

マイクロ流路を用いた細胞接着力測定と表面微細構造による接着力制御 Cell Adhesion Measurement Using Microfluidics and Adhesion Control by Surface Microstructure

○(M1) 米田 将太¹, 上村 英隆¹, 山田 哲也¹, 柳田 保子¹
Tokyo Institute of Technology¹, [○]Shota Yoneda¹, Hidetaka Kamimura,
Tetsuya Yamada¹, Yasuko Yanagida¹
E-mail: yanagida.y.aa@m.titech.ac.jp

緒言

細胞接着と関係を持つ疾患はガン転移や関節リウマチ, アテローム性動脈硬化など数が多い[1]. これらの疾患に対する新薬や新しい治療法の開発には, 生体内に近い *in vitro* 環境が役立つと考えられ, 医療や創薬の現場での応用を考えると簡便かつ定量的に接着力を測定する方法が必要になる. そこで我々はマイクロ流路を用いた細胞接着力測定に着目し研究を進めている. このマイクロ流路を使った方法では, 顕微鏡によるリアルタイムな観察が可能であることや使用する試薬が少なく低コストであることなどの利点を持つ[2]. 本研究では内部に層流条件下でせん断応力を生じさせマイクロ流路内で細胞接着力を評価できるデバイス作製に取り組んだ.

実験方法

マイクロ流路は鋳型を3Dプリンタ(AGILISTA-3110, キーエンス)で作製し, PDMSに転写し流路を作製した. 層流条件下で培養液が流れ, かつ流路幅を徐々に狭める構造を作ることによって, 流路内のせん断応力を連続的に変化させることができるように設計した. またマイクロパターン基板はシリコン基板にSU8-3005を用いてマスクレス露光装置にて鋳型を作製し, PDMSに転写して作製した. マイクロパターンは円柱径10 μ m, 円柱間ピッチ10 μ mとし, 円柱の配置を変えることでパターン密度を変化させた. 流路基板として一定のピッチや円柱径を持ったマイクロパターン基板を作製することで細胞接着力を定量的に評価した. ヒト肺胞基底上皮腺ガン細胞(A549)とヒト子宮頸癌由来の細胞であるHela細胞をシリンジを用いて細胞懸濁液をデバイス内に注入し, 細胞がデバイス底面へ接着させ再度溶液をデバイスへ注入し, その際に生じる壁面せん断応力で細胞を剥離, 実験前後での残存細胞を蛍光色素による染色などを用いて培養接着力を評価した.

結果と考察

シミュレーションによりInletとOutletを結ぶ中心線において流入出口から十分に離れた座標において連続的かつ線形的な変化を持つせん断応力の分布が形成されることがわかった(Figure 1A). 3Dプリンタにより作製したマイクロ流路デバイスをFigure 1Bに示す. この流路内には細胞の接着力を低下させるため円柱径10 μ m, 円柱間ピッチ10 μ mでパターン基板を作った(Figure 1C). マイクロパターン基板を作製する際の露光条件検討はSU8-3005に対して245mW/cm²の露光により高さ約5 μ mのパターンを安定して作製できることがわかった. 最後に細胞をデバイスに導入し, 細胞接着力を評価した(Figure 1D).

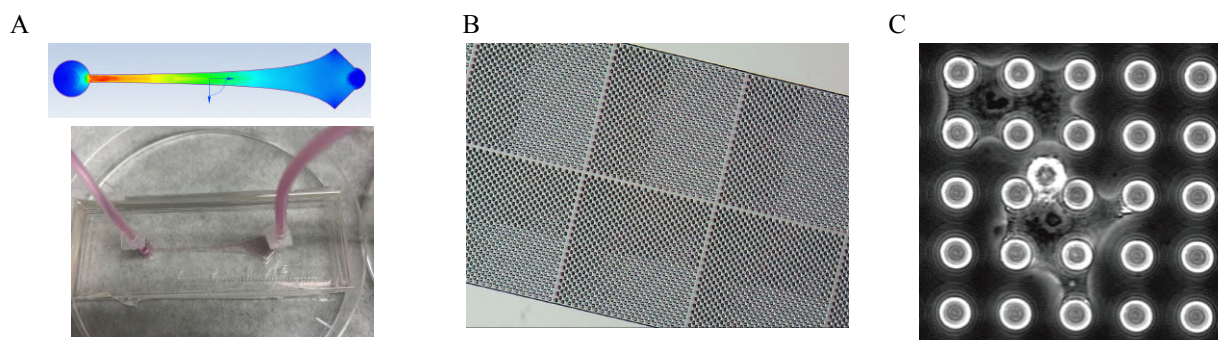


Figure 1 A. Simulation results of microfluidic channels and fabricated devices. B. Produced patterns with 10 μ m diameter and 10 μ m clearance. C. Cell Adhesion Experiments

参考文献

[1] Setsuo Hirohashi and Yae Kanai. Cell adhesion system and human cancer morphogenesis. Gann Monographs on Cancer Research, Vol. 52, No. 7, pp. 13–26, 2004. [2] Peter Rupprecht, Laurent Gol'e, Jean Paul Rieu, Cyrille V'ezzy, Rosaria Ferrigno, Hichem C. Mertani, and Charlotte Riviere. A tapered channel microfluidic device for comprehensive cell adhesion analysis, using measurements of detachment kinetics and shear stress-dependent motion. Biomicrofluidics, Vol. 6, No. 1, 2012.