

プログラム名： セレンディピティの計画的創出による新価値創造

PM名： 合田 圭介

プロジェクト名： 基本システム開発・細胞計測技術開発・細胞分取技術開発

委 託 研 究 開 発

実 施 状 況 報 告 書 (成 果)

平成 28 年度

研究開発課題名：

セレンディピターのための細胞計測技術および細胞分取技術の開発

研究開発機関名：

国立大学法人東京大学

研究開発責任者

合田 圭介

# I 当該年度における計画と成果

## 1. 当該年度の担当研究開発課題の目標と計画

バイオ産業（医療、環境、エネルギー、農林水産など）における細胞評価は精度（質）と速度（量）の間のトレードオフの上に成り立っている。本プログラムでは、このトレードオフを克服するために、細胞の「砂浜から一粒の砂金」を高速・高精度に発見・解析し、セレンディピティ（偶然で幸運な発見）を計画的に創出する細胞検索エンジンを開発する。従来の細胞計測技術では検出・分取できなかったバイオ産業的に高価値な細胞を有効活用し、新規のイノベーションを創出する。そのための具体的な取り組みは 9 つのプロジェクトからなり、当該年度に本研究開発機関が担当する各チームの目標は以下のとおりである。

### プロジェクト 1 チーム 1 マイクロ流体チップ開発

Serendipity Lab の整備を開始し、技術開発を一極集中させる。同時に、各要素技術の親和性やスループットを考慮した上で、最適な組合せでのセルソーター設計・各技術融合を進める。

### プロジェクト 3 チーム 1 STEAM 法の開発

バイオ燃料や血液検査等に向けた応用検証を進めるとともに、また、感度を向上することで STEAM の FOM の向上を継続して目指す。また、特異性向上のため、STEAM システムを位相検知により屈折率分布を直接観測可能な形態にアップグレードする。このため、試料からの光と干渉させる光を新たに追加するため、位相変調器、光学遅延器、ミラー、レンズ、マウント等の部材を追加する。

### プロジェクト 3 チーム 2 高速蛍光イメージング法の開発

バイオ燃料や血液検査等に向けた応用検証を進めるとともに、開発した高速蛍光フローサイトメトリーの性能向上、特に感度や特異性の向上に注力する。特に本開発技術が取得情報量の多いイメージングサイトメトリーであるため、従来の FACS よりも特異性を向上させるポテンシャルを持つ点に着目し、1 細胞あたりの情報量として従来の 1000 倍以上を得ることで精度を向上させることを目指す。このため前年度中に新たに検討の必要が生じたライトシート光学系を立ち上げる。さらに、細胞速度を計測するための専用の実験装置を新たに立ち上げ、ポンプ、流路デバイスの評価を行うだけでなく、最終的な装置における細胞速度モニタの必要性など、本プログラムの開発に必要な様々な事項が明らかにする。

なお、本チームはイメージングを主体とした技術開発であるため、イメージング情報をもとに細胞同定技術開発を行うプロジェクト 4 と密接に関係している。すなわち、プロジェクト 4 が要求するイメージデータの性能と、本チームの技術性能との摺り合わせが重要であり、密に議論を行う必要がある。さらに上記議論を通して本チームの課題抽出、アイデア創出を行うことで、更なる開発技術の向上を図る。

### プロジェクト3 チーム4 DCC 法

バイオ燃料や血液検査等に向けた応用検証を進めるとともに、DCC フローサイトメトリーの性能向上を継続する。

なお、平成 27 年末及び平成 28 年末にステージゲートの評価が行われる。とくに、第 2 回ステージゲートでは DCC のスループット向上、特異性向上、感度向上と応用検証ができていることを目指す。

なお、本チームは分光・イメージングを主体とした技術開発であるため、スペクトル・イメージング情報をもとに細胞同定技術開発を行うプロジェクト 4 と密接に関係している。すなわち、プロジェクト 4 が要求するスペクトル・イメージデータの性能と、本チームの技術性能との摺り合わせが重要であり、密に議論を行う必要がある。さらに上記議論を通して本チームの課題抽出、アイデア創出を行うことで、更なる開発技術の向上を図る。

