透明フッ素樹脂材料 CYTOP への 3 次元マイクロ流路チップの作製と高解像度細胞観察への応用

Fabrication of microfluidic biochip using amorphas fluor polymer and application to high-resolution cell observation

理研 光量子 [1]，東京農工大 [2]，理研 CBS[3]，弘前大理工 [4]，○(B)半澤 未来 [1,2]，小幡 孝太郎 [1]，河野 弘幸 [3]，尾笹 一成 [1]，花田 修賢 [4]，宮脇 敦史 [3]，宮地 悟代 [2]，杉岡 幸次 [1]

RIKEN RAP[1], Tokyo Univ. of A. & T.[2], RIKEN CBS[3], Hirosaki Univ.[4], ○Mirai Hanzawa[1,2], Kotaro Obata[1], Hiroyuki Kawano[3], Kazunari Ozasa[1], Yasutaka Hanada[4], Atsushi Miyawaki[3], Godai Miyaji[2] and Koji Sugioka[1]

E-mail: ksugioka@riken.jp

透明材料で構成されているマイクロ流体デバイスは、細胞培養空間と単一細胞の観察を同時に可能とするバイオチップとして広く利用されている[1]。しかしながら、バイオチップで一般的に用いられているガラスや PDMS などの透明材料は、水を主成分とする培地と比べて比較的屈折率が高く、バイオチップ内で細胞を観察する際に、屈折率差により像の歪みやボケなどにより高解像度の観察が困難である。これらの問題を解決するために、本研究では水にほぼ等しい屈折率を有する透明フッ素樹脂材料 CYTOP（AGC 株式会社）[2]を用いて、単一細胞の高解像度観察が可能なバイオチップの開発を試みている。これまで、2 光子光造形によって作製したポリマー3 次元構造をモールドとして利用した CYTOP の 3 次元加工技術を開発した[3]。本講演では、開発した技術により CYTOP の細胞観察用の 3 次元マイクロチャネル構造を作製し、高解像度細胞観察へ応用したので報告する。

実験は、まずカバーガラス上に感光性樹脂である SU8 の層を約 150 μm の厚さで形成し、フェムト秒レーザー（波長：515 nm, パルス幅：220 fs）とガルバノスキャナによるレーザー走査を用いた 2 光子造形法によって、3 次元構造を作製した。その後、作製した 3 次元構造をモールドとして用い、CYTOP を充填後 SU8 層を薬液処理により溶解させることにより、CYTOP の 3 次元構造の形成を試みた。その結果、SU8 の 3 次元構造が転写された埋め込みチャネル構造が CYTOP 内部に作製された。図 1 に 2 光子光造形法で作製した SU8 の 3 次元構造の光学顕微鏡像を示す。SU8 の 3 次元構造をモールドとして作製した CYTOP チップは、幅 2.5~40 μm、長さ 50 μm の埋め込み型チャネルアレイ構造を有している。作製したチャネルの内壁は、細胞との密着性を付与するためにラミニンコーティングを施した後、PC3(Human prostate cancer cell: 人前立腺がん細胞)を培養液と共に CYTOP チップへ播種した。数日間の培養後に蛍光顕微鏡で観察したところ、5～40 μm 幅のチャネル内部や、リザーバー底面、壁面で PC3 が増殖していることが確認された。図 2 に 5 μm 幅のチャネルに侵入する PC3 の観察結果を示す。図中上部では、PC3 が球状の形態を変形させてチャネルに一部が入りかけている。また、チャネル中心部では 2 個の PC3 が細長い形状に変形している様子が鮮明に観察された。以上の結果より CYTOP で作製したバイオチップを用いることで、培養液との屈折率差による観察像の歪みを低減でき、高解像度の細胞観察を実現できることが実証された。

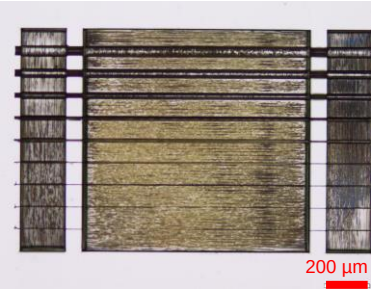

Fig. 1 3D mold made of SU8 by TPP.

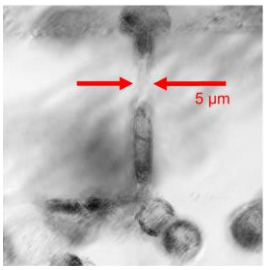

Fig. 2 Optical microscope image of cells in the microchannel with a width of 5 μm

Reference
[1] Sima, Felix, et al., Appl. Matl. Tech. 5.11(2020): 2000484.
[2] Reports Res. Lab. Asahi Glass Co., Ltd., 55, 2005.
[3]小幡, 他:応用物理学会, 23p-C301-6