

基于微流控芯片的秀丽隐杆线虫的研究进展*

杨剑萍 杨帆 李新春 于艳艳 陈缙光**

(中山大学药学院, 广州 510006)

摘要 微流控芯片技术作为近年来最前沿的分析技术之一, 已经在化学、生物学、医药学等研究领域取得了突破性的进展. 微流控芯片具有高通量、微型化和多功能集成化等独特优势, 已经成为生物医学研究的新平台之一, 被越来越多地应用于秀丽隐杆线虫的研究. 综述了基于微流控芯片上的秀丽隐杆线虫在生物医学领域中的研究进展, 侧重介绍了微流控芯片在线虫的自动化固定、行为学、衰老与发育学、神经学、药物筛选及基因筛选等六大方面所取得的最新进展, 并展望了微流控芯片的应用前景.

关键词 微流控芯片, 秀丽隐杆线虫, 生物医学

学科分类号 Q6-33, TN409

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00079

1 秀丽隐杆线虫简介

秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)是一种常见的小型土壤线虫, 属于小杆亚纲小杆目小杆总科, 以大肠杆菌 Op50 为食, 在土壤中自由生长. 它全身透明, 具有雄性和雌雄同体两种性别, 自然繁殖的线虫绝大多数为雌雄同体. 秀丽隐杆线虫成虫长约 1 mm, 体径约 50 μm , 在实验室容易保存和饲养, 20°C 标准实验室条件下, 线虫从受精卵发育为成虫仅需 3.5 天, 在受精后第 26、33、41、51 h 进行连续的几次蜕皮, 经过 L1、L2、L3、L4 期发育为成虫, 野生型线虫在 20°C 可存活约 20 天^[1-2].

秀丽隐杆线虫是一种经典的模式生物, 目前有关秀丽隐杆线虫在发育遗传方面的相关研究获得了两次诺贝尔生理学或医学奖(2002 年和 2006 年)^[3-5]. 秀丽隐杆线虫遗传背景清楚、个体结构简单、生活史短、基因组测序完成^[6]. 通过比较基因组学得出, 线虫的蛋白质组序列中至少有 40% 的人类同源基因^[7], 这为科研人员通过秀丽隐杆线虫研究药物作用的内在机理奠定了基础. 因此, 秀丽隐杆线虫被广泛应用于遗传与发育生物学、行为与神经生物学、衰老与寿命、人类遗传性疾病、药物筛选、环境生物学等研究领域^[8-9].

2 微流控芯片的优势

一直以来, 在实验室研究秀丽隐杆线虫基本上是采用手工操作方式, 这种方式重复性和平行性较差, 成本较高, 且难以实现高通量筛选的要求. 微流控芯片技术作为近年来炙手可热的前沿技术之一, 具有高通量、大规模、平行性、低成本、多功能集成、微型化以及可以在接近生理环境下运行等特点, 被看成是最有可能满足高通量和高内涵筛选要求的研究平台之一, 已开始在线虫研究中崭露头角^[10-11].

近年来, 在微流控芯片上从事秀丽隐杆线虫研究工作的科学家主要有: 哈佛大学的 Whitesides 团队、洛克菲勒大学的 Bargmann 课题组、密歇根大学的 Chronis 课题组、佐治亚理工学院的 Lu-Hang 课题组、麻省理工大学的 Yanik 实验室、加拿大麦克斯特大学的 Gupta 课题组、中国科学院大连化

* 国家自然科学基金资助项目(20727006, 20875105, 21075139)和广东省科技计划资助项目(2008A030102009).

** 通讯联系人.

Tel: 020-39943044, E-mail: chenzz@mail.sysu.edu.cn

收稿日期: 2011-04-18, 接受日期: 2011-05-12

学物理研究所林炳承-秦建华课题组, 作者课题组目前也开始应用微流控芯片开展秀丽隐杆线虫的研究工作. 本文将从基于微流控芯片上的秀丽隐杆线虫的自动化固定、行为学、衰老与发育学、神经学、药物筛选、基因筛选等六大方面展开综述.

