论文

微流控芯片药物诱导细胞凋亡

汪耀, 李颖, 徐波, 冯晓均, 刘笔锋*

华中科技大学生命科学与技术学院系统生物学系; Britton Chance 生物医学光子学研究中心, 武汉 430074

*通讯作者, E-mail: bfliu@mail.hust.edu.cn

谨以本文祝贺西南大学药学院成立五周年

收稿日期: 2011-01-31; 接受日期: 2011-06-02; 网络版发表日期: 2011-08-23

doi: 10.1360/032011-86

摘要 发展了一种以微流控芯片为平台的药物诱导细胞凋亡的新方法. 选择 HeLa 细胞为对象, 通过浓度梯度芯片形成稳定的药物浓度梯度, 诱导 HeLa 细胞凋亡, 利用荧光能量共振转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)成像系统进行实时监测, 分析细胞对不同浓度化合物的毒性反应. 结果表明, 细胞在顺铂诱导下发生明显的起泡和皱缩, FRET 比率值逐渐降低, 在药物浓度梯度作用下, 芯片每个通道内细胞呈现不同程度的凋亡. 该方法实现了药物浓度梯度诱导细胞凋亡的实时监测和定量分析, 为抗肿瘤药物评价和高通量药物筛选提供了新的手段.

关键词微流控芯片
细胞凋亡
抗肿瘤药物筛选
浓度梯度

1 引言

近年来, 高通量药物筛选技术^[1]的出现, 为实现药物筛选的微量、快速和大规模目标开辟了新的途径. 而基于微加工技术的微流控芯片技术^[2]具有分析速度快、试剂消耗少、易于集成和高通量分析等诸多优点^[3], 能克服高通量药物筛选的限制^[4], 为细胞水平^[5]的药物筛选提供了新的研究平台^[6].

Whitesides 小组^[7]利用微通道层流的扩散混合效应设计了一种微流控芯片, 能够使溶液形成稳定的浓度梯度, 该结构被广泛应用于细胞水平的微流控芯片研究. Thompson 等^[8]利用该原理设计了一种活细胞阵列芯片, 实现了细胞内基因表达的实时监测. Ye 等^[9]构建了一种基于细胞水平的高通量和高内涵药物筛选平台, 将细胞培养、药物浓度梯度生成、细胞受激和细胞响应等过程完全集成在一块只有几平方厘米大小的芯片上, 但是该方法采用荧光试剂对细胞染色, 不能对细胞凋亡过程进行实时监测和准确定量分析. Zhao 等^[10]选用量子点标记细胞, 在芯片上进行药物诱导细胞凋亡研究, 该方法提高了检

测灵敏度, 但量子点对细胞本身具有一定的毒害作用. 利用 FRET 探针检测细胞凋亡是目前研究细胞凋亡的新方法. Dai 等^[11]选用 FRET 探针标记细胞, 实现了对细胞凋亡的在线监测.

本文以 Whitesides 提出的浓度梯度生成原理为基础, 发展了一种适用于细胞水平抗肿瘤药物筛选的微流控芯片, 以表达检测细胞凋亡的 CD3 探针的 HeLa 细胞^[12]为研究对象, 通过该芯片生成的药物浓度梯度诱导细胞凋亡, 根据 FRET 比率值的变化来判断细胞凋亡的程度. 该方法实现了药物浓度梯度诱导细胞凋亡的实时监测和定量分析, 有望为细胞水平的高通量药物筛选提供新的技术支持.

2 实验部分

2.1 实验材料

稳定表达 CD3 探针的 HeLa 细胞株来源于武汉国家光电实验室生物医学光子学研究中心张智红小组; DMEM 细胞培养液、新生小牛血清、胰酶、青霉

素和链霉素均购自 Gibco. 化学放大负性光刻胶 SU8 Photoepoxy GM1070 (Gersteltec Sarl, Switzerland), Sylgard 184 型聚二甲基硅氧烷(PDMS, 上海), 固化剂(Dow Corning Corp., USA), 丙二醇单甲基醚乙酸酯(PGMEA, 苏州市晶协高新电子材料有限公司), 荧光素(Fluorescein, 国药集团化学试剂有限公司), 顺铂(DDP, 山东罗欣药业股份有限公司).

