

課題番号 : F-21-NU-0010
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : オンチップ局所環境制御による単一細胞の外部刺激応答特性の解明
Program Title (English) : Elucidating the stimuli response of the single cell by the on-chip local environment control.
利用者名(日本語) : 杉浦広峻
Username (English) : H. Sugiura
所属名(日本語) : 東京大学大学院工学系研究科機械工学専攻
Affiliation (English) : Department of Mechanical Engineering, Graduate School of Engineering, The University of Tokyo.
キーワード/Keyword : リソグラフィ・露光・描画装置、マイクロ流体チップ、浸透圧刺激、藍藻、高速溶液置換

1. 概要(Summary)

生体機能の解明や医療への貢献、創薬を目的として、生体組織を単一細胞レベルで分析する研究が活発に行われている。特に、細胞の特性を決定づける要因として、細胞と細胞外基質との相互作用に注目が集まっている。そのため、単一細胞に対する制御性の高い浸透圧刺激の印加や、細胞の応答解析を実現する工学的な手法が切望されている。そこで高速な浸透圧刺激を気液二層流の流体制御をすることで液体架橋の生成及び置換により実現し、刺激に対する応答を単一細胞レベルで分析するデバイスの提案をする。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

両面露光用マスクアライナ(Suss Micro Tec AG 製 MA-6)

【実験方法】

ネガティブレジスト SU-8(3025)をガラス基板の上にスピコートし、マスクアライナを用いて露光する。この時のレジスト膜厚が細胞捕捉および液体架橋生成のためのピラーの高さになる。同様にネガティブレジスト SU-8(3005)を、再度スピコート・露光する。多段露光をすることで、ピラーとマイクロ流体チップ底面との間に細胞を捕捉するためのギャップを設ける。その後、NMD-3 で多段露光された SU-8 を現像し、流路形状が完成する。続いて、マイクロ流体チップをパッケージングするためのトップ層を作製する。シートレジスト NCM250 をガラスにパターンニングすることで保護マスクを作製。サンドブラストにより、マスクの非保護領域をエッチングし、ガラス基板の流路出入口を貫通させる。最後のプロセスは、チップ中層に流路層を作製するために、ガラス面と SU-8 面を接合する。接合に

はウエハ接合装置で、175 °C、2.5 MPa で一時間熱融着した。また、作製したマイクロ流体チップに対して気液二層流の流体制御することで浸透圧刺激時間を評価する。さらに、ラン藻に対して浸透圧刺激を与えた際の力学特性を高速ビジョンから得られる体積変化から評価する。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

構造を Glass/SU-8/Glass の三層にすることで高剛性・高透過性なマイクロ流体チップ作製した。これにより、高速な溶液置換を行う際の流体圧による流路の変形を防ぎ、焦点面のずれを防ぐことができた。そして、マイクロ流体チップの浸透圧変化時間は 30 ms と評価できた。このマイクロ流体システムによる浸透圧刺激に対するラン藻の力学特性計測を高速ビジョンの画像処理により実施した。浸透圧刺激前後において、体積変化が識別できる時間と空間分解能を有することを示せた。10 ms オーダでの高速な浸透圧刺激に対する応答を単一細胞レベルで計測することで、ラン藻の応答特性を評価する研究は他に例がなく、新たな知見を創設する基盤的な計測制御技術を確立することに成功した。

4. その他・特記事項(Others)

なし。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

(1) 金子真悟, 新井史人, マイクロ流体チップ内の局所溶液置換の高速化を目指した流路デザイン, 化学とマイクロナノシステム学会第43回研究会.

6. 関連特許(Patent)

なし。