3 基于微流控芯片的秀丽隐杆线虫的研究进展

3.1 自动固定线虫的微流控芯片

由于秀丽隐杆线虫体型细长, 具有非球形结构和较强的自主活动能力, 解剖研究线虫的内在结构或高分辨成像时往往需要把线虫相对固定. 传统固定线虫的方法主要有两种: 胶水黏附和药物麻醉, 传统的固定方法要么费时, 要么会对线虫造成不可复苏的损伤, 不利于对线虫的进一步深入研究. 微流控芯片作为一种新的分析实验平台, 其微米级的通道尺寸和可塑的 PDMS(聚二甲基硅氧烷)芯片结构, 为操纵线虫带来了极大的优势. 微流控芯片有望取代传统的方法而成为新的线虫研究平台^[12]. 目前, 已有学者开始致力于利用微流控芯片平台操纵线虫并取得了良好的进展. 如 Whitesides 研究团队^[13]开发了一种可用于在线自动固定单条线虫的 PDMS 芯片, 此芯片结构由 128 个阵列通道组成, 每个通道是锥形结构, 可以快速分别固定 128 条线虫, 芯片结构如图 1 所示:

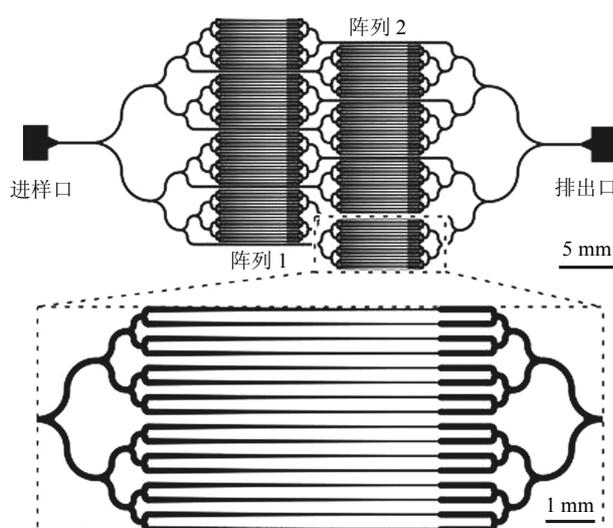


Fig. 1 Design of an array of 128 worm clamps^[14]

图 1 固定线虫的 128 通道阵列结构示意图^[14]

插图是一个单元(16 通道)的放大图.

这组芯片阵列为线虫的后续研究(如形态学分析、显微外科手术以及高通量的荧光成像等试验)提供了一种有用的研究工具. 这是一种简单的机械固定方法, 其精细的微通道尺寸结构还可以方便测量大量线虫的身体尺寸.

除此以外, 也有学者提出非机械固定线虫的方法, 如 Chung 等^[15]利用线虫对温度的敏感性, 构建了一个带温度控制的微流控装置, 采用冷却的循环液体, 利用 PDMS 薄膜的导热性, 可以在短时间内加热和冷却线虫. 当线虫的身体温度降到 4℃ 左右, 就可以有效固定线虫进行高分辨成像, 为后续的突变菌株分选提供了一个有效的操作平台. 又如 Chokshi 等^[16]提出了两种新颖的固定线虫的办法, 其一是利用 CO₂ 产生的微环境的麻痹作用, 其二是利用 PDMS 薄膜的弹性来固定单条线虫, 这种芯片不会造成线虫的明显损伤, 为后续线虫的生长发育和神经再生研究提供了有效的固定方法.

目前在微流控芯片上固定线虫的研究方法主要有三种: 机械法(包括锥形微通道和 PDMS 薄膜的弹力)、CO₂ 法、温控法. 这三种方法各有利弊, 机械法芯片结构比较简单, 线虫还可以有局部的身体活动, 且不会对线虫造成明显的神经损伤, 但是不能完全地固定整个线虫身体让它完全不动, 故在高分辨成像操作上存在不足. 而 CO₂ 法、温控法可以解决这方面的问题, 但是由于外源的化学物质或温度刺激可能会对线虫的神经系统带来一些不可预知的损害.

3.2 在秀丽隐杆线虫行为学方面的研究

秀丽隐杆线虫含有与高等动物接近的众多神经递质, 在感受到机械接触、温度、化学物质、电场等环境刺激下, 会产生一系列的趋利避害、学习和记忆行为, 是研究行为可塑性的理想模式生物^[14].

