

# Ett mikroflödessystem med optisk pincett och UV- vis för studier på enskilda biologiska celler

Ahmed Alrifaiy<sup>1</sup>, Kerstin Ramser<sup>1</sup> and Olof Lindahl<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Luleå tekniska universitet/Systemteknik, Medicinsk teknik, Luleå, Sverige

ahmed.alrifaiy@ltu.se

## Introduktion

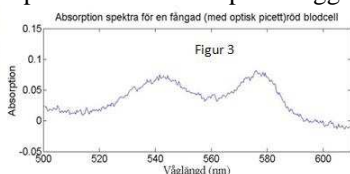
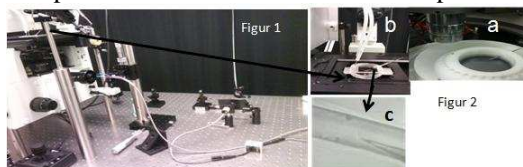
Mikroflödessystem med optisk manipulation har visat sig vara användbara för undersökning av hur enskilda biologiska celler reagerar på olika omgivande mikromiljöer<sup>1</sup>. Svårigheterna har varit att genomföra elektrofysiologiska mätningar i dessa system. Målet med denna studie var att designa ett mikroflödessystem för elektrofysiologiska undersökningar med patch-clamp teknik<sup>2</sup> av en enskild nervcell under optimal kontroll av omgivande miljö.

## Material och metoder

Metoden i vårt mikroflödessystem är att fånga en cell med en optisk pincett<sup>3</sup> och styra cellen genom mikroflödessystemets gastäta kanaler mot en fastgjuten patch-clamp pipett. Cellens miljö varierar genom att flöda olika kemiska lösningar i kanalerna medan cellens elektrofysiologiska signaler registreras med patch clamp. Mikroflödessystemet tillverkades med soft-litografisk teknik<sup>4</sup> av en elastomer polydimethylsiloxane, PDMS som hålldes och härdades på ett positivt mönster på ytan av en kiselplatta (Master). Den färdiga PDMS-skivan med mikrometerfina kanaler avlägsnades från kiselplattan och fästes vid ett täckglas. Ett pumpsystem (neMESYS, Cetoni, Tyskland) kopplades till systemet för införsel av celler samt variationen av cellens omgivning. En integrerad optisk pincett konstruerades med en laser,  $\lambda = 830\text{nm}$ ,  $P = 150\text{mW}$  (Lasiris, StockerYale, USA) som expanderades genom två positiva linser och mha ett spegelsystem in i ett inverterat mikroskop (Olympus IX71, USA). Laserljuset träffade där en dichroisk spegel innan det starkt fokuserades mot provet via ett 100x objektiv (oil-immersion, hög N.A.). Cellens syrebindningstillstånd övervakades med integrerad hög upplöst optisk UV-Vis spektrometer (HR4000, Ocean Optics, USA) där ljuset fångas via en optisk fiber (Fig. 1).

## Resultat och diskussion

Integrering av patch-clamp pipetten med spetsdiameter på  $1\ \mu\text{m}$  i mikroflödessystemets kanal med dimension på  $20\ \mu\text{m}$  gjordes genom att föra en pipett-liknande metallnål genom en kanal av gastätt PolyEtherEtherKetone, PEEK (JRT6004, Scantec, Sverige). Nålen sattes i kontakt med en positiv mikrokanal på kiselplattan lagd i en speciellt designad hållare så att den kunde rotera. Hållaren hade 36 hål i olika lutningar som möjliggjorde en högt preciserad positionering av metallnålen på önskad punkt på den kiselplattan innan påhållning av PDMS (Fig. 2a). I nästa steg ersattes metallnålen med en patch-clamp pipett så att spetsen låg helt i mikrokanalen. Det färdiga mikroflödessystemet placerades på ett täckglas och sattes på det inverterade mikroskopet (Fig. 2b). Initialt har det experimentella arbetet utförts med jästceller och röda blodceller. Optisk spektroskopiska mätningar utfördes där absorptionspektra registrerats på enstaka röda blodceller i mikroflödessystemet med en ingjuten pipett (Fig. 3). Studien är lovande för att det skall gå att utföra fullständiga experiment med ett multifunktionellt mikroflödessystem som tillåter införsel av celler via pumpsystem in i mikroflödessystemet, en cell väljs och fångas av den optiska pincetten och guidas mot pipetten för att utföra patch-clamp mätningar medan cellens omgivning ändras experimentellt. Den framtida utmaningen är att föra ihop alla delmoment i ett komplett minilaboratorium "lab on a chip" som får plats i ett mikroskop för noggranna medicinska undersökningar.



Figur 1: Optisk pincett, optisk spektrometer och mikroflödessystem med ingjuten pipett i ett inverterat mikroskop.

Figur 2: a) Metallnål integreras i mikrokanal i speciellt designad hållare, innan påhållning av PDMS. b) Preliminärt mikroflödessystem med integrerad patch-clamp pipett, kopplad till ett pumpsystem, c) patch-clamp pipett med  $1\ \mu\text{m}$  tipp i  $20\ \mu\text{m}$  mikrokanal.

Figur 3: Absorption spektra för en singel röd blodcell.

## References

- [1] K Ramser and D Hanstorp, *J. Biophoton.*, 3(4),187-206, 2010. [2] B Sakmann and E Neher, *Ann. Rev. Physiology*, 46, 455-472, 1984. [3] M Lang and S Block, *Am. J. Phys.*, 71, 201-215, 2003. [4] Y Xia and G Whiteside, *Ann. Rev. Mater. Sci.* 28, 153-184, 1998.