

課題番号 : F-15-UT-0023  
利用形態 : 機器利用  
利用課題名(日本語) : エレクトロアクティブマイクロウェルアレイの開発と1細胞解析への応用  
Program Title (English) : Development of electroactive microwell array for single-cell analysis  
利用者名(日本語) : 金秀炫, 藤井輝夫  
Username (English) : Soo Hyeon Kim, Teruo Fujii  
所属名(日本語) : 東京大学生産技術研究所  
Affiliation (English) : Institute of Industrial Science, The University of Tokyo

## 1. 概要(Summary)

本研究では、1細胞解析ができるエレクトロアクティブマイクロウェルアレイ(Electroactive Microwell Array、EMA)を開発している。EMAは、マイクロウェルの底面部分に電極を配置することによって、解析対象物である単一細胞を誘電泳動によって効率よくウェル内にトラップするだけでなく、エレクトロポレーションによってトラップされた細胞を破碎することができる技術である[1]。本年度では、EMAをさらに改良することで、マイクロウェルに捕捉したがん細胞に免疫・核酸染色と生死・アポトーシス判定の操作を行うことに成功した。また、マイクロ流路内に定常波を発生させ、細胞を濃縮することができる技術であるAcoustofluidicデバイスをEMAと組み合わせることで、EMAのサンプル処理能力を向上することに成功した。

## 2. 実験(Experimental)

### 【利用した主な装置】

EMAのフォトマスクは、武田先端知の高速大面積電子線描画装置、マスク・ウェーハ自動現像装置群、クリーンドラフト潤沢超純粋付を用いて作製した。

### 【実験方法】

ガラス上に蒸着されたITO膜をエッチングにより櫛型にパターンニングし、フォトレジストによりマイクロウェルを形成した。PDMSマイクロチャネルはフォトレジストによるモールドが形成されたシリコンウエハー上に、PDMSを流し込み75°Cで120分熱し、硬化したPDMSを剥離することにより得た。硬化したPDMSマイクロチャネルとガラス基板に酸素プラズマ処理を施しパーマネントボンディングした。誘電泳動を用いて細胞を捕捉するため誘電泳動バッファー(10 mM HEPES、0.1 mM CaCl<sub>2</sub>、59 mM D-glucose、236 mM sucrose、2 % BSA)に前立腺がん細胞株を懸濁した。

## 3. 結果と考察(Results and Discussion)

デバイスのinlet部に前立腺がん細胞株懸濁液を滴下し、シリンジポンプを用いて2 μL/minの流量でデバイスに導入した。デバイス本体の電極に交流電圧(5 V<sub>p-p</sub>、8MHz)を印加し誘電泳動により細胞捕捉を行った(Fig. 1)。細胞をマイクロウェルに捕捉した状態で様々な試薬を変更することで、免疫・核酸染色と生死・アポトーシス判定などの解析に成功した。

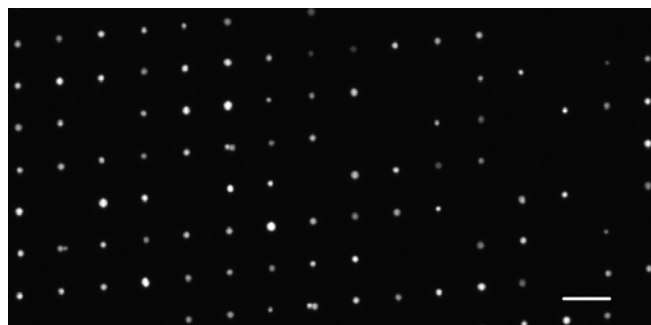


Fig. 1 Trapped cells in an EMA. Scale bar is 100 μm.

## 4. その他・特記事項(Others)

[1] S. H. Kim, T. Yamamoto, D. Fourmy, and T. Fujii, *Small*, vol. 7, pp. 3239-47, 2011.

## 5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

- (1) S. H. Kim, M. Antfolk, M. Kobayashi, S. Kaneda, T. Laure and T. Fujii, *Lab Chip*, vol.15, 4356, 2015.
- (2) M. Kobayashi, S. H. Kim, H. Nakamura, S. Kaneda and T. Fujii, *PLoS ONE*, 10(11): e0139980, 2015.

## 6. 関連特許(Patent)

なし。