

単一細胞対解析に向けたマイクロチャンバーアレイの開発

Development of microchamber array for cell pairing and analysis

阪大院工¹, 産総研・先端フォトバイオ², 阪大院医³, 阪大産研⁴

○奥井 悠河¹, Wilfred Espulgar¹, 齋藤 真人^{1,2}, 小中 八郎³, 高松 漂太³, 民谷 栄一^{2,4}

Graduate School of Engineering, Osaka Univ.¹, AIST PhotoBIO-OIL², Graduate School of Medicine,
Osaka Univ.³ and ISIR, Osaka Univ.⁴

○Yuga Okui¹, Wilfred Espulgar¹, Masato Saito^{1,2},

Hachiro Konaka³, Hyota Takamatsu³, Eiichi Tamiya^{2,4}

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

サイトカインとは、特異的な受容体に結合することで、細胞間相互作用を媒介する低分子たんぱく質因子であり、 10^{-10} ~ 10^{-12} M (nM~pM) 程度のごく微量で免疫・炎症反応の制御、抗ウイルス、抗腫瘍、細胞増殖・分化の調節など様々な生理活性を示す。現在、COVID-19による重症化がサイトカインストームと呼ばれる免疫異常により引き起こされていることが知られており、サイトカイン産生による免疫異常はますます注目を増している。これを一細胞レベルで解明することで、自己免疫疾患や感染症、がんなどサイトカインに関わる様々な疾患に対する機能解明や新規診断治療法に資すると期待される¹。そこで本研究では、サイトカイン検出に応じて特異的に細胞内部でeGFP(Recombinant Enhanced Green Fluorescent Protein)を発現するレポーター細胞と対象細胞による細胞対を隔離し、一細胞レベルにおけるサイトカイン産生の解析が可能なマイクロ流体デバイスの開発を試みた。微細加工技術によりチップデバイス作製を行った。シリコンウェーハ上に光硬化性樹脂(SU-8)パターン微細構造を形成し、モールドとした。これに熱硬化性樹脂タイプのPDMS(Polydimethyl-siloxane)をキャストし転写・成型した。一辺75 μ m、深さ20 μ mの六角形マイクロチャンバーをアレイ状に配置したチップとした(Fig. 1a)。流体速度場の数値解析とビーズ捕捉によりマイクロチャンバーの構造を、また、レポーター細胞・対象細胞における捕捉率の流速・濃度依存性などを評価し、諸条件を最適化した。レポーター細胞(HEK293)とIFN- β を過剰分泌する対象細胞(Thp1)のペアリングし、24hインキュベートすることでレポーター細胞による対象細胞が分泌するサイトカイン検出を試みた(図1a)。結果、レポーター細胞由来のeGFPから蛍光増強が確認できた(Fig. 1b)。これにより、本デバイスチップによって一細胞が分泌するサイトカイン産生を検出可能であることが示された。今後、集団細胞中の異常細胞のスクリーニングが期待される。

参考文献:[1] Chattopadhyay, P. K., Gierahn, T. M.; Roederer, M., Love, J. C. Nat. Immunol. **2014**, *15*, 128.

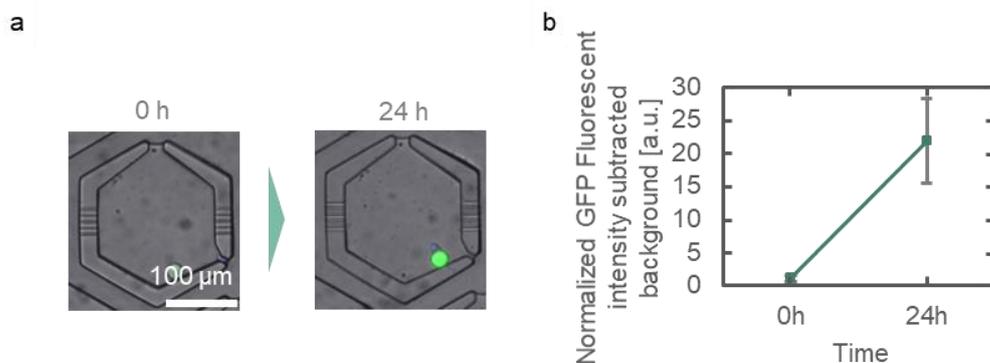


Fig. 3(a) Images of a reporter cell and a target cell captured on a microchamber before and after incubating for 24h. (b) Fluorescent intensity of reporter cell by detecting IFN- β secreted by a target cell on chip.