

フォトリスで作製したゲル製の籠に細胞を入れて観察してみてもわかったこととは？

Abstract:

We succeeded in making a long time observation system of individual cells using PDMS microchip which has a cage made of permeable membrane. The cage is made by photolithography and it has fine resolution (5 μm). The height of the cage is about 2 mm. Optical tweezers is used to manipulate each individual cell. We transported cells into the cage using optical tweezers and changed solution around cells. The size change of each cell was monitored for long time stably. This system provides us a stable environment to observe cells in various conditions and it is useful to investigate unknown biological mechanisms of cells.

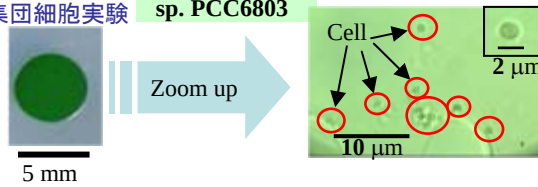
Background:

何故単一細胞実験が必要なのか？

Macro-scale
集団細胞実験

synechocystis
sp. PCC6803

Micro-scale
単一細胞実験



集団細胞実験で得られる情報は平均的な情報である。

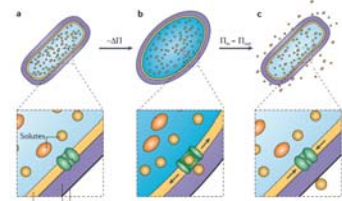
通常の
培地



高浸透圧
溶液



単一細胞実験では個々の詳細な
情報が得ることができる。



機械刺激受容性チャネル
(mechanosensitive channel, MscL)の役割
(Nature reviews, Vol.7, p.110, 2006を改変)

Concept:

1. Cell culture

2. Changed solution

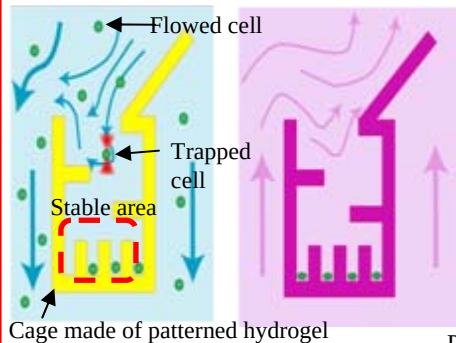
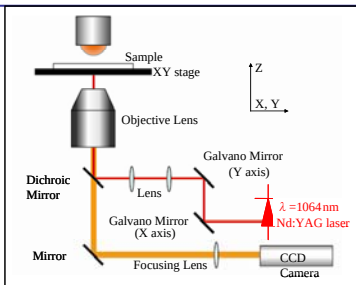


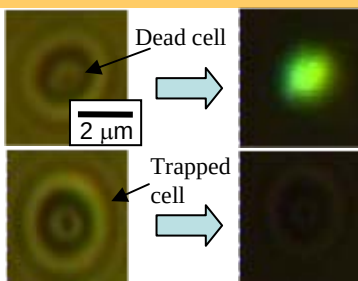
Photo of a cage on a glass wafer

1. 透水性のハイドロゲルで作成したケージの入り口に流れてきた細胞を光ピンセットでトラップし、流れが安定した場所に搬送する。
2. 着色した溶液(高浸透圧溶液等)で溶液置換を行い、細胞の変化を観察する。



Optical arrangement of
optical tweezers.

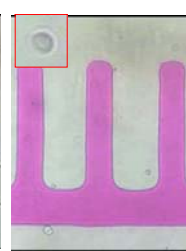
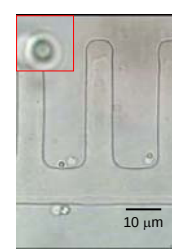
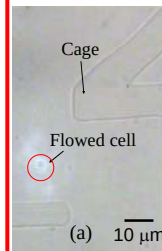
SYTOX Greenを用いた細胞の生死判別



レーザ照射によって
細胞が死なない

生細胞を対物レンズ出射後11.7 mWのレーザを10 min照射した。通常の細胞搬送は2 mWで20 s。

Experiments:

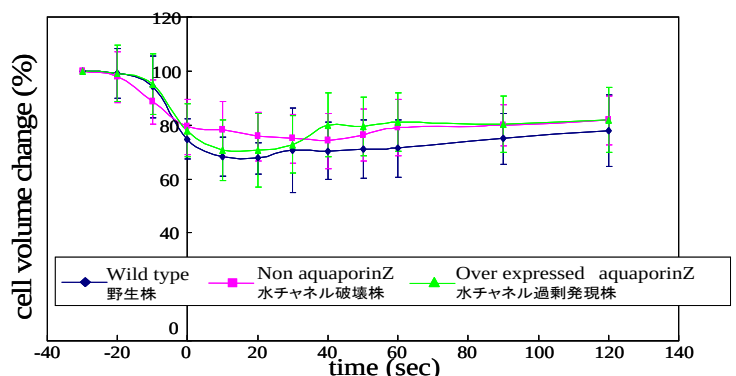


Photos of a trapped and
positioned cell by optical tweezers.

Photos of solution and cells.

(a) A cell trapped. (b) A cell
transported at stagnation.

(a) In water (b) In BG11
and 3M sorbitol and
rhodamine B solution



Graph of cells volume comparisons by hyper osmotic pressure.

Conclusions:

1. リソグラフィによってパタニング可能な透水性のハイドロゲルを使用し、PDMS マイクロチップ内に細胞を保持するための限定空間を製作した。
2. 従来難しかったsynechocystis sp. PCC6803の野生株と遺伝子操作株の高浸透圧ストレスによる大きさの変化の比較を実現した。
3. 様々な溶液を用いて、細胞の応答を観察することにより、ミクロンサイズの微生物の諸特性を解明する一つの手法となり得る。

References:

Fumihito ARAI, Hideyuki MATSUMOTO, Toshiaki SHIJUKU, Nobuyuki UOZUMI, On-chip Cell Manipulation Systems -Part 8: On-chip cell observation system using micropattern of hydrogel-, Robotics and Mechatronics Conference 2008, 2P1-C21, Nagano, 2008