

白血球遊走評価のためのマイクロ流体デバイスの開発

Development of microfluidic devices for lymphocytes chemotaxis

阪大工¹, 阪大医² °当真 嗣尚¹, Wilfred Espulgar¹, 齋藤 真人^{1,3},

小山 正平², 高松 漂太², 熊ノ郷 淳², 民谷 栄一¹

Dept. of Eng., Osaka Univ.¹, Dept. of Med., Osaka Univ.², AIST PhotoBIO-OIL³

°Tsugunao Toma¹, Wilfred Espulgar¹, Masato Saito¹,

Syohei Koyama², Hyota Takamatsu², Atsushi Kumanogoh², Eiichi Tamiya¹

E-mail: t-toma@ap.eng.osaka-u.ac.jp

はじめに: 白血球の遊走性は重要な免疫生体防御反応の一つであることから、アレルギー性炎症や癌細胞に対する自己免疫などとの深い関わりが予想され、注目されている。ケモカインは標的細胞の遊走活性化作用という特異的な役割を有しており、ケモカインに対する細胞の応答を解析することが免疫機能解明において重要である。一方、当研究室では遠心駆動による一細胞を捕捉するマイクロ流体デバイスをこれまでに開発してきた[1]。このデバイス技術をもとに本研究ではケモカインによる細胞遊走性を評価するためのマイクロ流体デバイスの開発を行った。

実験: シリコンウェーハ上に SU-8 レジストをスピコートした後、流路パターンの UV 露光および現像を行い流路モールドを作製した。モールドに PDMS を流し込み、80°C、3 時間で硬化させた。

モールドから PDMS を剥離した後、接合面に O₂ プラズマ処理を行い、ガラス基板と接合した。作製したマイクロ流体デバイスはディスク状で、中央部に細胞とケモカインを導入するインレットがあり、またそれぞれ細胞捕捉用チャンネルおよびケモカインチャンネルが外側に向かって並列した構造となっている。細胞捕捉用チャンネルのインレットにケモカイン受容体 CXCR4 を発現する Jurkat 細胞を注入し、遠心駆動によって細胞捕捉用チャンネルへの導入およびトラップサイトへの 1 細胞捕捉を行った。Jurkat 細胞はあらかじめ CFSE 染色している。ケモカイン CXCL12 を同様に導入した後、細胞捕捉用チャンネルとケモカインチャンネルを接続した遊走評価チャンネル（高さ 4 μm、幅 4 μm、長さ 1000 μm）が配置されている (Fig1)。遊走評価チャンネルでの細胞の移動を観測し、移動距離を計測した。

結果: 1200rpm で遠心することによって Jurkat 細胞を細胞捕捉用チャンネル内のトラップサイトに捕捉することに成功した。ケモカイン CXCL12 をケモカインチャンネルに導入した後、遊走評価チャンネル内に Jurkat 細胞が進

入し、移動する様子を捉えることができた。細胞移動の平均速度は 1.1 μm/min であった (Fig2,3)。これらの結果より、1 細胞のケモカインに対する遊走評価を行えることが確かめられた。

参考文献:[1] W. Espulgar et al, *Lab on a Chip* **15**, 17 (2015)

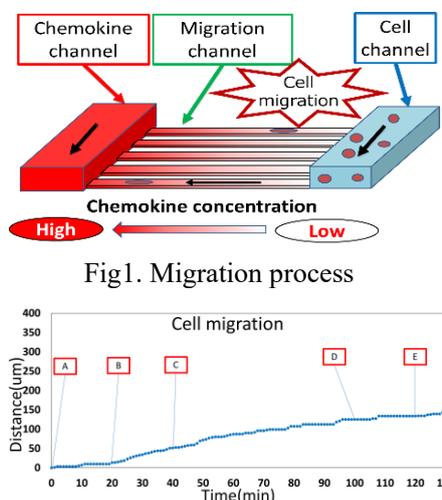


Fig3. Cell tracking

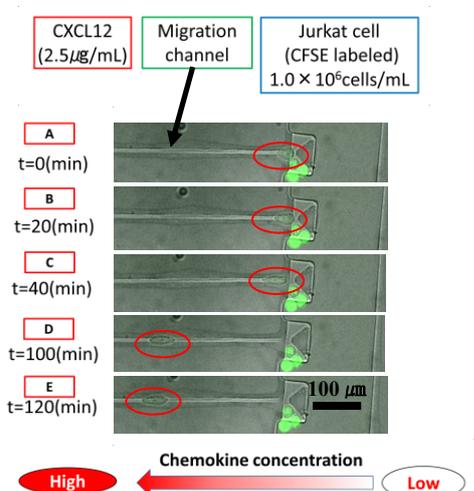


Fig2. Cell migration