目前已有学者设计灵活多样的微流控芯片研究线虫的运动行为和趋向行为^[17]. Bargmann 课题组^[18]开发了一种研究线虫嗅觉行为的方法, 设计了迷宫式的圆盘结构芯片, 研究秀丽隐杆线虫在不利的致病菌和有利的食物菌环境下的趋利避害行为. 研究发现线虫对熟悉的非致病菌存在嗅觉偏好, 而对致病菌表现厌恶的排斥行为. 通过这个实验他们揭示了线虫在致病菌环境下, 通过转录和后转录机制增加 5-羟色胺在化学传感神经元中的表达, 并指出 5-羟色胺含量的增加可能代表了致病菌的负面刺激. 此项工作是首次将 PDMS 芯片用于秀丽隐杆线虫的研究, 也是首次用于线虫对细菌偏好型学习

的研究, 这为研究线虫的行为学习能力提供了一个很好的研究思路和研究方法, 值得我们研究工作者借鉴。

在此基础上, 陆续有学者开展秀丽隐杆线虫的行为学研究, 如 Madou 等设计了一组 CD 圆盘状微流控芯片, 开展秀丽隐杆线虫在线培养和生理学方面的研究, 此芯片可以方便进行线虫培养和行为特征的研究^[9]。又如, Gupta 等首次在微流控芯片上开展了线虫的趋电性行为研究^[20], 他们设计了一个集成有电极的简单微流控芯片, 观察线虫在施加电场时的趋电性, 发现在一定的电场强度范围内线虫定向负极游动, 游动速度不受电场力的影响。同时论证了电场力作为有效的刺激可以控制线虫的运动方向而不影响其存活性和繁殖力。实验装置主要由 4 部分组成: 线虫操作、观察影像、电场刺激和微流控 PDMS 芯片(储液池内埋电极)。这个实验提供了一种自动有效地控制、定向和转移线虫的方法。

目前在微流控芯片上操纵秀丽隐杆线虫大部分是采用液体培养基和液体缓冲液, 线虫在液体中的运动方式是游动, 而线虫在自然界土壤里的运动方式是爬行, 为了研究线虫在爬行状态下的行为特征和神经生理活动, Lockery 等^[21]和 Park 等^[22]利用微流控芯片的可塑性构建了模拟人工土壤, 研究线虫在自由爬行时一些基本的神经行为特征。

现阶段在微流控芯片上从事秀丽隐杆线虫的行为学研究主要侧重在表观的运动形态、简单的学习行为以及趋电性等方面的研究, 有关秀丽隐杆线虫复杂的神经行为学研究还值得进一步的研究探索。

3.3 在秀丽隐杆线虫衰老与发育学方面的研究

有关秀丽隐杆线虫在衰老方面的研究报道很多, 其中 Wood 课题组^[23]、Bargmann 课题组^[24]等在这一领域做了很多深入研究。但在微流控芯片平台上开展线虫衰老发育方面的研究工作却鲜有报道。

目前相关的研究工作已见报道的论文主要有 2 篇, 其中一篇是关于 Whitesides 团队^[25]设计了一种线虫寿命芯片, 这种芯片包含了 16 个独立的微培养室, 每个微室培养单条线虫, 临近培养室旁边有线虫捕获陷阱, 用来短时固定线虫。此芯片可以观察线虫从 L4 期开始的整个寿命期的身体变化和运动, 研究线虫与衰老相关的表型。另一篇是 Lu-Hang 等^[26]报道的用于线虫发育学研究的微流控芯片系统, 这是一组 PDMS 与凝胶杂合的独特的

微流控芯片结构, 该系统包括流体控制层和加热层两部分。流体控制层采用气动阀, 流动层包括线虫和细菌的进样口、废液排出口以及用来培养单条线虫的 8 个培养室, 培养室用于秀丽隐杆线虫从 L1 期开始的长期培养和观察, 加热层是采用了一种生物相容性凝胶 Pluronic F127, 这种凝胶对热敏感, 可以在 2℃ 内互相转化, 用来短时间固定线虫, 以便进行细胞和亚细胞水平的高分辨成像。此芯片可以对线虫准确定位, 方便对线虫进行长期的生物发育学研究。

