

気体噴射液体排除法を使ったバイオ界面評価

(理化学研究所) ○田中 信行

物質と物質が接する境界や状態の異なる物質の境界を界面とよび、接着や摩擦・潤滑、熱伝導や物質移動、さらには情報伝達といった幅広い現象や機能性に関係する概念である。これまで筆者らは、細胞や生物試料、生体材料といったバイオ界面を対象として研究を行ってきた。本発表では、バイオ界面の研究を通じて独自に開発してきた濡れ性評価法である気体噴射液体排除法(Air-injection mediated liquid exclusion method; AILE 法)と併せて我々の取り組みについて紹介したい[1-4]。

液体と固体表面との馴染みやすさを示す濡れ性は、表面の物理化学的性質を示し、界面現象や機能性を評価する指標として重要である。濡れ性評価では、固気液三相界線(three-phase contact line)の形成が鍵であり、一般的には接触角計測が多用される。一方でバイオ界面を対象とする場合、考慮すべきポイントとして、境界が必ずしも明確ではないこと、その特性が時々刻々と変化すること、乾燥が禁忌であったり湿潤状態が基本であったりすることが挙げられる。培養液中の細胞を考えると、表面にはリン脂質の細胞膜だけでなく、細胞外マトリックスが存在し、水分子を内包しているため、境界は不明確、さらに細胞の増殖や遊走、微細構造のリモデリングといった動的な変化があり、細胞組織の主成分は水であるので乾燥は不適である。

筆者らは、気体中の固体表面に液体を接触させるのとは逆に、液体で覆われた表面に気体噴流を与え液体を排除することで三相界線を形成するとに着想を得た(図1A)。この考えをもとに電磁弁やノズルなど気体噴射の制御系と液体排除の観察系を有する装置を開発し、上市に至っている(図1B)。観察された液体排除領域の大きさや拡大する速度で表面の濡れ性を評価する(図1C)。

近年、生体外で培養した細胞組織を疾患治療に使う再生医療が注目を集めている。細胞培養では、細胞の状態や培養条件によって細胞組織の品質が大きく変化する。粘膜組織の培養では、条件によっては粘膜が消失するような場合がある。粘膜の構成は主に親水性物質であり、AILE 法によって粘膜の有無

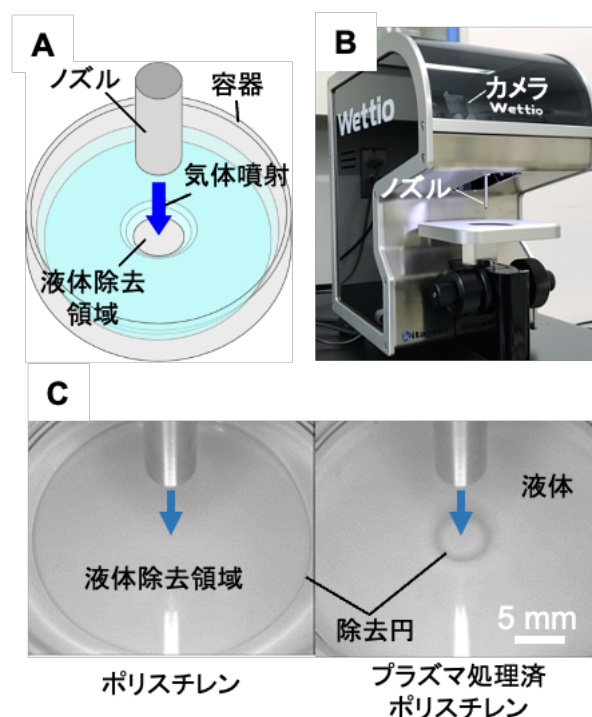


図1 気体噴射液体排除法 (A) 模式図。(B) 装置外観。(C) 実際の液体排除の様子。プラズマ処理により親水化したポリスチレンでは除去円がより小さい。(出典:[1]より改変)

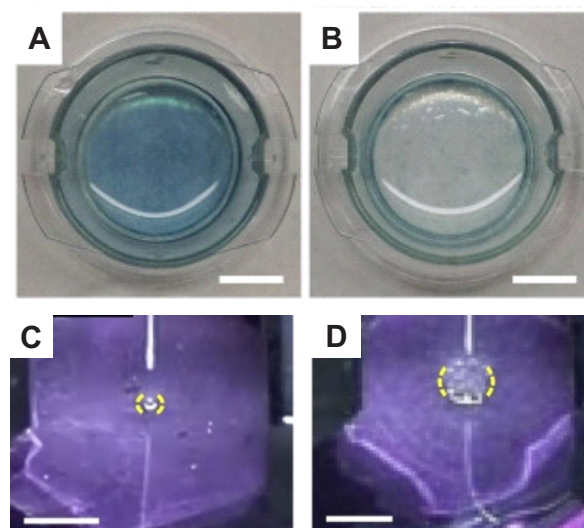


図2 培養粘膜上皮細胞組織への応用例。通常の培養(A)では、組織はムコ多糖類の特異的染色液であるアルシアンブルーでよく染色されるが、無血清条件の培養(B)では、ほとんど染まらない。スケールバーは1cm。それぞれの培養組織に対して液体排除を行うと、液体排除領域が通常(C)では小さく、無血清条件(D)はより大きくなる。スケールバーは5mm。(出典:文献2より改変)