2.2 实验仪器

JKG-2A 型光刻机(上海学泽光学机械有限公司), KW-4A 型台式匀胶机(中国科学院微电子研究所), PDC-GC-M 等离子清洗器(成都维克光谱仪器技术发展有限公司), SMZ-B₂ 连续变倍体视显微镜(重庆奥特光学仪器有限公司), DZX-1 型真空干燥箱(上海福玛实验设备有限公司), 倒置荧光显微镜(IX71, Olympus, Japan), 高压汞灯(USH-102D, Olympus, Japan), 八通道高压电源(XCDY-微流控智能高压电源, 山东化工研究所, 中国), 高灵敏度 CCD 成像系统(Coolsnap CF2 Monochrome, USA), 细胞培养箱为 Innova CO-170 (New Brunswick Scientific Co., Inc., USA), Image-Pro Plus 软件(Media Cybernetics, USA).

2.3 芯片设计与制作

2.3.1 芯片设计

本实验设计的微流控芯片如图 1 所示, 上端两入口分别为细胞培养液和药物溶液入口, 下端为细胞进样入口. 流体层通道高为 50 μm , 宽为 75 μm , 每个细胞培养腔为 200 μm $\times$ 500 μm , 可形成 8 个浓度的药物浓度梯度.

2.3.2 芯片制作

该微流控芯片采用软光刻技术制作^[13], 芯片制作的关键工艺是阳模的制作. 本实验采用的光刻胶为 SU8 Photoepoxy GM1070, 其微通道高度设计约为 50 μm , 采用的匀胶程序为: 600 r/min $\times$ 18 s、1700 r/min

$\times$ 60 s(转盘加速度为 100 r/min), 曝光时间为 70 s.

阳模制作完毕后, 首先将 PDMS 预聚体按照底物(Base)和固化剂(Curing agent)的质量比为 10:1 混合均匀, 抽真空除去气泡. 然后, 加入 2~3 g 到一次性塑料培养皿中心, 将培养皿放到匀胶机上以 600~800 r/min 低速匀胶 5~10 s, 使 PDMS 预聚体均匀铺在整个培养皿底面. 将带有微结构的 SU-8 阳模轻轻放到培养皿, 与 PDMS 预聚体均匀接触. 然后, 将 10~12 g PDMS 预聚体倒入培养皿浸没硅片, 并除去气泡. 将培养皿放在热平板上 65 $^{\circ}\text{C}$ 固化 4 h. 最后, 将固化好的 PDMS 薄层从阳模上剥离, 即可得到带有微结构 PDMS 薄层. 将 PDMS 薄层和玻璃基片用氧等离子体处理后, 立即将其贴合, 从而获得可用的 PDMS 微流控芯片.

2.4 芯片浓度梯度表征

2.4.1 计算流体力学软件模拟

为优化芯片结构, 我们采用计算流体力学方法进行模拟^[14]. 为使模拟更接近真实情况, 采用的二维模型. 在建立模型前, 作几点假设: (1) 流体不可压缩且流体浓度变化不会造成其黏度和密度变化; (2) 流体之间内部相互作用力和重力忽略不计; (3) 通道壁完全光滑; (4) 通道表面张力忽略不计; (5) 流体为连续流体^[15].

对于流体混合过程中动量与质量传递方程的求解分成两步, 第一步, 求解纳维-斯托克斯方程(方程式 1)和连续性方程(方程式 2):

$$\rho \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial \tau} + \rho \mathbf{u} \cdot \nabla \mathbf{u} = -\nabla P + \mu \nabla^2 \mathbf{u} \quad (1)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{u} = 0 \quad (2)$$

其中 ρ 是流体密度, $\mathbf{u}$ 是速度矢量, P 是压强, μ 是流体运动粘度.

流体的浓度分布可以将上述两方程求得的速度矢量代入方程 3 求解对流扩散方程.

$$\frac{\partial c}{\partial \tau} + \mathbf{u} \cdot \nabla c = D \nabla^2 c \quad (3)$$

其中 c 是流体的浓度, D 是流体的扩散系数. 雷诺数定义为:

$$Re = \frac{\bar{u} D_h}{\nu} \quad (4)$$

其中 $\bar{u}$ 是流体在通道中的平均流速, D_h 是通道的

图 1 芯片结构图和实物图

当量直径, $D_h = \frac{wh}{w+h}$, w 是通道宽度, h 是通道高度.

选用物质的参数设置^[16]: 密度为 10^3 kg/m^3 , 粘度为 $10^{-3} \text{ kg/(m}\cdot\text{s)}$, 扩散系数为 $5 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ (荧光素扩散系数). 溶液浓度在两入口分别设置为 0 与 1. 所有变量的收敛准则设为低于 1×10^{-8} . 在研究芯片内转角对混合带来的影响时, 保证网格疏密划分一致.

