



All-in-One Unified Microfluidic Chip for Automation of Embryonic Cell Manipulation Based on Micro-Robotics

○Fumihito Arai¹, Shinya Sakuma¹, Yoko Yamanishi¹, Tatsuo Arai², Akiyuki Hasegawa²,
Tamio Tanigawa³, Akihiko Ichikawa³, Osamu Sato⁴, Akihiro Nakayama⁴,
Hiroshi Aso⁵, Mitsuhiro Goto⁵, Seiya Takahashi⁶, Kazutsugu Matsukawa⁶
¹Tohoku Univ., ²Osaka Univ., ³JAIST, ⁴4KHI, ⁵5FHK, ⁶6NILGS

卵子のクローニング作業をワンチップで自動化するには？

Abstract:

We developed a chip for automation of cloning based on a new protocol of cloning. The protocol is removal of the zona pellucida at first stage which contributes to simple on-chip manipulation for automation of cloning. The cloning chip was designed to have 3 parts working for manipulation of oocyte and donor cell. The concept of design is summarized as follows. (1) The oocyte is cut into two parts. (2) The divided half oocyte is sorted with and without nucleus. (3) The half oocyte is coupled with a donor cell, and the coupled oocyte and donor cells are fused by an electrical field. For the current study all-in-one unified microfluidic chip was successfully fabricated for automation of cloning based on the new protocol using micro-robotics.

Background:

クローニング作業の自動化

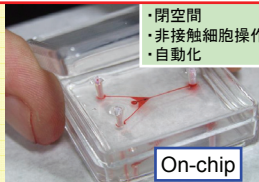


オンチップ細胞操作



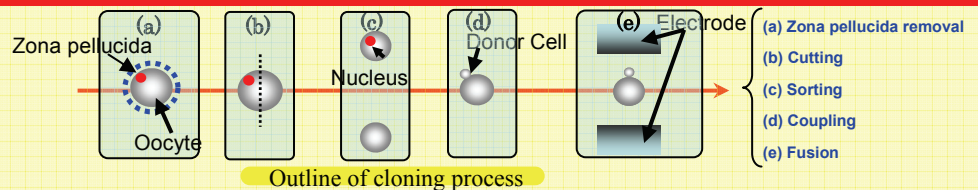
- ・再現性
- ・コンタミネーション
- ・技術の習熟

搬送流路系による核移植

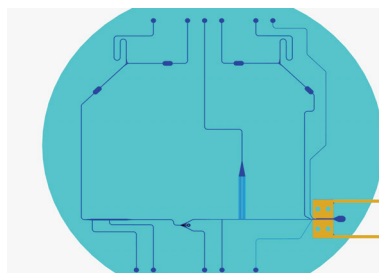


- ・閉空間
- ・非接触細胞操作
- ・自動化

On-chip



Concept of Cloning Chip



- クローニングにおける胚操作要素
1. カッティング
 2. ソーティング
 3. 無核卵細胞とドナー細胞のカップリング

Cutting Part:

機械式マニピュレータにかわり、**流体力**を用いて、透明体除去後の卵細胞の**切断**を行う。

Sorting Part:

ソーティング機能を有する**磁気駆動マイクロソール**を用いて、二分割卵細胞を細胞核ある・なしで**ソーティング**する。

Coupling & Fusion Part:

流体力を用いて卵細胞をトラップし、**誘電泳動力**を用いてドナー細胞とカップリングを行う。

Fabrication:

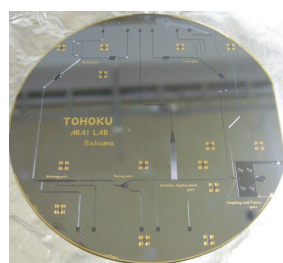
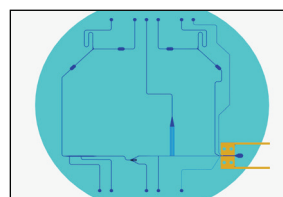
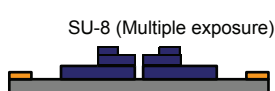
1. Cr/Au etching



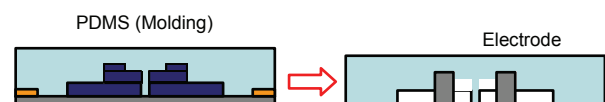
2. Remove OFPR



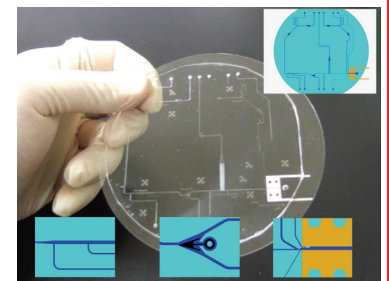
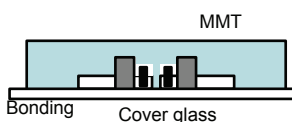
3. Micro-channel patterning



4. Molding and Assembly Electrode



5. Assembly MMT



Conclusion :

・卵子のクローニング作業の自動化のためのワンチップ流路の設計及び製作を完成した。
・クローニングにおける胚操作要素を3つの操作要素に分け、各操作要素に対して基礎実験を行いその妥当性を確認した。
・カッティングパートにおいて、**流体力**を用いたカッティング手法を提案し、画像解析を用いた自動カッティング実験に成功した。
・ソーティングパートにおいては、強磁化したMMTを製作し、バイオチップ内にメッキにて製作されたニードル形状の磁性体によって駆動磁場を集中することで高速駆動を獲得した。さらに、画像解析により、微粒子の自動ソーティング実験に成功した。
・カップリング・融合パートにおいては、流体力と誘電泳動力を用いて、ウシ卵細胞(約120 μm)とドナー細胞(約10 μm)のカップリング・融合を流体回路内で非接触に行うことに成功した。また、バイオチップ内の電極を用いて、カップリングした卵細胞とドナー細胞の融合における **アライメント・融合**に成功し、オンチップ1電極でカップリング・融合が可能であるという知見を得た。

References :

F. Arai, S. Sakuma, Y. Yamanishi, T. Arai, A. Hasegawa, T. Tanigawa, A. Ichikawa, O. Sato, A. Nakayama, H. Aso, M. Goto, S. Takahashi, K. Matsukawa, "All-in-One Unified Microfluidic Chip for Automation of Embryonic Cell Manipulation Based on Micro-Robotics", Proc. 2009 JSME Conf. on Robotics and Mechatronics (ROBOMECH2009), 2A2-K08, Fukuoka, 2009