

課題番号 : F-21-KT-0001
 利用形態 : 技術代行
 利用課題名(日本語) : 哺乳類細胞移動アッセイ用新規マイクロデバイスの開発
 Program Title (English) : Development of novel microdevices for mammalian cell migration assays
 利用者名(日本語) : 岩淵久美子
 Username (English) : Kumiko Iwabuchi
 所属名(日本語) : 自治医科大学 分子病態治療研究センター 再生医学研究部
 Affiliation (English) : Dept. of Regenerative Medicine, Jichi Medical University
 キーワード/Keyword : リソグラフィ・露光・描画装置、バイオ&ライフサイエンス、マイクロ流路、細胞遊走

1. 概要(Summary)

各種動物細胞は発生段階・恒常性維持において生体内を移動し組織構築・再生及び免疫反応に寄与していることが知られている。しかしその移動の分子機序は未だ明らかでない。従来のバリア型デバイスは垂直方向の観察にとどまり、細胞の水平方向への移動や形状・挙動の変化を継続的に測定することができなかった。本課題では各種細胞の経皮内及び組織内移動を模したミクロレベルの内径のグリッド構造を持つ流路デバイスを開発する。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

レーザー直接描画装置、Si 深掘りドライエッチング装置、ナノインプリントシステム、UV オゾンクリーナ・キュア装置

【実験方法】

マイクロ流路チップ構造は市販のバクテリア共培養システム(ミリポア社 CellASIC ONIXM04G-02)の構造を参考に新規に設計した。シリコンウエハにフォトリソグラフィ、ドライエッチングで流路部(深さ 50 μm)とグリッドバリア部(深さ 5,8,10 μm)用モールドを作製した。熱インプリントにより、まず樹脂板に流路パターンを成型した。その後、グリッドバリア部用モールドを、流路を形成した樹脂板の所定の位置に重ね合せ、インプリントした。インレット/アウトレット孔をドリルにより開口した後、成型した樹脂板と平樹脂板を UV オゾン処理により親水化したのち接合した(Fig. 1)。成型パターンにより A・B・C が作製された(Fig. 2)。

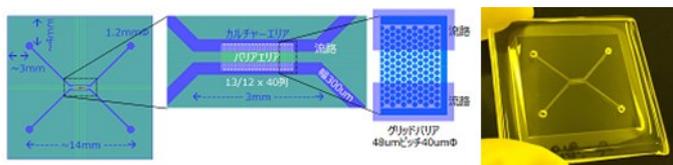


Fig. 1 Design of a microfluidic cell migration chamber. (Left) Detailed structure of the migration grid barrier. (Right) Prototype appearance.



Fig. 2 Bonding pattern of prototypes.

出来上がったプロトタイプをフィブロネクチンでコートし、培地の充填および Jurkat 細胞または Thymocyte の充填・灌流状態をテストした。用いられたプロトタイプは Culture 溝深さ 50 μm 、Barrier 層のピラーの高さ 8 μm 、ピラー径 40 μm 、間隔は 8 μm 以下であった。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

【結果】本テストにおいて、A 型は培地充填・細胞充填および還流のいずれにおいても良好であった。一方、B 型は気泡が入りやすく、C 型は PBS および培地のみの充填はできたものの細胞懸濁液の充填が困難であったが、ポート部分の削出により改善された。また、初期型では細胞の流路外への漏れ込みが観察されたが、最新版では 5 時間経過後も流路内に細胞が維持された。

【考察】A 型でもっとも良好な細胞の充填移動が観察できた。今後、成功したタイプ A 最新版を中心に最適なグリッド間隔を設定していく。

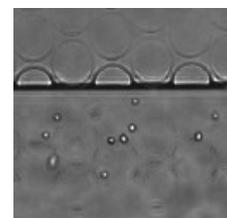


Fig. 3 Thymocytes in fluidics.

4. その他・特記事項(Others)

本課題で作成するデバイスは科研費(19K17327)のプロジェクトで細胞集積機能評価に用いられる。

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

6. 関連特許(Patent) なし