

マイクロフルイディクスを利用する単一細胞アレーサイトメトリ

九州大学工学府化学システム工学専攻 三宅 麻代

細胞機能の簡便で迅速な分析は、ポストゲノム生物学の分野やテーラーメイド型治療の実現のために重要である。一方で、マイクロ流体デバイスは細胞生物学の分野で装置のコストを下げるため、また短時間で多くの情報を得るために有用な新しい技術として注目を集めている。そこで、Wlodkowic¹⁾らはリアルタイム蛍光イメージングとマイクロ流体デバイスを組み合わせ、アポトーシス誘導薬剤のスクリーニング法を提案している。

poly(dimethylsiloxane) (PDMS)を用いて作製されたマイクロチップは細胞が入る程度の大きさの440個のトラップ(幅: 18 μm , 奥行: 20 μm , 深さ: 10 μm)を備えており、細胞懸濁液を流すことによって機械的に細胞を捕捉できるように設計されている(Fig. 1)。実際、チップに導入された細胞の10~20%が捕捉される。ヒト骨髄性白血病細胞であるHL60をチップに導入後、細胞膜透過性でアポトーシスマーカーであるSYTO62 10 nMと細胞膜非透過性のSYTOX green 30 nM、さらにアポトーシスを誘導するstaurosporine (STS) 2 μM を含む培地を導入し、蛍光顕微鏡でモニターしたところ、フローサイトメトリーと矛盾しない結果が得られている。また、HL60をチップに導入後、2 μM のpropidium iodide (PI)とSTSを含む培地を導入し、1分ごとに計3時間画像を撮った結果、Fig. 2のようにアポトーシス初期の細胞膜の構造の不安定化を示唆するような細胞膜の透過化や、その後のPIの透過性の向上が観察された。このような細胞死の追跡はこれまで用いられているエンドポイントアッセイでは不可能である。

ここでは、巧みに作製されたマイクロ流体チップを細胞のアポトーシスのリアルタイム分析に利用し、約300個という少ない細胞数の試料に対して、細胞膜の透過性や細胞死に関する情報を得ることに成功した例を紹介した。この方法が実用化されればフローサイトメトリーのような従来法に比べ

装置と細胞・試薬量の両面でコストが削減できる。また著者らはトラップ中で細胞が分裂する様子も確認しており、マイクロチップの細胞培養への応用も盛んになることが期待される。

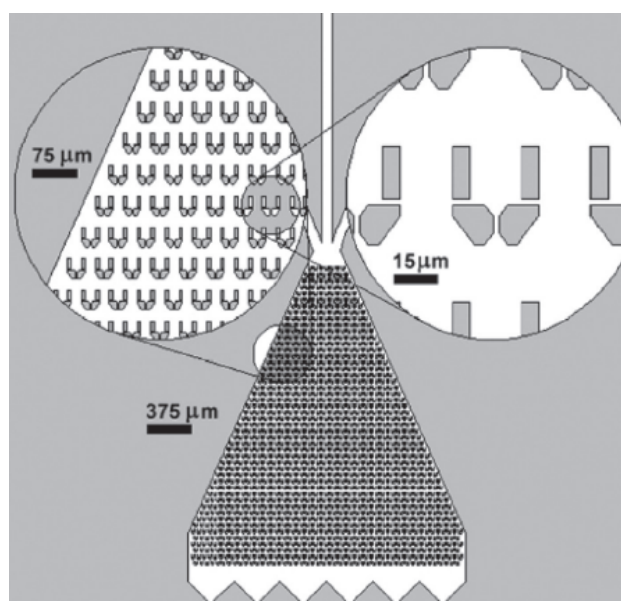


Fig. 1 マイクロチップのCAD概略図

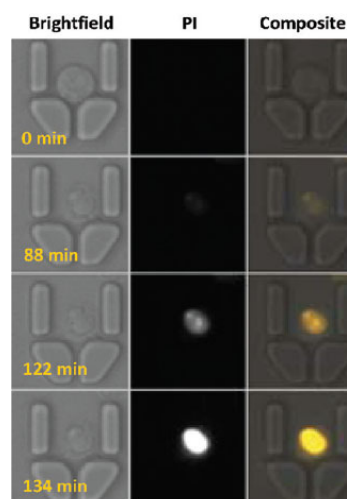


Fig. 2 STS 導入後、各時間経過後の細胞の蛍光像

文献

1) D. Wlodkowic, S. Faley, M. Zagnoni, J. P. Wiksw, J. M. Cooper, *Anal. Chem.* **2009**, 81, 5517-5523