

課題番号 : F-21-NU-0027
 利用形態 : 機器利用
 利用課題名(日本語) : がん転移悪性度の簡易的評価を目的とした微小流路によるがん細胞力学的特性評価
 Program Title (English) : Assessment of cancer metastatic potential using a microfluidic device
 利用者名(日本語) : 堀尾航平, 高木麗弥, 篠田裕也, 中村匡徳
 Username (English) : K. Horio, R. Takagi, Y. Shinoda, M. Nakamura
 所属名(日本語) : 名古屋工業大学大学院工学研究科
 Affiliation (English) : Graduate School of Engineering, Nagoya Institute of Technology
 キーワード/Keyword : リソグラフィ・露光・描画装置、フォトマスク、シリコンウェハ

1. 概要(Summary)

がん細胞は、転移する際に生体内で大変形する。そこで、がん細胞の転移悪性度を評価するマイクロ流路の開発を試みている。本年度においては、幅 10 μm の狭小マイクロ流路を製作し、これにがん細胞を流して細胞の転移能の違いによる大変形後の生存能の違いを評価した。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

マスクアライナ(ナノテック製 LA410)

【実験方法】

シリコンウェハ(松崎製作所)に SU-8 3005(マイクロケム)を塗布し、1000 rpm, 30 s の条件でスピコートした。95°C で 3 分間ベークした後、マスクアライナを用いてフォトマスクとシリコンウェハを接着させ、露光した。このとき、露光時間を 4 秒とした。その後、シリコンウェハを 65°C で 1 分間、95°C で 2 分間ベークし、PM シンナー(東京化成工業)で現像した後、IPA を用いて洗浄した。

完成した鋳型を用いてマイクロ流路を作製した。作製したマイクロ流路にヒト肝臓がん細胞 HLF を流し、圧縮負荷を与えた。出口にて回収した後、トリパンブルー染色法を用いて生存能を計算した。高転移性の要因となるタンパク質 SOX9 を発現している SOX9(+) 群および発現していない SOX9(-) 群について、生存能を比較した。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

作製したマイクロ流路の狭窄部を Fig. 1 に示す。実寸では狭窄幅 8.1 μm 、長さ 192 μm であった。これは、設計寸法よりも小さく、細胞に圧縮負荷を与えるには十分な幅であることから、今回はこの流路を使用した。

この流路に対して、肝臓がん細胞を流した。がん細胞の生存率 σ を Fig. 2 に示す。添え字は、流路出口で回収したサンプル(C 群)、実験環境中で放置したサンプル(S 群)に対応する。狭窄部を通過した C 群は S 群に比べて、

有意に生存率が低かった。HLF SOX9(+) と SOX9(-) のそれぞれにおいて C 群と S 群の生存率を比較すると、SOX9(+) の方が C 群の生存率の低下度は小さいように見えた。このことから、SOX9 を発現すると、生存能の圧縮耐性が向上したとも考えられるが、本流路では力学負荷が大きすぎて、細胞死率が高く、SOX9 の発現が生存率に与える影響を評価するのは困難であった。



Fig. 1 Design of the microfluidic channel.

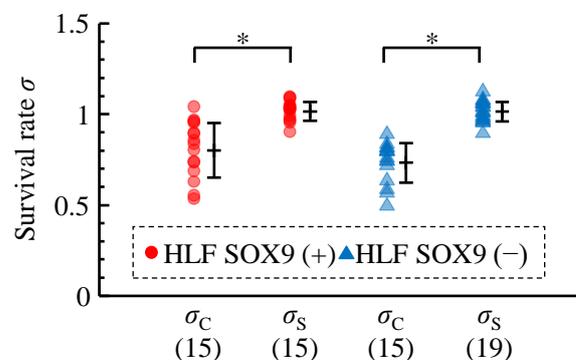


Fig. 2 Survival rate of SOX9(+) and SOX9(-).

4. その他・特記事項(Others)

なし。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

- 堀尾航平, 氏原嘉洋, 杉田修啓, 中村匡徳, 狭小マイクロ流路通過後のがん細胞生存能評価", 第 44 回日本バイオレオロジー学会年会, 2021.7.3-2021.7.4, リモート開催

6. 関連特許(Patent)

なし。