### プロジェクト5 チーム2 高速細胞分取技術開発

誘電泳導を用いた分取デバイスによる希少サンプルの分取にも挑戦する。具体的には、ハイブリドーマやアプタマーの分取を想定している。また、誘電泳動技術のみに限定せず、表面音響の高速分取機構との組み合わせも視野に入れて、プロジェクト 1~4、およびプロジェクト 5・チーム 1, 3~4 と協力し、従来技術を遥かに超える 10,000 cells/s のスループットにおいて、Recovery > 0.7 と、> 99.9999% の Purity の達成を可能とする新しい技術ブレークスルーに挑戦する。

## 2. 当該年度の担当研究開発課題の進捗状況と成果

### 2-1 進捗状況

#### プロジェクト1 チーム1 マイクロ流体チップ開発

Serendipiter のいくつかの技術要素を組み合わせた Serendipiter mini を試作し、細胞の検出から分取までをマイクロ流体チップ上で行うシステムを構築した。また、Serendipiter Lab の整備も進めた。

#### プロジェクト3 チーム1 STEAM 法の開発

特異性向上を狙った位相画像取得システムを完成させ、これにより通常の透過像と位相画像の両方によるイメージングサイトメトリー実験を行った。位相画像を組み合わせることで、培養条件の異なるユーグレナ細胞を高い精度で見分けることができることを示した。この他に、従来の透過像を利用したイメージングサイトメトリーによる血栓検出の実験を成功させた。画像によって血栓と血小板、白血球を識別し、本技術が新たな診断方法に応用できる可能性を示した。次年度では応用の幅を広げ、がん細胞の検出を目指す予定である。

#### プロジェクト3 チーム2 高速蛍光イメージング法の開発

前年度に新規アイデアに基づき設計を行った複数の高速蛍光イメージング装置につき、システムの構築を行い、評価を行った。いずれの方式も目標とするスループット  $N > 50,000$  cells/s に相当する速度での蛍光画像の撮像に成功した。いずれの方式でも生細胞からの蛍光画像取得に成功しており、十分な感度と特異性を有していることが見込まれる。

#### プロジェクト3 チーム4 DCC 法

GHZ-DCC 法およびシングルレーザー FT-CARS 法を用いたフローサイトメトリーの原理検証実験を行った。システムの改良を行い、計測速度、感度の改善を行った。

### プロジェクト 5 チーム 2 高速細胞分取技術開発

開発している細胞分取デバイスを、実際のバイオサンプルに対して適用することを想定して、デバイスの安定運転方法に関する問題の洗い出しと改善を行った。さらに、改善したデバイスを用いて細胞へのダメージの評価を行い、我々の分取デバイスの優位性を示した。

## 2-2 成果

### プロジェクト 1 チーム 1 マイクロ流体チップ開発

細胞の検出から分取までをマイクロ流体チップ上で行うシステムを実現した。その過程で、流路内における細胞整列技術として流体制御技術と超音波技術を組み合わせる手法を提案し、効果を確認した。また、整備を進めた Serendipity Lab は、培養環境および光学実験環境を整え、実験開始可能な状態まで整った。

### プロジェクト 3 チーム 1 STEAM 法の開発

位相画像を用いたイメージングサイトメトリーにより、培養条件の異なるユーグレナ細胞を識別できた。この研究成果は学術専門誌 *Cytometry Part A* にて発表された。また、画像情報を圧縮することで撮影速度を向上させるコンプレッシブセンシングの技術が STEAM 法に応用できることを示し、本成果は学術専門誌 *IEEE Photonics Journal* で発表された。さらに、透過像のみによる血栓検出に成功し、本成果は国際学会 *SPIE Photonics West* で発表された他、論文投稿され、現在審査中である。この他に、がん細胞の薬剤感受性を画像から測定する研究も進めており、本成果は国際学会 *SPIE Photonics West* 及び *SPIE Photonics Asia* で発表され、現在論文投稿準備中である。