受目前的芯片技术以及在线研究线虫的复杂性等因素的限制, 在微流控平台上从事秀丽隐杆线虫的衰老与发育学方面的研究还停留在粗浅水平, 随着微机械加工技术的日臻完善, 可以设计出更集成化和更多功能化的微流控芯片, 用于秀丽隐杆线虫的衰老发育学内在机理的研究。

3.4 在秀丽隐杆线虫神经学方面的研究

长期以来, 科学家们一直在努力阐明导致阿尔茨海默氏症和帕金森氏症等神经系统疾病的发病机制, 从而找到治疗这些疾病的特效药。但高等动物神经系统非常复杂, 这为直接研究高等动物的神经退化和神经再生带来了极大的困难, 秀丽隐杆线虫因其神经系统简单, 是研究神经系统的理想对象^[7]。

Yanik 课题组^[28-29]一直致力于线虫神经退化和神经再生方面的研究工作。近年来应用微流控芯片技术开展秀丽隐杆线虫神经学方面的研究并取得了一系列的研究进展^[30-34]。如他们 2010 年又报道了^[35]一套新颖的结合成像技术的微流控平台, 采用飞秒激光纳米外科技术(femtosecond laser nanosurgery technique)^[36], 用于秀丽隐杆线虫神经再生因子的筛选。芯片采用特定的微通道结构设计, 可进行高通量准确操纵线虫, 采用激光纳米外科手术对活线虫进行神经细胞消融, 开展线虫活体内神经退行性和再生性研究。此微流控装置由弹性材料制作的流通层和控制层组成, 流通层包括微通道和微培养室, 微通道用于线虫的操纵、固定、影像和分析物的传递, 微培养室用于线虫的培养和刺激。控制层主要是通过软体膜受压后发生弯曲, 从而阻断或改变溶液流通, 拦截单条线虫, 然后透过透明玻璃在高分辨率显微镜下对其进行影像操作。Yanik 等通过试验鉴别出可以促进神经再生因子 staurosporine。

此外, Lu-Hang 等^[37]也采用微创外科手术对线虫的神经细胞进行消融, 研究线虫在消融某些神经

元细胞后的一些神经行为, 这种微流控装置可以实现自动化、高通量的细胞消融, 可以作为线虫早期神经发育如突触再塑和轴突导向的有用研究工具.

Bargmann 课题组^[38]设计了一组线虫芯片, 研究主导线虫嗅觉行为的神经回路. Chronis 等^[39-40]在此基础上改进 Bargmann 设计的线虫芯片, 构建了自动控制线虫的微流控平台. 它主要由两部分组成: 微流控线虫芯片和带影像系统的落射荧光显微镜. 此系统可以快速完成线虫载入、神经元识别和线虫卸载过程, 实现短时间内在线完成上百个线虫的感觉神经元的钙瞬时转移成像, 研究线虫在有利的和有害的药物刺激下神经传导通路的变化.

秀丽隐杆线虫一直是生物学家们研究神经系统的优秀模式生物, 但大部分的实验室基本上是采用手工操作方式, 难以实现高通量的研究要求, 微流控芯片技术的出现, 为实现自动化、高通量研究线虫的神经系统带来了希望的曙光.

3.5 秀丽隐杆线虫在药物筛选中的应用

目前在微流控芯片上的药物筛选大多数是采用细胞进行筛选的, 这是一种针对作用靶点的体外筛选方法. 由于药物的疗效与体内药物的吸收、代谢以及毒性等紧密相关, 所以药物的体内筛选日益受到重视. 秀丽隐杆线虫以其独特的生理特点, 容易实现高通量筛选, 越来越多地被应用于体内的药物筛选研究.

