

知識天地

微流體細胞培養元件 (Microfluidic Cell Culture Device)

董奕鍾助研究員(應用科學研究中心)

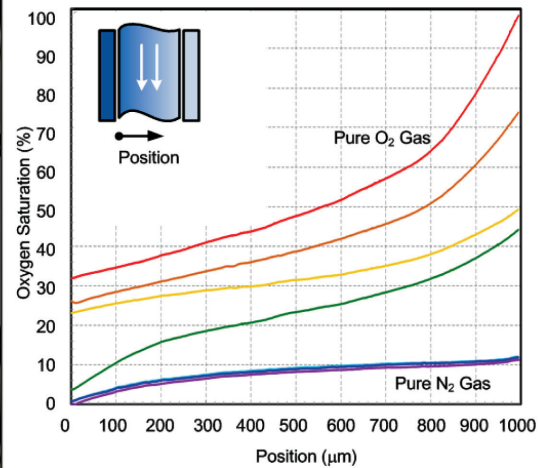
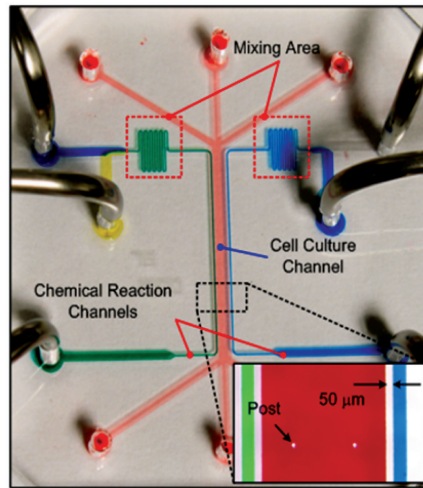
細胞為組成多數生物體的基本單位，細胞感測並反應周遭環境的變化，細胞與鄰近細胞藉由釋放化學物質和產生電子信號相互溝通，了解細胞的行為表現為現今生物醫學重要的基礎研究之一。細胞行為的研究可以概分為兩大類：活體中體內的細胞觀察(*in vivo*)與在試管或培養皿中進行的體外細胞培養(*in vitro*)。由於人們無法對於活體中的所有變因進行精確的控制，在加上對於複雜生物體的有限認知及活體手術的繁複程序，體外細胞培養提供了一個較為簡易且廣為接受的研究模型。從體外細胞培養技術發明以來，基本的培養技術於近一個世紀的發展以來並無太大的改變，培養皿(Petri dish)或相似平台為主要的細胞培養格式。然而，當所需培養的細胞數目、種類增加時，一般的細胞培養方法變得越來越昂貴且操作複雜，更為重要的是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及物理應力具有一定的困難。因此，活體組織內細胞的功能及反應常常無法有效地在一般體外細胞培養中表現出來，如此的差異使利用體外細胞培養了解體內細胞及組織的動態表現及交互作用變得困難，也限制了其作為藥物分析模型的預測能力，甚而誤導了細胞生物的研究結果，因此發展能有效縮小活體內觀察及體外培養兩者之間差距的細胞培養技術成為近幾年來重要的研究課題。

由於半導體產業的蓬勃發展，微製作(microfabrication)技術有著突飛猛進的進步，其中光學微顯影(photo lithography)成為一個成熟並被廣為應用的製作方法。利用這樣的製作技術製造出來具有毫米(10^{-3} m)至數微米(10^{-6} m)寬度流體通道元件的微流體(microfluidics)技術，於近十年來成為一熱門的研究領域。微流體提供了許多優點，例如：較少量的樣品及試劑需求、低耗能、低製作成本及較短的反應時間，使得此技術被廣泛應用於各式分析化學及生醫應用的研究發展。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，進而精進了各式化學及生醫微元件的發展並擴大其應用範圍。現今的微流體系統建構於多種不同的材料上，又因高分子聚合物具有多樣材料特性，使其成為製作微流體系統的重要材料。其中，尤以具有極佳光學透明度、製作簡易性、特殊機械特性及生物相容性之彈性高分子聚合物 (elastomer) - 聚二甲基矽氧烷 (Polydimethylsiloxane, PDMS) 最被為廣泛使用。Harvard University的George M. Whitesides教授團隊提出了利用簡易翻模技術(replica molding)為基礎的PDMS 微流體元件製作技術 - Soft Lithography，更大幅降低了微流體元件製作的困難度及設備所需[1]。利用微流體技術的優點，以及PDMS元件的生物相容性和簡易的製作程序，微流體細胞培養元件成為能於體外模擬各式體內微觀環境，有助於縮小活體內觀察及體外培養兩者之間差距的細胞培養平台。