2.4.2 浓度梯度表征

先配制 10^{-2} mol/L 的荧光素母液, 然后稀释配制 $50 \mu\text{mol/L}$ 的荧光素溶液. 细胞培养液和 $50 \mu\text{mol/L}$ 的荧光素溶液利用微型注射泵, 以同样流速分别从两个进样口注入, 然后用 CCD 成像仪拍摄芯片上 8 个通道的暗场荧光图, 用 Image-Pro Plus 处理图片, 计算每个通道的平均荧光强度^[17].

2.5 细胞培养与进样

用含小牛血清(10%)、青霉素(100 mg/mL)和链霉素(100 mg/mL)的双抗 DMEM 培养基作为 HeLa 细胞培养液, 于 5% CO_2 、95% 饱和湿度和 37 °C 的细胞培养箱内培养^[18].

先用 75% 的乙醇冲洗芯片通道 5 次, 再用无菌水冲洗 5 次, 紫外照射 30 min, 进行消毒处理^[19]. 用胰酶消化细胞, 取出 1 mL 细胞悬浮液用于细胞进样, 该悬浮液的细胞密度为 $1.0 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$. 用细胞培养液冲洗芯片通道 5 次, 然后将细胞悬浮液注入芯片上的细胞进样端, 利用重力进样, 待细胞进入细胞培养腔后, 把芯片放入细胞培养箱, 进行细胞培养. 每 24 h 更换一次细胞培养液, 以保证细胞培养时营养更新和代谢物的排除.

2.6 药物诱导 HeLa 细胞凋亡

2.6.1 基于 96 孔板的药物刺激

在 96 孔板上培养稳定表达 CD3 探针的 HeLa 细胞, 用顺铂溶液孵育细胞, 摸索诱导细胞凋亡的顺铂浓度以及发生细胞凋亡的时间.

2.6.2 基于浓度梯度芯片的药物刺激

选择稳定表达 CD3 探针的 HeLa 细胞为研究对象, 在芯片上注入细胞, 贴壁培养 72 h 后, 细胞培养液和 $500 \mu\text{g/mL}$ 的顺铂溶液用微型注射泵, 以相同流速 $0.1 \mu\text{L/min}$ 同时从两个进样口注入, 通过药物浓度

梯度刺激细胞, 利用 FRET 成像系统进行成像和实时监测, 分析细胞对不同浓度药物的毒性反应.

3 结果与讨论

3.1 芯片制作

PDMS 是目前微流控技术中被广泛采用的一种材料, 由于其具有很好的透气性, 因此在 PDMS 芯片内细胞生长时所需要的氧气完全可通过 PDMS 的通透性获得, 而不需要在培养液中溶解氧气, 且 PDMS 具有良好的透光性和生物相容性, 有利于芯片内细胞培养和实时观察.

本实验通过 PDMS 与玻璃键合制作浓度梯度芯片^[20]. 芯片如图 1 所示, 每个细胞培养腔为 $200 \mu\text{m} \times 500 \mu\text{m}$, HeLa 细胞从细胞进样端注入到细胞培养室, 在细胞小室内贴壁生长. 通过在两个入口端同时注入细胞培养液和顺铂溶液, 在 8 个通道形成不同的药物浓度梯度. 该芯片既可用于细胞培养, 又可用于药物浓度梯度的形成.

3.2 浓度梯度表征

微流控芯片浓度梯度形成机制是基于微通道层流的扩散混合效应. 细胞培养液和药物溶液以同样流速分别从两个进样口注入, 不同浓度液流不断分流、混合、扩散, 最终形成 8 个浓度梯度.

本实验采用计算流体力学方法进行模拟, 通过入口流速的改变摸索最佳浓度梯度形成条件. 分别选择入口流速为 5.0、1.0、0.5、0.1 和 $0.05 \mu\text{L/min}$ 进行模拟, 根据模拟结果最终选取流速 $0.1 \mu\text{L/min}$. 当流速为 $0.1 \mu\text{L/min}$ 时, 芯片内 8 个通道可形成稳定的浓度梯度, 浓度梯度的回归系数为 0.99996, 图 2 为 $0.1 \mu\text{L/min}$ 流速时流体力学方法模拟图.