を濡れ性の違いとして捉えた（図2）。

台所のぬめりに代表されるバイオフィームは、液中において分子吸着、微生物付着、増殖、細胞外高分子物質の過程を経た構造体である。粘膜組織と同様に親水性物質が主成分であり、AILE 法による評価を試みた。疎水性のポリスチレンを2週間水中に置いたところバイオフィームが形成され、AILE 法によって除去円直径が小さく、親水性に移行したことを示す結果となった（図3）。

吸着や接着を防止するためにリン脂質を含むブロックポリマーが開発されており、湿潤環境で利用されることを鑑みて、AILE 法を適用した。ポリマー側鎖のアルキル鎖長の違いによって、単に液体除去領域だけでなく、独特な液体回復過程を示すことがわかった（図4）。

このように AILE 法は、従来濡れ性評価が難しいバイオ界面に適した評価法であり、未知の界面現象や界面特性の解明につながる強力なツールとなると確信している。なお本研究は、科研費、JST/A-STEPの支援および株式会社北川鉄工所との共同研究によって行われたものである。

参考文献

- [1] N. Tanaka et al., "Contamination-free non-contact wettability assessment system," ROBOMECH J., vol. 4, no. 1, 2017.
- [2] N. Tanaka et al., "Splitting culture medium by air-jet and rewetting for the assessment of the wettability of cultured epithelial cell surfaces," Biomaterials, vol. 34, no. 36, pp. 9082–9088, 2013.
- [3] N. Tanaka et al., "In-situ detection based on the biofilm hydrophilicity for environmental biofilm formation," Sci. Rep., vol. 9, no. 1, pp. 1–11, 2019.
- [4] R. Katayama et al., "Characterization of the Hydration Process of Phospholipid-Mimetic Polymers Using Air-Injection-Mediated Liquid Exclusion Methods," Langmuir, vol. 36, no. 20, pp. 5626–5632, 2020.

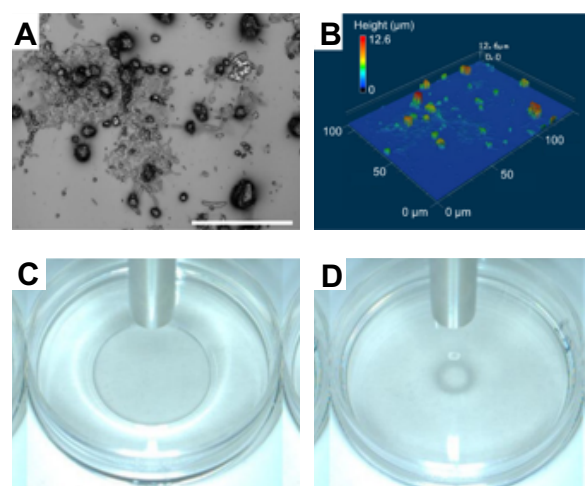


図3 バイオフィームへの応用例。(A) ポリスチレンディッシュ表面に形成されたバイオフィーム。スケールバーは $50\mu\text{m}$ 。(B) 共焦点顕微鏡で捉えたバイオフィーム。表示領域は顕微鏡画像(A)と同じ。清浄なポリスチレンディッシュ (C) およびバイオフィームが付着したポリスチレンディッシュの液体排除の様子。(出典：文献3より改変)

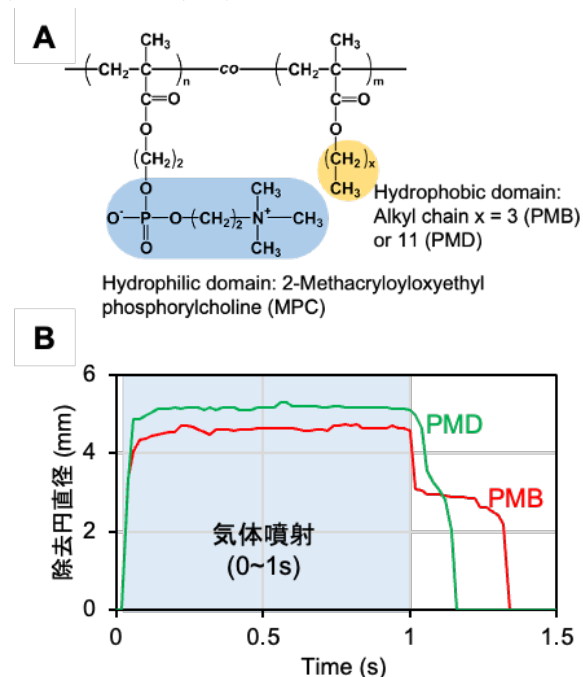


図4 生体適合性ポリマーコーティング表面への応用例。(A) 化学構造式。アルキル鎖長の異なる2種類のポリマーを準備した。(B) 除去円直径の時系列変化。時刻0から1秒まで空気噴流を噴射している。噴射停止後、特徴的な多段階の回復過程を示す。(出典：文献4より改変)