と基材表面の化学結合が保持されるためである考えられる．このことは，本研究で開発した温度応答性ポリマーを修飾した金属製培養表面が繰り返し使用することが可能なことを示唆している．

(3) PIPAAm を表面に化学的に固定した Ti-6Al-4V 合金表面でコンフルーエントまで細胞を培養し，温度変化させることで細胞シートの剥離が可能である．

２．研究成果実績の概要（英訳）

In this study, we chemically immobilized PIPAAm, a temperature-responsive polymer, on the Ti-6Al-4V alloy surface, and tried to generate and collect cell sheets on the surface. We investigated the effects of autoclave sterilization on PIPAAm-immobilized surfaces and proposed a reusable temperature-responsive culture surface using metal.

The results obtained from this year's research are as follows.

(1) The film thickness of PIPAAm chemically fixed on the Ti-6Al-4V surface can be controlled by adjusting the concentration of the IPAAm monomer solution used during electron beam polymerization.

(2) The amount of PIPAAm chemically immobilized on the Ti-6Al-4V alloy surface did not change rapidly after autoclave sterilization (121° C, 2 atm, 20 min). This suggests that the metallic dish surface modified with the temperature-responsive polymer developed in this study can be used repeatedly.

(3) Cells are cultured to confluence on the Ti-6Al-4V alloy surface chemically fixed with PIPAAm, and the cell sheet can be detached by changing the temperature.

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）
○松嵜淳也，秋山義勝，今城哉裕，清水達也，羽山元晶，小茂鳥潤	金属基材への温度応答性ポリマーの固定化	第 22 回日本再生医療学会総会	2023 年 3 月