

# 知識天地

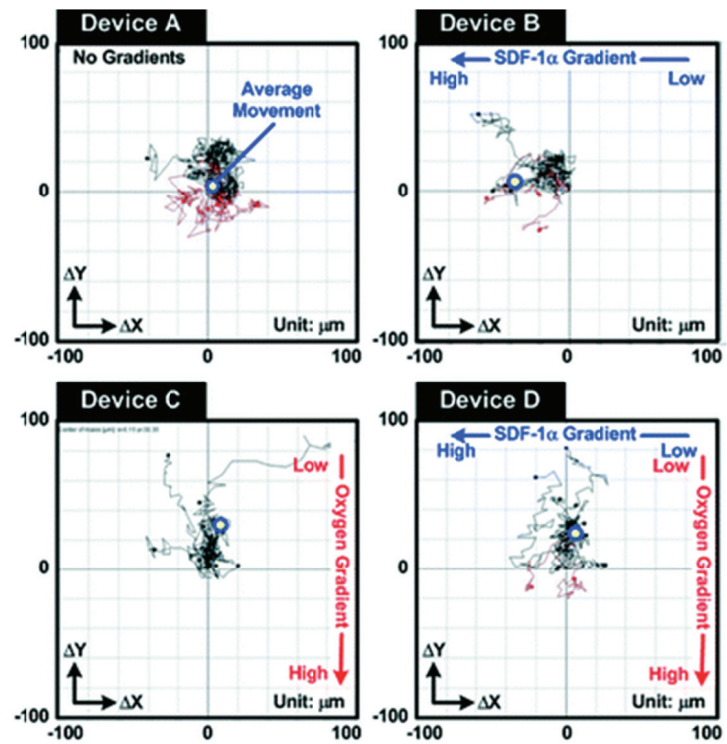
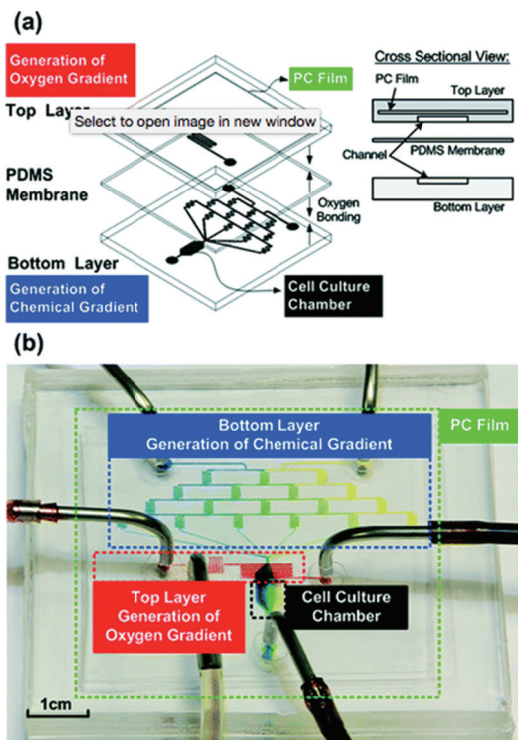
## 微流體細胞培養－談細胞氣體微觀環境的控制 (Microfluidic Cell Culture – Control Cellular Gaseous Microenvironment)

董奕鍾副研究員 (應用科學研究中心)

當 2012 年 8 月美國太空總署 (NASA) 所屬的火星探測車 Curiosity 於火星登陸之後，便對火星的環境進行了一連串的量測與觀察，其中一項人們所好奇的便是火星的大氣組成是否適合人類或其他生物生存。相較於地球及外星的大氣觀察，人們對於我們體內的大氣組成，也就是體內氣體微觀環境及其影響的了解似乎是少了些。於生理環境中，各種氣體的濃度及其空間分布扮演了極重要的角色，例如：氧氣在正常生理和疾病狀態下對於細胞功能皆為重要的調節因子，細胞對於廣泛的氧氣濃度 (Oxygen Tension) 範圍從缺氧 (Hypoxia) 至高氧 (Hyperoxia) 有著非常不同的反應。氧氣對於細胞以各種方式 (包括：代謝途徑和細胞膜完整性) 影響生理反應的變化。在生理系統內的氧氣梯度也在維持體內平衡和誘導急性細胞反應中有著重要的作用，像是血管生成的發展、組織修復、腫瘤的生長和血管重塑與空間氧梯度和氧反應性基因的表達有著密不可分的關係。又例如，一氧化氮 (NO) 氣體在調節基本的生物行為上亦有重要的功能。一氧化氮是最為人知的內皮衍生舒張因子 (Endothelium-derived relaxing factor, EDRF)，內皮細胞分泌的一氧化氮有助於促進平滑肌鬆弛，保持血管內適當的壓力。

