

プログラム名：「豊かで安全な社会と新しいバイオものづくりを
実現する人工細胞リアクタ」

PM名：野地博行

プロジェクト名：基盤技術開発

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：

人工細胞デバイスおよび計測システム開発ならびに人工細胞デバイスを用い

たゲノム起動法の開発

研究開発機関名：

東京大学

研究開発責任者

田端 和仁

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

野地プログラムにおいて「はかる」、「つくる」、「ふえる」人工細胞デバイスプロジェクトを社会実装する際に必須となる普及型の人工細胞デバイスおよび当該人工細胞デバイスを用いて計測を行う普及型の計測システムとを一体的に開発し、実用化を目指す。開発にあたっては、人工細胞デバイスを安価かつ簡便に作成するとともに、計測システムを小型かつ簡単に操作可能とすることにより、人工細胞デバイス計測システムを社会に広く普及可能な計測システムとする。また、人工ゲノム DNA を起動し、機能させるための技術として、人工細胞デバイスを利用した人工ゲノム起動法の開発に取り組む。特に今年度は、以下を目標として、研究開発を進める。

1. 普及型人工細胞デバイスの開発

1-1. 安価で作成が容易な普及型人工細胞デバイス開発

UV 硬化樹脂の試作品を評価し、ドライエッチング加工法と同程度である、形状誤差 10%以内のデバイス作成を達成する。

1-2. 人工細胞デバイスの最適化と量産化

24mm×36mm, $\phi 5 \mu\text{m}$, $d=3 \mu\text{m}$ のデバイスに関しては、最大作成枚数 (50 枚) をコンスタントに製造、供給する体制を確立し、参加グループへの人工細胞デバイス供給を開始する。

1-3. 人工細胞デバイス精密計測法の開発

他課題と共同で、人工細胞デバイスを用いた計測を開始する。

2. 普及型人工デバイス計測システムの開発

2-1-1. ベンチトップサイズの計測装置の開発

デジタル計測可能なベンチトップタイプ試作機の完成。

2-1-2. 小型検出システムの開発

1 デバイスを 1shot で撮影可能な臨床用デジタル ELISA 装置に組み込む小型検出系の作成と評価を完了させる。また、小型検出システムのための広視野撮影用光学系を試作し、24mm×36mm, $\phi 5 \mu\text{m}$, $d=3 \mu\text{m}$ のデバイスにおいて、6 視野で撮影が完了する光学系を構築する。

2-2. 機能分子スクリーニングシステム開発

複数の試作機の作成および評価 (1. 特定のガラスキャピラリーを用いて数十 fL の DNA 溶液吸引と吐出が出来る。2. 吸引・吐出による DNA の回収率が 95%以上) を行い、開発継続する 2 機を選定する。

3. 人工細胞デバイスを用いたゲノム起動法の開発

3-1. 融合細胞の作成と内部状態評価

脂質溶媒の検討を完了。現状の融合効率を 10%程度向上させる。

3-2. 融合細胞の作成と内部状態評価

融合細胞において、異なる 2 種のバクテリアを 1 つの融合細胞に融合させる方法を確立する。

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

1. 普及型人工細胞デバイスの開発
 - 1-1. 安価で作成が容易な人工細胞リアクタの開発
デバイスをより安価かつ量産を可能にするため、UV 硬化樹脂を使ったデバイス作成と評価も外部機関と共同で開始した（目標値：形状誤差 10%以内）。
 - 1-2. 人工細胞リアクタの最適化
本年度 7 月頃までは、新規導入した微細加工装置や計測装置の立ち上げと、新規雇用者のトレーニングを実施した。その後、ImPACT プロジェクト内に供給するためのデバイス作成を開始（目標値：50 枚/日）した。
 - 1-3. 臨床用全自動デジタル ELISA 装置専用のデバイス開発
課題 1A からの要請により射出成形による量産化デバイスの開発を前倒しで開始した。
 - 1-4. 人工細胞リアクタ精密計測法の開発
デバイスを用いた計測に関して、他課題と共同で計測法の開発を開始した。
2. 普及型人工デバイス計測システムの開発
 - 2-1. 普及型人工細胞リアクタ計測システムの開発
普及型計測装置の開発を指向した小型計測装置開発に関して開始した（目標：試作機の完成とプロトタイプ光学系のデザイン）。
 - 2-2. 機能分子スクリーニングシステム開発
機能分子スクリーニングシステムに関して、開発パートナーとなる企業の選定を行った。
- 3 人工細胞デバイスを用いたゲノム起動法の開発
 - 3-1. 融合細胞の作成と内部状態評価
ゲノム起動法の開発に関して、融合細胞内の内部状態評価法の開発を開始し、融合細胞の作成効率向上を目指し脂質二重膜作成時の溶媒に関する検討を開始した（目標：融合効率の 10%向上）。
 - 3-2. ゲノム起動の確認
作成したゲノムが起動可能なものであるかを確認するための方法の開発を行った。当初、L-form バクテリアを用いたリポソームとの融合によって、ゲノム起動法を確立することを検討していたが、他機関による技術動向を鑑みマイコプラズマによるゲノム起動法の立ち上げを開始した。

