

**研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム
シーズ育成タイプ 事後評価報告書**

研究開発課題名	: iPS 細胞の量産化を実現する液滴電気穿孔装置の開発
プロジェクトリーダー	: ネットパジーン株式会社
所属機関	: ネットパジーン株式会社
研究責任者	: 沼野 利佳（豊橋技術科学大学）

I. 研究開発の目的

本研究で開発される新規の電気穿孔法装置が次世代の iPS 細胞樹立技術の標準となることを目的として安全（ウイルスフリーで癌化低減）・少量サンプル・低コストで iPS 細胞の樹立が誰でも簡便に安定してできる装置の開発を実施する。具体的には、数 μl の液滴を反応場とし、kV 単位の高電圧のナノ秒パルスを用いた新規の電気穿孔装置で、1000 個からの少量の細胞サンプルに、多種類の遺伝子を効率よく導入ができる。さらに本電気穿孔法をマイクロ流路内に展開し、反応場を pL サイズの液滴に縮小し、高効率でハイスループットに遺伝子導入が実現可能なマイクロ流路内超微小電気穿孔装置の開発を応用として実施する。

II. 研究開発の概要

① 実施概要

概要

電気穿孔装置を用いた iPS 細胞樹立は、細胞サンプルが多量に必要、細胞毒性が高い、高額な装置費用等問題があった。これらの問題を解決する、iPS 細胞量産の技術確立の標準装置を提供することで医療に貢献する。

目標

安全（ウイルスフリーで癌化低減）・少量サンプル・低コストで iPS 細胞の樹立が誰でも簡便に安定してできる装置の開発をする。更に技術を応用しマイクロ流路デバイスを用いた微小液滴内への単数細胞の封入・遺伝子導入実験を行う。

成果

試作機を完成させ、極少量の血球由来細胞株から iPS 細胞の作製が他手法を凌駕する確率で樹立できた。また対象サンプルは多種類であり、ゲノム編集技術にも応用可能である。そしてエンドサイトーシスも寄与することが判明した。

更に技術を応用し最適双極性パルスを用いて、マイクロ流路を活用し、単数細胞へ遺伝子導入に成功した。

② 今後の展開

高効率・高生存率を少量サンプル・低コストで実現できる新規の電気穿孔装置として、2 年以内に上市を目指す。現在、印加条件の安定・耐久を高め、条件を容易に検討する為のパターン化などの仕様が確立できている。今後は様々なサンプルに対する実績の追加と輸送試験等実施する。

更にマイクロ流路内超微小電気穿孔装置として血球細胞への遺伝子導入及び iPS 細胞樹立を実証す

る。単相流路を最適化し、製品化に向けた操作性の改善を行う。

Ⅲ. 総合所見

目標を達成し、次の研究開発フェーズ移行に必要な成果が得られた。イノベーション創出が期待できる。

液滴電気穿孔装置開発において、放電型と流路型のいずれも実用化を目指す上で技術的に高度化が図られた。特に前者は iPS 細胞樹立効率も高く、ゲノム編集などの技術との展開性を示すなど期待される技術を反映させた装置が提案された。後者も目標達成には至っていないが流路型における課題を顕在化してその具体的な解決策を示している。今後、iPS 細胞樹立効率のさらなる向上や安定品質の維持に向けた技術改善に期待したい。