

## 細胞封入クリックゲルの作製と非連続的界面における細胞挙動の観察

(東農工大院工<sup>1)</sup>) ○福江玲菜・島田和弥・角谷綾夏・吉野大輔・寺正行  
 Cell-Laden Click Gel Construction and Cell Dynamics at Discontinuous Interfaces (*Graduate School of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology*) ○Reina Fukue, Kazuya Shimada, Ayaka Kadotani, Daisuke Yoshino, Masayuki Tera

We developed a cell-laden click gel based on azide-modified hyaluronic acid (HA-N<sub>3</sub>) and a water-soluble cyclooctadiyne (WS-CODY), which rapidly formed a 3D cell-compatible hydrogel under physiological conditions. Using this system, covalently bonded interfaces were constructed by directly adhering two compositionally distinct click gels. In this model, a C2C12 mouse myoblast-laden gel was connected to an RGD-functionalized gel, enabling cell migration across the interface. After 7 days, interfacial cell migration accompanied by myogenic differentiation was observed.

**Keywords :** click chemistry ; strain promoted azide-alkyne cycloaddition ; hyaluronic acids ; 3D culture

【目的】ハイドロゲルは細胞の三次元培養足場として広く用いられており、生理条件下で迅速にゲル化し低毒性である材料は、生体適合的な培養系構築に重要である。生体組織には異なる細胞や細胞外マトリックスが隣接する非連続的界面が存在し、これを模倣できる材料系は人工組織構築や細胞挙動解析に有用である。一方、当研究室では歪み促進型アジド-アルキン付加環化反応 (SPAAC) により水溶液中でアジド 2 分子を連結できる水溶性歪みジイン (WS-CODY) を開発している。そこで本研究では、アジド修飾ヒアルロン酸を WS-CODY により架橋して細胞封入クリックゲル (Figure 1a) を作製した。さらに、当該ゲルへの RGD ペプチドの化学修飾による接着性の制御、ゲル-ゲル間の共有結合による接着、および注入 (inject) による三次元的界面形成を組み合わせた。これにより、化学的に定義された非連続界面モデルを構築し、その界面における細胞挙動を観察した。

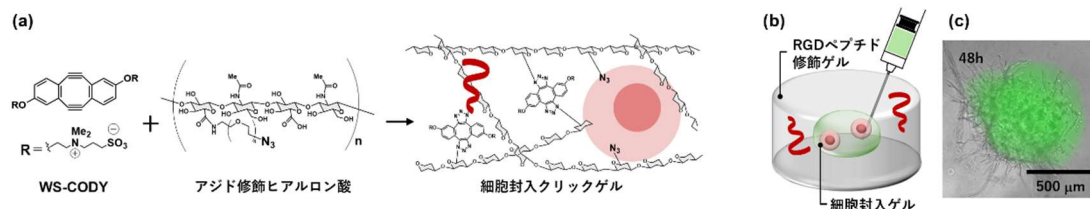


Figure 1 (a) 細胞封入クリックゲルの構造. (b) ゲル内部へゲルをインジェクトする模式図. (c) 細胞が初期位置 (緑色蛍光) を超えて外部のゲルへ侵入した.

【結果】アジド修飾 RGD ペプチドを共有結合により導入したクリックゲルにマウス筋芽 C2C12 細胞 を封入したところ、細胞はゲル内で接着・伸展し、筋分化に伴う形態変化を示した。次に、細胞封入ゲルと RGD ペプチド修飾ゲル接着した結果、化学組成の異なるゲル同士が共有結合によりゲル-ゲル接着し、1 週間の培養後も接着を維持した状態で界面における細胞挙動を観察できることを確認した。さらに、RGD ペプチド修飾ゲルをあらかじめ作製し、内部に細胞封入ゲルを注入して三次元的なゲル-ゲル界面を構築した (Figure 1b)。その結果、封入細胞が内部ゲルから界面を越えて RGD ペプチド修飾ゲル側へ進展した (Figure 1c)。以上より、当該クリックゲルによる細胞の三次元界面間の侵入モデルを確立した。

1) Kitagawa, Tera *et al.*, *Bioconjug. Chem.*, **2023**, 34, 638–644.