

＊課題番号 : F-12-HK-0036
 ＊支援課題名 (日本語) : マイクロウェルスライドを利用した段階的濃度分布生成デバイスの開発
 ＊Program Title (in English) : Development of biochip for cell analysis using microfluidics technology
 ＊利用者名 (日本語) : 堺 学, 荒井 恵介, 大橋 俊朗
 ＊Username (in English) : Manabu Sakai, Keisuke Arai, Toshiro Ohashi
 ＊所属名 (日本語) : 北海道大学大学院工学研究院人間機械システムデザイン部門
 ＊Affiliation (in English) : Graduate School of Engineering, Hokkaido University

※概要 (Summary) :

生体内では、化学物質の濃度勾配は細胞の遊走や増殖をはじめとする様々な挙動に大きな影響を及ぼすことが知られている。そこで本研究では、高処理能を有するマイクロウェルスライドに搭載可能な濃度ステップ生成バイオチップの開発し、試薬と希釈液の混合割合を変化させ、0.01~100%の濃度分布において8ステップの試薬の濃度を生成することを可能とした。

※実験 (Experimental) :

本デバイスは、試薬の送液のための微小流路が配置された1層目(最上層)、希釈液のための微小流路が配置された2層目、試薬と希釈液の予混合部、反応チャンバーおよび廃液流路が配置された3層目の合計3層のPDMSレイヤー、および672個のマイクロウェルが格子状に配列されたマイクロウェルスライドから構成される(図1(a))。3層目に設けた8か所の反応チャンバー(2.85 mm×2.85 mm)内マイクロウェルにおいて細胞を培養し、それぞれの反応チャンバーに異なる濃度の試薬を生成させて細胞の反応を観察した。試薬および希釈液はそれぞれの隔離された流路から5本の分岐に流入して3層目へと至り、予混合部を通過して反応チャンバーへと至る。

PDMS 製微小流路はフォトレジスト (SU-8 3050, MicroChem), ドライフィルムレジスト (感光性フィルム HM-4000, Hitachi chemical), およびマスクアライナー (ミカサ) を用いたフォトリソグラフィーを用いて作製した。

各反応チャンバーにおいて生成された試薬の濃度に対する細胞の反応を確認するために、血管内皮細胞を対象とした試薬濃度依存性実験を行った。細胞毒性を有するサポニンを、希釈液 PBS と共に、0.2 ml/min で5分間送液を行った。30分間室温で静置した後、カルセイン AM およびエチジウムホモダイマーを用いて細胞生死判定を行った。

※結果と考察 (Results and Discussion) :

実験より得られた反応チャンバー内の内皮細胞の細胞生存率を図1(b)に示す。100%~10%の試薬濃度ではほぼすべての細胞が死細胞であった。しかし、試薬濃度が希釈されていくにつれて生細胞の割合が増加し5% (5.0 µg/ml) 以下であれば生細胞の割合が高くなっていることが分かった。

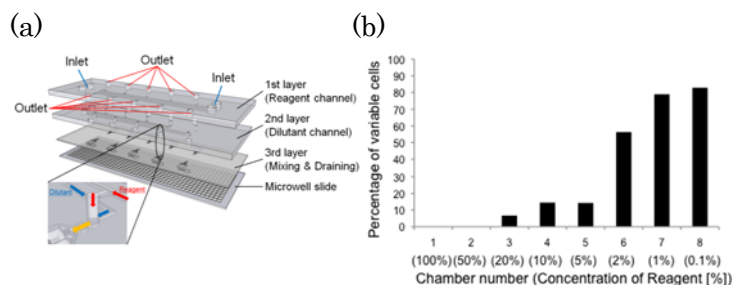


図1 (a)微小流路デバイス構想図。(b)試薬濃度依存性実験で得られた細胞生存率。

※その他・特記事項 (Others) :

今後はマイクロナノウェルプレートの更なるアプリケーションを創造するべく、多機能マイクロフルイディクス装置の開発に取り組む。

共同研究者等 (Coauthor) :

なし

論文・学会発表 (Publication/Presentation) :

[1] 堺学, 松井俊祐, Emilie Weibull, Helene Andersson-Svahn, 大橋俊朗, マイクロウェルスライドを利用した段階的濃度分布生成デバイスの開発, 第23回バイオフィロンティア講演会, 2012/10, 弘前市。

関連特許 (Patent) : なし