Clausell-Tormos 等^[41]首次提出了液滴包裹线虫的设想, 他们设计了一种新型的可以产生液滴的微流控芯片平台, 在液滴里面包裹哺乳动物细胞和线虫, 这为采用秀丽隐杆线虫进行高通量的药物筛选提供了一个很好的思路. 目前在微流控芯片平台上开展线虫的药物筛选研究工作的主要代表人物是中国的林炳承-秦建华课题组, 他们设计了两组多功能液滴阵列微流控芯片, 用来研究神经毒素 MPTP (1-甲基-4-苯基-1, 2, 3, 6-四氢吡啶)及其活性代谢物 MPP(1-甲基-4-苯基吡啶)、6-OHDA(6-羟基多巴胺)对线虫的运动行为、神经功能以及氧化应激能力的影响^[42-43]. 芯片包括线虫的包裹、液滴形成、转运和固定等不同的功能单元. 液滴阵列排放在芯片通道内, 每个液滴包裹单条线虫. 其中第一组芯片的结构如图 2 所示, 第二组芯片是在第一组芯片结构的基础上做了部分的改进, 在通道内引入了浮力来捕获液滴, 这组芯片集成了 3 个功能: 液滴产生器、液滴捕获陷阱阵列和固定单条线虫的锥形通道. 此微流控液滴阵列芯片可以用来筛选致帕

金森疾病的神经毒素以及作为系列微反应器用于抗帕金森药物的定量评价及筛选.

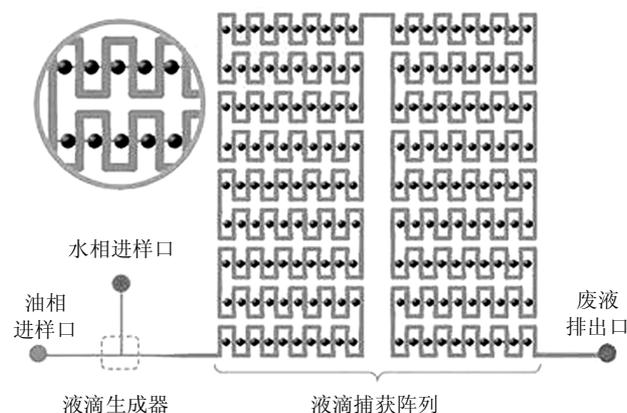


Fig. 2 Schematic diagram of the droplet-based microfluidic device^[44]

图 2 液滴微流控芯片示意图^[44]

两个功能区分别是 T 接头液滴生成器和液滴固定阵列. 液滴在 T 接头处连续产生并固定在通道阵列, 插图是 10 个液滴阵列的放大图.

秀丽隐杆线虫由于结构简单、生命周期短和易于实现高通量筛选等突出优点, 已经在体内药物筛选研究中发挥了重要的作用, 但基于微流控芯片的体内药物筛选研究工作尚处于初始阶段, 由于微流控芯片作为生物学研究工具的独特优势, 未来微流控芯片在药物筛选中的应用会更加广泛.

3.6 在秀丽隐杆线虫基因筛选中的研究

随着功能基因组时代的到来, 解码人类致病基因或致病相关因子, 从而寻找治疗基因缺陷的特效药物成为当代科学家们的使命. 基因组全序列已被阐明的秀丽隐杆线虫是功能基因组学研究的优秀模型^[6], 借助微流控芯片平台进行线虫基因组学研究也是目前的研究热点之一.

目前, Lu-Hang 课题组^[45]已经开始在微流控芯片上摸索秀丽隐杆线虫基因筛选研究工作, 如借助计算机控制软件对线虫(*C. elegans*)进行高通量基因筛选. 他们首次在微流控芯片上采用诱变处理大批量线虫获得突变菌株, 通过计算机直觉控制软件鉴别新的线虫突变菌株, 借助计算机控制软件可以加速基因表型筛选和实现高通量筛选.

近年来, 超高速激光纳米外科技术作为一门新兴的技术, 已经在生物医学研究领域中得到越来越

广泛的应用, 由于其特有的微创性和精确性, 目前, 已有学者开始将这一技术引进微流控芯片平台, 进行细胞或微小生物体(如线虫)的研究^[46].