根据模拟得到的优化条件, 实验采用与药物顺铂分子量(300.05)相近的荧光染料荧光素(332.31)代替药物进行芯片的药物浓度梯度表征实验. 以不同流速进样, 分析不同流速对应的浓度梯度关系, 结果如图 3 所示. 通入浓度为 $50 \mu\text{mol/L}$ 的荧光素溶液时, 芯片可形成 8 个稳定的不同浓度梯度; 流速 5.0、1.0、0.5、0.1、 $0.05 \mu\text{L/min}$ 对应的浓度线性回归系数分别为 0.95111、0.99074、0.99664、0.99979、0.98124. 当流速高于 $0.1 \mu\text{L/min}$ 时, 流体在上游通道扩散不充分, 导致下游 8 个细胞培养腔内浓度梯

图2 0.1 $\mu\text{L}/\text{min}$ 流速时流体力学方法模拟图

度线性关系不好,当流速低于 0.1 $\mu\text{L}/\text{min}$ 时,流体速度过慢,上游通道各浓度之间存在互相干扰,导致下游 8 个细胞培养腔内浓度梯度偏离线性.考虑到流速越低,对细胞的剪切力^[21]越小,所以选择 0.1 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的流速,此流速下既可形成较好的浓度梯度,又可降低剪切力对细胞凋亡的影响.

3.3 顺铂诱导 CD3-HeLa 细胞凋亡

目前,研究细胞凋亡^[22]的方法大多数是细胞凋亡后用荧光染料进行染色^[23],对细胞凋亡进行定性研究^[24].该方法的缺陷是不能对细胞凋亡过程进行

实时监测^[25],并且不能对细胞凋亡进行定量分析.因此,本实验选择表达检测细胞凋亡的 CD3 探针的 HeLa 细胞为对象,该 FRET 探针以荧光蛋白 CFP 为供体, DsRed 为受体,对环境的变化性质稳定,由于其供体和受体间光谱窄绕小,可精确计算 FRET 比率值^[26]的变化.药物诱导细胞凋亡时 caspase-3 被激活, caspase-3 切割探针的酶切识别位点, FRET 探针的受体和供体分离, FRET 比率值降低.

$$R_{\text{FRET}} = \frac{I_{\text{DsRed}}}{I_{\text{CFP}}}$$

公式中 R_{FRET} 指 FRET 比率值, I_{DsRed} 和 I_{CFP} 分别指 DsRed 和 CFP 通道成像结果中感兴趣区域的荧光强度.在对照组实验中,细胞没有受到药物刺激时, FRET 比率值的波动范围在 ± 0.01 之间;在药物作用后,如果 FRET 比率值的波动范围在 ± 0.01 之间,则认为细胞没有发生凋亡,如果 FRET 比率值相对于初始值至少降低 0.05,则认为细胞发生凋亡(通过形态学分析,细胞发生凋亡后, FRET 比率值相对于初始值至少降低 0.05).

为了监测活细胞内 caspase-3 的激活,先将稳定表达 CD3 探针的 HeLa 细胞接种到 96 孔板中,待细胞完全贴壁 72 h 后,加入终浓度为 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的顺铂,然后利用 FRET 成像系统成像,选择细胞任意一个区域作为感兴趣的区域,将该区域的 FRET 比率值绘制成为随时间变化的曲线图.结果如图 4 所示, HeLa 细胞在初始状态时的 FRET 的比率值为 0.487,顺铂作用于细胞后,细胞开始起泡和皱缩, FRET 比率值逐渐降低,在 18 h 时 FRET 比率值降至 0.400,而

图3 浓度梯度表征. (a) 荧光素浓度梯度图; (b) 不同流速对应的浓度梯度曲线图

图 4 基于 96 孔板的药物诱导 HeLa 细胞凋亡成像. (a) 顺铂诱导细胞凋亡图: 左边为 CFP 通道荧光图, 右边为 DsRed 通道荧光图; (b) 顺铂诱导细胞凋亡的 FRET 比率图

对照组 HeLa 细胞的 FRET 比率值始终维持在 0.487 左右. 通过绘制这种 FRET 比率值随时间变化的酶活动力学曲线, 从而实现了顺铂诱导细胞凋亡中 caspase-3 激活的实时动态监测.