2-2 成果

1-1. 安価で作成が容易な人工細胞デバイスの開発

本項目では、現行デバイスと比較して形状誤差 10%以内で UV 硬化樹脂を利用したデバイスの作成を目標としている。まず、UV 硬化樹脂を用いたプロセス方法の検討を行ったところ、現行法に比べ 1 時間弱プロセス時間を減少させることに成功した。また、形状誤差も 10%以内で作成可能であった。さらに本デバイスを用いて、1 分子デジタルカウンティング実験を行い、現行のデバイスとの比較を行った。現行のデバイスにおいても、UV 硬化樹脂デバイスにおいても、1 分子デジタルカウンティングは可能であり、その結果に差異は認められなかった。また、射出成形によるデバイス作成にも取り組んだ。このデバイスは、カップ状の容器底面にマイクロウェルアレイ構造を有しているものであり、カップ部とマイクロ構造部を同時に成形するのが困難であったが、マイクロウェル構造にテーパーを

つけるなどして同時に成形することに成功した。また、本デバイスを用いて、微小液滴作成にも成功しており、射出成形によるデバイス大量生産の道も見えた。

1-2. 人工細胞デバイスの最適化と量産化

本項目では、大量の人工細胞デバイスを供給するためデバイス作成の最適化と量産化を行った。使用頻度の高い人工細胞デバイス（24mm×36mm, $\phi 5 \mu\text{m}$, $d=3 \mu\text{m}$ ）に関して、スピncerコーターや露光機などの治具やプロセスの一部を見直すことで日産 75 枚を達成し、本年度目標の日産 50 枚をクリアできた。

1-3. 臨床用全自動デジタル ELISA 装置専用のデバイス開発

1-4. 人工細胞リアクタ精密計測法の開発

課題 1A, 1C, 2A, 2E, 2F とともに、人工細胞デバイスを利用した計測法の開発を開始した。また、人工細胞デバイスの用例開拓の一環として、インフルエンザウイルスの高感度計測法の開発に取り組んだ。

2-1. 普及型人工デバイス計測システムの開発

本項目では、ラボユースを想定したベンチトップタイプの計測装置とパームトップタイプの計測装置の開発を目指した。ベンチトップタイプに関しては、仕様の検討を行い、性能を確認するための試作機を作成した。その試作機において、デジタル計測が出来る事が確認されたため、ベンチトップサイズに小型化した計測装置開発を 29 年度より開始する。また、小型検出システム（パームトップタイプの検出装置）では、スマートフォンのカメラを利用した検出装置の開発を行った。実際に酵素 1 分子のデジタル計測やウイルス 1 分子の検出がスマートフォンのカメラで検出出来ることが分かった。今後は、撮影から解析まで行うことができるアプリケーションも含めた統合的なシステムの開発を行う。

2-2. 機能分子スクリーニングシステムの開発

課題 2A におけるスクリーニングを自動化し、高速化することを目的に自動化装置の開発を行った。1. 特定のガラスキャピラリーを用いて数十 fL の DNA 溶液吸引と吐出が出来る。2. 吸引・吐出による DNA の回収率が 95%以上という 2 つの技術目標にもとづいて試作機を作製し、課題 2A と共同で評価した。来年度の試作機作製に向けて仕様を決定した。

3-1. 融合細胞の作成と内部状態評価

本項目では、人工細胞デバイスを使った融合細胞の作成効率向上を 10%程度向上させることを目的に脂質溶媒などの検討を行った。その結果、特定の脂質溶媒において 300%程度融合効率が向上することが分かった。また内部状態計測法に関しては、タンパク質の合成活性を計測する方法の検討を行った。

3-2. ゲノム起動の確認

マイコプラズマによるゲノム起動法の立ち上げを開始した。

2-3 新たな課題など

UV 硬化樹脂でのデバイス作成は順調に達成したが、そのデバイスではデジタルアッセイに関して、複数のコンポーネントが必要な PURE system（商標登録）等の反応はうまくいかなかったため、表面状態の改変などを含めた修飾法の開発を行う予定である。

3. アウトリーチ活動報告
なし。