Ben-Yakar 等^[47]综述了超高速激光纳米外科技术在微流控芯片上的一些应用情况, 并指出这一技术不仅大大推动了亚细胞操作从体外到活体内的水平飞跃, 而且有助于加速大范围基因筛选的生物学研究进程. Guo 课题组^[36]首次尝试应用超高速激光纳米技术, 在微流控芯片平台上对秀丽隐杆线虫进行基因组筛选研究, 设计了一组“纳米轴切”芯片, 用来研究线虫神经再生和基因筛选, 他们的工作踏出了应用微流控芯片进行线虫基因筛选研究的第一步. 由于微流控芯片技术作为一种新的生物学研究工具还存在很多不完善的方面, 目前在微流控芯片平台上进行线虫基因研究还处于探索研究阶段, 现阶段在微流控芯片上进行线虫基因研究还存在不少困难, 还没有取得很大的突破. 这些问题的解决都有赖于未来芯片技术和纳米技术的发展.

4 总结与展望

具有微型化、集成化的微流控芯片作为近年来最前沿的分析技术之一, 已经在化学、生物学、医药学等领域取得了广泛的应用研究. 本文侧重综述了基于微流控芯片上的秀丽隐杆线虫在生物医学研究中的最新进展. 微流控芯片作为一个新的生物学研究平台具有独特的优势, 但同时也存在诸多挑战: 如难以高效处理大批量线虫, 不容易精确控制微通道环境以及准确固定线虫的局部, 很难对线虫进行自动化的大规模的分型、筛选和成像^[9]. 随着微机械加工技术和分析技术的日臻成熟, 我们相信在不久将来这些问题都可以得到有效的解决.

微流控芯片作为秀丽隐杆线虫的实验平台还处于早期研究开发阶段, 目前已有的研究工作基本上是在侧重在线虫的固定、动态行为以及神经刺激反应等方面, 在微流控芯片上开展秀丽隐杆线虫的研究还有待进一步深入. 随着微电子技术的发展, 微流控芯片在未来的应用会更加多元化, 我们期待微流控芯片能够在自动化、功能化和规模化上更加完善, 能够更加广泛地应用到系统生物学和人类疾病的研究^[44].

参 考 文 献

- [1] Grant B D, Wilkinson H A. Functional genomic maps in *Caenorhabditis elegans*. *Curr Opin Cell Biol*, 2003, **15**(2): 206-212
- [2] Lee J, Nam S, Hwang S B, *et al.* Functional genomic approaches using the nematode *Caenorhabditis elegans* as a model system. *Biochem Mol Biol*, 2004, **37**(1): 107-113
- [3] Brenner S. The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 1974, **77**(1): 71-94
- [4] Sulston J E, Schierenberg E, White J G, *et al.* The embryonic cell lineage of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol*, 1983, **100**(1): 64-119
- [5] Fire A, Xu S, Montgomery M K, *et al.* Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 1998, **391**(6669): 806-811
- [6] Sternberg P W. Working in the post-genomic *C. elegans* world. *Cell*, 2001, **105**(2): 173-176
- [7] 酒亚明, 张蓉颖, 吴政星. 线虫基因显微注射和整合技术——设备, 操作与指南. *生物化学与生物物理进展*, 2009, **36**(5): 648-652
- [8] Jiu Y M, Zhang R Y, Wu Z X. *Prog Biochem Biophys*, 2009, **36**(5): 648-652
- [9] Buckingham S, Sattelle D. Strategies for automated analysis of *C. elegans* locomotion. *Invert Neurosci*, 2008, **8**(3): 121
- [10] Crane M M, Chung K, Stirman J, *et al.* Microfluidics-enabled phenotyping, imaging, and screening of multicellular organisms. *Lab Chip*, 2010, **10**(12): 1509-1517
- [11] Psaltis D, Quake S R, Yang C. Developing optofluidic technology through the fusion of microfluidics and optics. *Nature*, 2006, **442**(7101): 381-386
- [12] Feng X, Du W, Luo Q, *et al.* Microfluidic chip: Next-generation platform for systems biology. *Analytica Chimica Acta*, 2009, **650**(1): 83-97
- [13] Ben-Yakar A, Chronis N, Lu H. Microfluidics for the analysis of behavior, nerve regeneration, and neural cell biology in *C. elegans*. *Curr Opin Neurobiol*, 2009, **19**(5): 561-567
- [14] Hulme S E, Shevkopyas S S, Apfeld J, *et al.* A microfabricated array of clamps for immobilizing and imaging *C. elegans*. *Lab Chip*, 2007, **7**(11): 1515-1523
- [15] Rankin C H, Beck C D, Chiba C M. *Caenorhabditis elegans*: A new model system for the study of learning and memory. *Behav Brain Res*, 1990, **37**(1): 89-92
- [16] Chung K, Crane M M, Lu H. Automated on-chip rapid microscopy, phenotyping and sorting of *C. elegans*. *Nat Methods*, 2008, **5**(7): 637-643
- [17] Chokshi T V, Ben-Yakar A, Chronis N. CO₂ and compressive immobilization of *C. elegans* on-chip. *Lab Chip*, 2009, **9**(1): 151-157
- [18] Gray J M, Karow D S, Lu H, *et al.* Oxygen sensation and social feeding mediated by a *C-elegans* guanylate cyclase homologue. *Nature*, 2004, **430**(6997): 317-322
- [19] Zhang Y, Lu H, Bargmann C I. Pathogenic bacteria induce aversive olfactory learning in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 2005, **438**(7065): 179-184
- [20] Kim N, Dempsey C M, Zoval J V, *et al.* Automated microfluidic compact disc (CD) cultivation system of *Caenorhabditis elegans*. *Sens Actua B-Chem*, 2007, **122**(2): 511-518