通过 96 孔板摸索了诱导细胞凋亡的顺铂浓度以及发生细胞凋亡的时间^[27]后, 在芯片上进行药物诱导细胞凋亡实验时, 选择顺铂初始浓度为 500 $\mu\text{g/mL}$, 通过芯片形成稳定的药物浓度梯度, 然后对顺铂诱导 HeLa 细胞凋亡进行实时监测. 结果如图 5 和 6 所示, 通道 1 在 68.54 $\mu\text{g/mL}$ 顺铂作用下细胞凋亡比率为 1%, 通道 8 在 500 $\mu\text{g/mL}$ 顺铂作用下细胞凋亡比率为 99%, 而中间通道的细胞凋亡比率依次为 8%、18%、37%、59%、73%、85%. 8 个细胞培养腔内的细胞在不同浓度的顺铂的诱导下, 出现不同程

图 6 顺铂作用于细胞 24 h 后 8 个通道细胞凋亡比率图

度的起泡和皱缩, 每个通道内细胞的 FRET 比率值也呈现不同程度的变化. 根据细胞凋亡比率值的变化, 分析细胞对不同浓度药物的毒性反应, 研究药物作用机理, 从而实现细胞水平抗肿瘤药物的筛选.

4 结论

本文发展了一种浓度梯度芯片, 选择 HeLa 细胞为对象, 实时监测顺铂诱导细胞凋亡的整个过程, 并且通过细胞 FRET 比率值的变化, 研究细胞在不同浓度药物诱导下的凋亡. 结果表明, 随着细胞凋亡的进行(细胞起泡和皱缩), FRET 比率值降低, 证明在顺铂诱导细胞凋亡过程中 caspase 蛋白酶被激活了. 同时, 芯片内细胞在不同浓度药物诱导下, 出现不同程度的凋亡. 该方法既完成了对药物诱导细胞凋亡的实时监测, 又定量分析了药物对细胞的毒性作用, 有望实现细胞水平药物筛选的高通量、低消耗、低成本和快速高效的评价.

图 5 基于芯片的药物诱导 HeLa 细胞凋亡成像. (a) 顺铂作用于细胞 24 h 后诱导凋亡的明场图; (b) 顺铂作用于细胞 24 h 后 CFP 单通道荧光图; (c) 顺铂作用于细胞 24 h 后 DsRed 单通道荧光图. 图下方数字 1~8 为芯片通道 1~8

致谢 本工作得到国家自然科学基金(30970692, 20875035 & 30800286), 国家重点基础研究发展计划(2007CB704507 & 2007CB914203)资助, 特此致谢.