雖然，生物學家發現了氣體對於生物體及細胞的重要影響，然而由於氣體在水溶液中的高擴散性，控制氣體微環境一直是生物學家一個具有挑戰性的任務。因此，探討細胞在微觀氣體環境中行為表現的研究將受益於一個在空間和時間域中能夠可靠控制氣體環境的培養平台。然而現今的細胞培養基本上為靜態的培養形式，對於重現類似體內的動態微觀環境具有一定的困難。近幾年來，由於微流體系統中具有穩定層流 (laminar flow) 的特色，經由微流體系統的設計可精確地對流體進行空間及時間上的控制，因此發展了各式各樣的微流體細胞培養平台。但是，現有的微流體元件直接利用不同組成成分的氣體，經由精確的流量控制儀器、繁瑣的管路連接以及存儲壓縮氣體的鋼瓶以達成氣體濃度和梯度的產生。利用此方法，氣體容易通過微流道管壁導致流體通道內培養液的蒸發和氣泡產生，結果使得元件無法進行可靠的長期研究觀察，更無法相容於一般細胞培養箱於其中直接進行實驗，因此現有微流體細胞培養元件面臨著實際應用於生物實驗室的一些挑戰。

為了克服這些挑戰，本實驗室於近幾年開發能夠控制各種氣體微環境的微流體細胞培養平台，該平台採取了空間上的限制化學反應的優勢，利用化學反應產生或吸取細胞培養微流體通道內的氣體，而培養液與化學藥品並沒有直接接觸[1]。化學反應物的流量可以由在生物實驗室常用的注射泵進行精確的控制，利用限制區域中所進行的化學反應，該裝置可以控制氣體的濃度和梯度，有效地利用最少的化學藥品在不改變元件外周遭大氣的組成下進行氣體微觀環境之控制。此外，本實驗室所發展的細胞培養平台無需繁瑣和不可靠的氣體管路連結，整個微流體細胞培養平台，可以直接於一般常見的細胞培養箱中使用，無需額外的儀器以確保最佳的培養溫度和濕度控制。在此利用一個本實驗室近期設計的微流體細胞培養元件以展示氣體微觀環境對於細胞行為的重要性，此元件由聚二甲基矽氧烷 (Polydimethylsiloxane, PDMS) 及聚碳酸酯 (Polycarbonate, PC) 兩種高分子聚合物材料所組成，具有能在化學和氧梯度組合下進行細胞培養的功能 (如圖) [2]。微流體元件由兩層具有微流體通道之PDMS



所組成，兩層微流體通道間由一 PDMS 薄膜分隔，上層結構中包含一個嵌入的 PC 薄膜和一細長彎曲的微流體通道以進行空間上限制的吸氧化學反應，以在下層產生細胞培養時所需之氧氣梯度，而下層結構中包含了產生化學梯度之微流體通道設計及細胞培養區域，所產生的化學和氧氣梯度於實驗中利用螢光素溶液和氧敏感的螢光染料分別加以量測。本試驗是利用所設計的元件進行了細胞（人類肺腺癌上皮細胞，A549）於不同梯度組合下的遷徙實驗，A549 細胞遷移測定的結果發現了 A549 細胞的趨向低氧遷徙（Aerotactic）行為及氧氣梯度在細胞遷移中之重要角色。更為重要的，實驗中證實了趨化因子（Chemokine）和氧氣梯度組合下的細胞遷移結果，不能簡單地疊加單一梯度實驗中的結果。希望藉由這樣的初步實驗結果，讓大家認識到氣體微觀環境的重要，並藉由本實驗室的微流體細胞培養元件的發展，提供生醫相關研究領域簡易使用但具有功能性的實驗研究工具。

#### 參考文獻

[1] Y.-A. Chen, A. D. King, H.-C. Shih, C.-C. Peng, C.-Y. Wu, W.-H. Liao, and Y.-C. Tung, "Generation of Oxygen Gradients in Microfluidic Devices for Cell Culture Using Spatially Confined Chemical Reactions," *Lab Chip*, 11, 3626-3633, 2011.

[2] C.-W. Chang, Y.-J. Cheng, M. Tu, Y.-H. Chen, C.-C. Peng, W.-H. Liao, and Y.-C. Tung, "A Polydimethylsiloxane-Polycarbonate Hybrid Microfluidic Device Capable of Generating Perpendicular Chemical and Oxygen Gradients for Cell Culture Studies," *Lab Chip*, 14, 3762-3772, 2014