

436

ヒト角化細胞の培養特性に及ぼす剥離操作の影響 (阪大院・基礎工)○梅垣良太, 紀ノ岡正博, 田谷正仁

【目的】足場依存性細胞の継代培養において、培養面からの細胞剥離は、その後の活発な増殖を維持する上で重要である。そこで本研究では、剥離処理におけるトリプシン処理時間(トリプシン溶液で細胞を浸漬させる時間)に対する細胞面積、剥離細胞数の経時的変化、およびその後の増殖特性について検討した。

【方法及び結果】培養中の種々のヒト角化細胞をPBSにて洗浄後、トリプシン処理を施した。37°Cにて所定の時間(3-15 min)静置後、トリプシンインヒビターにて剥離処理を停止させ、浮遊細胞のみを回収し、細胞数を計測した。新生児由来の角化細胞では、3および15 minの処理後の回収細胞では増殖能力が低いことが示された。これは、処理時間が3 minでは分化より、接着能力や増殖能力の低い細胞群が優先的に浮遊し、15 minでは過度のトリプシン処理による障害で活性の低下が引き起こされたためであると考えられた。一方、遺伝子導入によりテロメラーゼ活性が高く維持された角化細胞(hTERT-HME1, CLONTEC Inc.)を用いた剥離は、処理時間によらず増殖能力に大きな差異は見られなかった。また、剥離操作中の細胞面積の変化は、剥離された細胞量を良好に表現することができ、細胞面積と剥離率との相関は有用であることが示唆された。

Effect of cell detachment process on growth potential in human keratinocyte culture

○Ryota Umegaki, Masahiro Kino-oka and Masahito Taya
(Dept. Chem.Sci.Eng., Osaka Univ.)

【Key words】 tissue engineering, mammalian cell culture, human keratinocytes, trypsinization, cell detachment and growth potential

437

培養軟骨組織内における3次元増殖評価システム

(阪大院・基礎工)○屋敷思乃, 虫明裕子, 紀ノ岡正博, 田谷正仁

【目的】スキャホールド内にて軟骨細胞の培養を行うにあたり、3次元的に細胞増殖を把握することが不可欠となる。移植利用を前提とした培養組織の場合、非破壊、非襲撃が必要となるため、従来の染色による観察や包埋ゲルの溶解による細胞数の測定は不適切である。本研究では、組織観察の限界を補完するツールとして、ゲル内の細胞増殖の経過を予測するためのモデル構築を目的とする。

【方法及び結果】コラーゲンゲル内での細胞分裂挙動を表記するために、3次元細胞配置型モデルでは、コラーゲン線維の想定によりゲルを分割し、細胞あるいは培地がグリッドを満たすと仮定した。細胞に対してグリッドへの分裂確率を与えることにより、細胞播種後の対数増殖期および接触阻害による定常期における細胞増殖を表現した。また、3次元培養においてはゲル内の酸素濃度が細胞増殖の律速因子となることが予想されるため、ゲル内の酸素濃度分布を把握することが重要となる。そこで、細胞による酸素吸収および酸素拡散による酸素濃度分布、さらに、酸素濃度と倍加時間との相関を考慮した増殖モデルへと発展させることで、組織再構築過程の評価因子である細胞数および細胞分布の経時変化を予測することができた。さらに、本モデルにおいて細胞播種濃度および培養酸素濃度を変化させることで、細胞増殖および細胞分布に及ぼす影響を比較・検討した。

Evaluation of three-dimensional cell growth in cultured tissue of cartilage

○Shino Yashiki, Yuko Mushiaki, Masahiro Kino-oka, Masahito Taya
Dept. Chem. Sci. Eng., Osaka Univ.

【Key words】 tissue engineering, mammalian cell culture, three-dimensional culture, cartilage, chondrocytes, growth model