参考文献

- 1 Frearson JA, Collie IT. HTS and hit finding in academia – From chemical genomics to drug discovery. *Drug Discov Today*, 2009, 14: 1150–1158
- 2 Whitesides GM. The origins and the future of microfluidics. *Nature*, 2006, 442: 368–373
- 3 Feng XJ, Du W, Luo QM, Liu BF. Microfluidic chip: Next-generation platform for systems biology. *Anal Chim Acta*, 2009, 650: 83–97
- 4 Dittrich PS, Manz A. Lab-on-a-chip: Microfluidics in drug discovery. *Nat Rev Drug Discov*, 2006, 5: 210–218
- 5 Chen P, Feng XJ, Hu R, Sun J, Du W, Liu BF. Hydrodynamic gating valve for microfluidic fluorescence-activated cell sorting. *Anal Chim Acta*, 2010, 663: 1–6
- 6 Sun J, Chen P, Feng XJ, Du W, Liu BF. Development of a microfluidic cell-based biosensor integrating a millisecond chemical pulse generator. *Biosens Bioelectron*, 2011, 26(8): 3413–3419
- 7 Jeon NL, Dertinger SKW, Chiu DT, Chio IS, Stroock AD, Whitesides GM. Generation of solution and surface gradients using microfluidic systems. *Langmuir*, 2000, 16(22): 8311–8316
- 8 Thompson DM, King KR, Toner M, Jayaraman A. Dynamic gene expression profiling using a microfabricated living cell array. *Anal Chem*, 2004, 76: 4098–4103
- 9 Ye NN, Qin JH, Shi WW, Liu X, Lin BC. Cell-based high content screening using an integrated microfluidic device. *Lab Chip*, 2007, 7: 1696–1704
- 10 Zhao L, Cheng P, Li JX, Zhu JJ. Analysis of nonadherent apoptotic cells by a quantum dots probe in a microfluidic device for drug screening. *Anal Chem*, 2009, 81: 7075–7080
- 11 Dai W, Zheng YZ, Luo KQ, Wu HK. A prototypic microfluidic platform generating stepwise concentration gradients for real-time study of cell apoptosis. *Biomicrofluidics*, 2010, 4: 0241011–02410114
- 12 Lin JQ, Zhang ZH, Yang J, Zeng SQ, Liu BF, Luo QM. Real-time detection of caspase-2 activation in a single living HeLa cell during cisplatin-induced apoptosis. *J Biomed Opt*, 2006, 11(2): 0240111–0240116
- 13 Xia YN, Whitesides GM. Soft lithography. *Annu Rev Mater Sci*, 1998, 28: 84–153
- 14 Tung KY, Yang JT. Analysis of a chaotic micromixer by novel methods of particle tracking and FRET. *Microfluid Nanofluid*, 2008, 5: 749–759
- 15 Menger V, Josserand J, Girault HH. Mixing processes in a zigzag microchannel: Finite element simulations and optical study. *Anal Chem*, 2002, 74: 4279–4286
- 16 Tofteberg T, Geschke O. A novel passive micromixer: Lamination in a planar channel system. *Microfluid Nanofluid*, 2010, 8: 209–215
- 17 Luo CX, Sun MH, Huang JI. Application of microfluidic chip to realize controllable pH gradient. *Chin Sci Bull*, 2005, 50(4): 365–367
- 18 Faley SL, Copland M, Cooper JM. Microfluidic single cell arrays to interrogate signalling dynamics of individual, patient-derived hematopoietic stem cells. *Lab Chip*, 2009, 9: 2659–2664
- 19 Gao D, Wei HB, Guo GS, Lin JM. Microfluidic cell culture and metabolism detection with electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometer. *Anal Chem*, 2010, 82: 5679–5685
- 20 Ziaie B, Baldi A, Lei M, Gu Y, Siegel RA. Hard and soft micromachining for BioMEMS: Review of techniques and examples of applications in microfluidics and drug delivery. *Adv Drug Deliver Rev*, 2004, 56(2): 145–172
- 21 Liu K, Pitchimani R, Pappas D. Cell culture chip using low-shear mass transport. *Langmuir*, 2008, 24(11): 5955–5960
- 22 Wlodkowic D, Skommer J, Darzynkiewicz Z. SYTO probes in the cytometry of tumor cell death. *Cytom Part A*, 2008, 73: 496–507
- 23 Martin RM, Leonhardt H, Cardoso MC. DNA labeling in living cells. *Cytom Part A*, 2005, 67: 45–52
- 24 Wlodkowic D, Skommer J, Faley S. Dynamic analysis of apoptosis using cyanine SYTO probes: From classical to microfluidic cytometry. *Exp Cell Res*, 2009, 315(10): 1706–1714
- 25 Wlodkowic D, Faley S, Zagnoni M, Cooper JM. Microfluidic single-cell array cytometry for the analysis of tumor apoptosis. *Anal Chem*, 2009, 81(13): 5517–5523
- 26 Zhou SX, Lin JQ, Du W, Zhang ZH, Luo QM, Liu BF, Dai YQ. Monitoring of proteinase activation in cell apoptosis by capillary electrophoresis with bioengineered fluorescent probe. *Anal Chim Acta*, 2006, 569: 176–181

- 27 Lin JQ, Zhang ZH, Zeng SQ, Zhou SX, Liu BF, Liu Q, Yang J, Luo QM. TRAIL-induced apoptosis proceeding from caspase-3-dependent and-independent pathways in distinct HeLa cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 346: 1136–1141

Analysis of pharmaceutical-induced cell apoptosis by microfluidic chip

WANG Yao, LI Ying, XU Bo, FENG XiaoJun & LIU Bi-Feng

Britton Chance Center for Biomedical Photonics, Department of Systems Biology, College of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China

Abstract: Investigation on cell apoptosis is an important method for antitumor drug screening at the cellular level. This paper presented a microfluidic chip in which a stable drug concentration gradient of cisplatin was generated to induce the apoptosis of Hela cells. Cell apoptosis could be monitored in real-time through fluorescence resonance energy transfer (FRET) imaging system. The results showed that the cells bubbled and shrunk in morphology when the apoptosis happened, accompanied by gradually reduction of FRET signals. The degree of apoptosis proved to be drug concentration dependent on quantitation. This method provided a new way for anticancer drug evaluation at cellular level, with obvious advantages of high throughput, low cost and automation capability.

Keywords: microfluidic chip, apoptosis, antitumor drug screening, concentration gradient