- [20] Rezaei P, Siddiqui A, Selvaganapathy P R, *et al.* Electrotaxis of *Caenorhabditis elegans* in a microfluidic environment. *Lab Chip*, 2010, **10**(2): 220–226
- [21] Lockery S R, Lawton K J, Doll J C, *et al.* Artificial dirt: Microfluidic substrates for nematode neurobiology and behavior. *J Neurophysiol*, 2008, **99**(6): 3136–3143
- [22] Park S, Hwang H, Nam S W, *et al.* Enhanced *Caenorhabditis elegans* locomotion in a structured microfluidic environment. *PLoS One*, 2008, **3**(6): e2550
- [23] Wood W B. Aging of *C. elegans*: Mosaics and mechanisms. *Cell*, 1998, **95**(2): 147–150
- [24] Murphy C T, McCarroll S A, Bargmann C I, *et al.* Genes that act downstream of DAF-16 to influence the lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 2003, **424**(6946): 277–284
- [25] Hulme S E, Shevkoplyas S S, McGuigan A P, *et al.* Lifespan-on-a-chip: Microfluidic chambers for performing lifelong observation of *C. elegans*. *Lab Chip*, 2010, **10**(5): 589–597
- [26] Krajniak J, Lu H. Long-term high-resolution imaging and culture of *C. elegans* in chip-gel hybrid microfluidic device for developmental studies. *Lab Chip*, 2010, **10**(14): 1862–1868
- [27] Bargmann C I. Neurobiology of the *Caenorhabditis elegans* genome. *Science*, 1998, **282**(5396): 2028–2033
- [28] Yanik M F, Cinar H, Cinar H N, *et al.* Neurosurgery: Functional regeneration after laser axotomy. *Nature*, 2004, **432**(7019): 822
- [29] Wu Z, Ghosh-Roy A, Yanik M F, *et al.* *Caenorhabditis elegans* neuronal regeneration is influenced by life stage, ephrin signaling, and synaptic branching. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(38): 15132–15137
- [30] Rohde C B, Zeng F, Gonzalez-Rubio R, *et al.* Microfluidic system for on-chip high-throughput whole-animal sorting and screening at subcellular resolution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(35): 13891–13895
- [31] Zeng F, Rohde C B, Yanik M F. Sub-cellular precision on-chip small-animal immobilization, multi-photon imaging and femtosecond-laser manipulation. *Lab Chip*, 2008, **8**(5): 653–656
- [32] Rohde C, Gillel C, Samara C, *et al.* High-throughput *in vivo* genetic and drug screening using femtosecond laser nano-surgery, and microfluidics. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, 2008: 2642
- [33] Rohde C B, Gillel C, Samara C, *et al.* Microfluidic *in vivo* screen identifies compounds enhancing neuronal regeneration. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, 2009: 5950–5952
- [34] Steinmeyer J D, Gillel C L, Pardo-Martin C, *et al.* Construction of a femtosecond laser microsurgery system. *Nat Protoc*, 2010, **5**(3): 395–407
- [35] Samara C, Rohde C B, Gillel C L, *et al.* Large-scale *in vivo* femtosecond laser neurosurgery screen reveals small-molecule enhancer of regeneration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(43): 18342–18347
- [36] Guo S X, Bourgeois F, Chokshi T, *et al.* Femtosecond laser nanoaxotomy lab-on-a-chip for *in vivo* nerve regeneration studies. *Nat Methods*, 2008, **5**(6): 531–533
- [37] Chung K, Lu H. Automated high-throughput cell microsurgery on-chip. *Lab Chip*, 2009, **9**(19): 2764–2766
- [38] Chalasani S H, Chronis N, Tsunozaki M, *et al.* Dissecting a circuit for olfactory behaviour in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 2007, **450**(7166): 63
- [39] Chronis N. Worm chips: Microtools for *C. elegans* biology. *Lab Chip*, 2010, **10**(4): 432–437
- [40] Chokshi T V, Bazopoulou D, Chronis N. An automated microfluidic platform for calcium imaging of chemosensory neurons in *Caenorhabditis elegans*. *Lab Chip*, 2010, **10**(20): 2758–2763
- [41] Clausell-Tormos J, Lieber D, Baret J C, *et al.* Droplet-based microfluidic platforms for the encapsulation and screening of mammalian cells and multicellular organisms. *Chem Biol*, 2008, **15**(5): 427–437
- [42] Shi W W, Qin J H, Ye N N, *et al.* Droplet-based microfluidic system for individual *Caenorhabditis elegans* assay. *Lab Chip*, 2008, **8**(9): 1432–1435
- [43] Shi W W, Wen H, Lu Y, *et al.* Droplet microfluidics for characterizing the neurotoxin-induced responses in individual *Caenorhabditis elegans*. *Lab Chip*, 2010, **10**(21): 2855–2863
- [44] Whitesides G M. The origins and the future of microfluidics. *Nature*, 2006, **442**(7101): 368–373
- [45] Crane M M, Chung K, Lu H. Computer-enhanced high-throughput genetic screens of *C. elegans* in a microfluidic system. *Lab Chip*, 2009, **9**(1): 38–40
- [46] Bourgeois F, Ben-Yakar A. Femtosecond laser nanoaxotomy properties and their effect on axonal recovery in *C. elegans*. *Opt Express*, 2008, **16**(8): 5963
- [47] Ben-Yakar A, Bourgeois F. Ultrafast laser nanosurgery in microfluidics for genome-wide screenings. *Curr Opin in Biot*, 2009, **20**(1): 100–105