### プロジェクト 3 チーム 2 高速蛍光イメージング法の開発

前年度より開発を進めている複数の独自の蛍光イメージング方式（共焦点顕微鏡アプローチ、広視野顕微鏡アプローチ）において、特異性・感度の向上を狙い装置の改良を進めた。具体的には S/N 比の向上と、多色化（2色および3色）を行い、目標とする特異性 $>10^6$ 、感度 $>0.8$ に相当する画像の取得に成功した。また、前年度に新規に発案したライトシート光学系によるアプローチにおいても目標スループット 50,000 cells/s に相当する速度での画像取得に成功した。このほか、共焦点蛍光顕微鏡アプローチにおいてはさらにスループットを 2-4 倍程度に向上するマルチラインフォーカス技術や、さらなる特異性・感度向上のための 3D イメージング技術を開発した。

上記の成果は国際学会 *CLEO*, *SPIE Photonics West*、*ICHSIP'31* や第 77 回応用物理学会秋季学術講演会、レーザー学会学術講演会第 37 回年次大会（招待講演）、日本化学会第 97 春季年会で発表を行った。また、機関誌 *Opulse* において本技術の紹介記事を執筆した。また、共焦点顕微鏡アプローチ、広視野顕微鏡アプローチのアイデアについて計 2 件の特許出願を行った。

### プロジェクト 3 チーム 4 DCC 法

GHz-DCC 法、および、シングルレーザー FT-CARS 法を用いたフローサイトメトリーの原理実証実験を行い、ポリマービーズの広帯域 CARS スペクトルを 1000 粒子/秒で取得することに成功した。また、ヘマトコッカス細胞中のカロテノイドであるアスタキサンチンの CARS スペクトルを、取得することに成功した。

### プロジェクト 5 チーム 2 高速細胞分取技術開発

誘電泳動を用いた手法により、藻類（ユーグレナ）を液滴内に閉じ込めて、2,000 events/s、Recovery >~1、>98.8%の Purity の性能で行うことに成功した。さらに、液滴内でユーグレナを1か月程度培養することにも成功した。液滴技術より、細胞の分泌物を分析するなど、Serendipiter に新たな価値を付与できる可能性を示した。

## 2-3 新たな課題など

### プロジェクト1 チーム1 マイクロ流体チップ開発

細胞の検出で同定した細胞を正確に分取するために、細胞整列技術の精度をより一層高める必要が明らかになった。超音波技術の最適化に関して検討を行う予定である。

### プロジェクト3 チーム1 STEAM 法の開発

特に無し

### プロジェクト3 チーム2 高速蛍光イメージング法の開発

本年度の開発において多色化による特異性・感度の向上を行ったが、これによりデータレートが向上したため、リアルタイム信号処理システムの設計を見直す必要が出てきた。この点について Phase2 においてプロジェクト4のメンバーと協力体制を敷き、増大したデータレートに対応するようシステムの改良を行う。

### プロジェクト3 チーム4 DCC 法

特に無し

### プロジェクト5 チーム2 高速細胞分取技術開発

特に無し

## 3. アウトリーチ活動報告

今年度は展示会（イノベーション・ジャパン 2016）および学会（2016 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science）にてブースを出し、本プログラムで達成してきた成果を幅広い参加者に対して行った。また、世界経済フォーラムに参加しているヤンググローバルリーダーのメンバーから中学生に至るまで、幅広い方を対象に複数回研究室見学を実施し、本プログラムの成果を公表してきた。

また、本プログラムの成果や進捗状況の紹介、本プログラムを推進しているメンバーの紹介などは Facebook で情報発信をしており、最先端の科学研究成果を一般市民に向けて説明している。本プログラムの Facebook ページに対しては3月30日時点で409件の「いいね」がついており、プログラムからの情報発信が多くの方々に届けられている。