

課題番号 : F-15-UT-0108  
利用形態 : 機器利用  
利用課題名 (日本語) : ImPACT「セレンディピティの計画的創出による新価値創造」における1細胞多角的次世代解析技術の開発  
Program Title (English) : ImPACT program Planned Serendipity: Development of new cutting edge multi-dimensional technologies for single-cell phenotyping  
利用者名 (日本語) : 白崎 善隆<sup>1), 2)</sup>  
Username (English) : Y. Shirasaki<sup>1), 2)</sup>  
所属名 (日本語) : 1) 東京大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻  
2) 理化学研究所 統合生命医科学研究センター  
Affiliation (English) : 1) Department of Biological Sciences Graduate School of Science  
2) RIKEN Center for Integrative Medical Sciences

## 1. 概要 (Summary)

本件は、ImPACT「セレンディピティの計画的創出による新価値創造」における1細胞多角的次世代解析技術の開発の一環として、1細胞分泌測定を可能とする全反射照明が可能なナノウェルアレイチップの作成を行った。

全反射照明は下部機材(ガラス)と上部機材もしくは試料との間の屈折率の違いにより生じる。この際、x-y 空間方向の屈折率の境界では edge 効果が生じ、全反射条件が局所的に崩れ、わずかな励起光の漏れが生じる。そこで、本研究では試料(水溶液)と同等の屈折率を持つアモルファスフッ素樹脂コーティング材である CYTOP を PDMS とガラスの接着層として使用することで、x-y 空間方向の屈折率を連続的にし、edge 効果解消を目指した。

## 2. 実験 (Experimental)

### 【利用した主な装置】

スピコーター、プラズマ洗浄装置、ブースマイクロテック社製光リソグラフィ装置 MA-6

### 【実験方法】

本年度は PDMS 薄膜に形成した微小貫通孔アレイのデザインの最適化を行った。

これまでのデザインでは、2,500 個の貫通孔を等間隔に正方向列させていた。一方で、PDMS 薄膜の上に形成する  $\phi 8 \text{ mm}$  のリザーバーは円形であるため、デッドスペースが多かった。そこで、貫通孔の配列を外形  $\phi 6 \text{ mm}$  に合わせるとともに、最密充填配置とすることでスキャン範囲の最小化を行った。

一方、これまでのデザインは、1つのリザーバーで区切られていたため、1度 Run では1条件しか測定できなかった。そこで、貫通孔の配置を4か所の島に分

配し、その上に一回り小さい  $\phi 3 \text{ mm}$  のリザーバーで区切るデザインを考案した。

上記のデザイン案に基づき、PDMS 貫通孔アレイ薄膜の作製に必要な SU-8 製鋳型の作製を行った。

## 3. 結果と考察 (Results and Discussion)

$\Phi 45 \text{ }\mu\text{m}$ 、高さ  $40 \text{ }\mu\text{m}$  の凸型 SU-8 パターンを配列した鋳型を作成した。この鋳型に対し、重合剤と混合し、減圧脱泡した PDMS (Sylgard 184) を乗せ、その後離型剤処理したガラスによってプレスし、SU-8 鋳型の高さまで押しつけた。数時間室温で放置し、余分な PDMS が十分に押し出された後に押しつけた状態でオープンに投入し、 $80 \text{ }^\circ\text{C}$  で重合を促進した。

剥がした PDMS 薄膜は SU-8 パターン部分に貫通穴が形成され、CYTOP を塗布したガラスに対してプラズマ接合を行った。

このチップを用いて、マウス腸脂肪組織中に存在する 2型自然リンパ球の細胞傷害性サイトカインである IL-25、IL-33 に対する 2型サイトカインの分泌応答を1細胞毎に測定したところ、量的、時間的にばらつく様相が観察された。

## 4. その他・特記事項 (Others)

ImPACT program セレンディピティの計画的創生  
共同研究者: 理研 IMS 茂呂 和世 TL、小原 收 GD

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

第 53 回生物物理学会年会、白崎善隆、1細胞分泌実時間イメージングが明らかにした細胞分泌動態の不均一性、2015/09/13

## 6. 関連特許 (Patent)

なし