Advances on Biomedical Research in *Caenorhabditis elegans* Based on Microfluidic Device*

YANG Jian-Ping, YANG Fan, LI Xin-Chun, YU Yan-Yan, CHEN Zuan -Guang**

(School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510006, China)

Abstract Microfluidic chip, which is one of the most fascinating analytical technologies in recent years, has made striking progress in chemistry, biology, medicine and other research fields. Several unique properties of microfluidics, such as high-throughput, miniaturization and multifunctional integration, make them ideal for their applications in biomedical research. More and more efforts have been dedicated to the research of *Caenorhabditis elegans* on a microfluidic platform for the past ten years. The related progress for biomedical purpose of *Caenorhabditis elegans* was reviewed. In particular, advances on microfluidic-based researches have been focused. The automated immobilization, behaviors, development, neurology, drug screening and gene screening of *Caenorhabditis elegans* were summarized. The prospects for the applications of microfluidic device are also discussed.

Key words microfluidic chip, *Caenorhabditis elegans*, biomedical research

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00079

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (20727006, 20875105, 21075139) and Science and Technology Planning Project of Guangdong Province (2008A030102009).

**Corresponding author.

Tel: 86-20-39943044, E-mail: chenzg@mail.sysu.edu.cn

Received: April 18, 2011 Accepted: May 12, 2011