近幾年來，陸續有研究團隊發表各式能有效重現體內微觀環境的微流體細胞培養元件，例如：University of Michigan, Ann Arbor的Shuichi Takayama教授實驗室發展了可以模擬人類肺泡內固體及液體應力的微流體元件，以研究不同應力組合下對於肺泡表皮細胞所造成的損傷[2]。另外，Harvard University的Donald E. Ingber教授團隊在微流體元件上利用共同培養(co-culture)建構了血氣屏障(blood-air barrier)的組織，並模擬了肺部呼吸時所產生的拉伸應力，重現了肺部對於細菌及發炎反應細胞激素的器官階層功能[3]。此類研究對於具有多個細胞種類及複雜物理應力的肺臟研究，提供了一個具有較佳生理意義的體外研究模型。而Harvard University的Lance L. Munn 教授則利用微流體元件探討了血管內皮細胞受血液中液體應力調控分支的現象，對於血管新生的機制有更進一步的了解[4]。此外，還有許多微流體元件模擬了各式組織及器官包括：血管、血腦屏障、呼吸道、肝臟及腎臟等內的物理及化學微觀環境，使得體外細胞研究模型不再被局限於靜態的培養。

而本實驗室也利用微流體元件於體外建構了類似體內的氣體微觀環境以進行細胞培養，由於氣體具有較高的

擴散速率，因此不易利用一般尺度的儀器在空間上進行精確的控制。然而，包括了氧氣、二氧化碳及一氧化氮等許多氣體對於細胞反應的調控扮演了重要的角色，在此方面微流體技術提供了一個極佳的解決方案。利用微流體技術，本實驗室發展了一個利用化學反應在有限空



間中(~1 mm)能穩定產生氧氣、二氧化碳或一氧化氮梯度的微流體元件(如圖)[5]。利用化學反應的方式，在操作微流體氧氣梯度元件時可以避免使用複雜的氣瓶及氣體管路連結，所設計的元件也將相容於一般使用的細胞培養箱以利進行長期細胞培養實驗。更進一步，藉由微流體元件所提對於微觀環境更佳的控制能力，可利用所發展微流體細胞培養元件在與體內更為類似的微觀氣體環境中進行包括細胞增生、凋亡及遷移分析各式，能提供生物學家對於體內腫瘤細胞轉移、創傷癒合和組織再生有更進一步的了解。

參考文獻

- [1] Y. Xia and G. M. Whitesides, "Soft Lithography," *Annu. Rev. Mater. Sci.*, 28, 153-184, 1998.
- [2] N. J. Douville, P. Zamankhan, Y.-C. Tung, R. Li, B. L. Vaughan, C. F. Tai, J. White, P. J. Christensen, J. B. Grotberg, and S. Takayama, "Combination of Fluid and Solid Mechanical Stresses Contribute to Cell Death and Detachment in a Microfluidic Alveolar Model," *Lab Chip*, 11, 609-619, 2011.
- [3] D. Huh, B. D. Matthews, A. Mammoto, M. Montoya-Zavala, H. Y. Hsin, and D. E. Ingber, "Reconstituting Organ-Level Lung Functions on a Chip," *Science*, 328, 1662-1668, 2010.
- [4] J. W. Song and L. L. Munn, "Fluid Forces Control Endothelial Sprouting," *Proc. Natl. Acad. of Sci. U. S. A.*, 108, 15342-15347, 2012.
- [5] 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.