

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

P M 名：合 田 圭 介

プロジェクト名：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 27 年度

研究開発課題名：

ガラスマイクロチップの大規模集積化による超高速細胞分取システムの創出

研究開発機関名：

国立研究開発法人理化学研究所

研究開発責任者：

田 中 陽

## 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

当該年度において本研究が解決すべき問題点は「セレンディピター」プロジェクト5（細胞分離）の中でチーム1・2のレーザー弁や表面音響波に対するマイクロチップの耐久性・安定性に関するものである。研究開発責任者らは、流路内表面化学パターンニングやガラス製オンチップバルブ技術など、化学的にも物理的にも安定で熱耐性も高いガラスを材料としたマイクロチップを用いたバイオ実験の次世代化の研究の実績があり、材料・加工の技術を基盤として上記課題解決に貢献するとともに、大規模集積により分取した細胞を一細胞レベルで分析するプラットフォーム提供までトータルな形でプロジェクト推進に寄与できると着想した。以上を踏まえ、当該年度の具体的な課題として、1. 問題点の抽出とチップデザインの最適化、2. ガラスマイクロチップ高度加工技術の開発、3. オンチップ細胞単離システムの開発、4. 単一細胞分析インターフェースの搭載と個別細胞分析への展開、5. 他プロジェクトとの技術融合、の5点を設定した。本計画では課題1~2がプロジェクト5本体、課題3~4が、本プログラムのプロジェクト5と6を繋ぐ役割であるプロジェクト5.5にあたり、これらの課題解決にフォーカスした。

### 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

当該年度においては、上記課題の基盤となる様々なガラスマイクロチップの作製に関する部分においてとくに進捗があった。また、これに呼応する形で本プロジェクト内他チームから様々な需要が挙がり、当チームの技術の重要性が認識された。一方、細胞分取や分析前処理については必ずしも十分とは言えず、次年度での達成を目指す。詳細は次項にて記述する。

#### 2-2 成果

以下、項目ごとに成果を述べる。

- (1) 問題点の抽出とチップデザインの最適化、および
- (2) ガラスマイクロチップ高度加工技術の開発

これまでガラスマイクロチップは0.7 mm厚のガラスを2枚貼り合わせたものが一般的であったが、これでは高倍（高NA）の対物レンズでの観察ができない。薄いガラスは扱いが難しく、あまり使われないが、今回どこまで薄いガラスを用いることが可能か検証した。一般にカバーガラスで用いられる0.2 mm程度の厚みまでは非常に割れやすくなるが、作製自体は問題なくできた。本PJ内の計測にはこれで十分だが、技術としてどこまで薄くできるか検証した。柔軟性や軽量性から様々な用途への展開が期待できる。なお、チップ作製を高速・正確に行うために、図1のような、位置合わせおよび貼り合わせ装置を購入・稼働させた。



図1. 貼り合わせ装置写真.

### (3) オンチップ細胞単離システムの開発、および

### (4) 単一細胞分析インターフェースの搭載と個別細胞分析への展開

オンチップで生細胞を分離し、細胞分析まで行うためには、オンチップでの細胞培養が必要となるが、ガラスマイクロチップ内の流路は閉空間のため、通気性がなく、培地内の栄養もすぐに枯渇してしまう。そこで、流路内でも開空間と同じように細胞が培養できるようなシステムを開発した。チップへのデバイスの組み込みと閉空間内での細胞培養に成功し、十分な機能を実証できた。また、分離後の細胞を一個ずつ操作するための単離チップも開発を進めており、今後 PJ6 との連携による細胞分析システムへの展開を目指す。

### (5) 他プロジェクトとの技術融合

以上は、主にプロジェクト 5 内、およびこれに直接連結するプロジェクト 6 への貢献についての計画がメインであったが、プロジェクト 1 および 3 との連携についても進めてきた。

PJ1（基本システム開発）においては、Di Carlo チームにおいて、細胞を流路中で強制配列させるジグザグ型チップ (Goda et al, PNAS **109**, 11630 (2012), Di Carlo et al, PNAS **104**, 18892 (2007)) を作製・供与した。また、PJ3（計測）においても、マイクロチップ中での STEAM（高速度撮影法）、ラマンや蛍光イメージングなど、高度な光学技術を利用した計測技術開発に適したガラスチップを供与しており、今後の積極的な技術融合に向けた土台が築けたといえる。

## 2-3 新たな課題など

上記のように、様々な技術を開発し、チップを供与してきた一方で、各チームにおいてうまく使えていないという課題が生じた。これは、単にチップ供与だけでは不十分で、周辺パーツや技術のフォローも含めていく必要があり、翌年度以降はこの点を重視し、各チームと密にコミュニケーションを取りながら研究を進める。

## 3. アウトリーチ活動報告

本プロジェクト関係でプレスリリースなど定量的にカウントできるものを独自に行ったものはとくにないが、学会などの発表状況は理研内の研究室ホームページで記載している（研究室ホームページ: <http://www.qbic.riken.jp/ibd/jpn/>）。なお、本ホームページトップの「トピックス」では、ImPACT プログラムの成果であるものは、その旨明記して業績を紹介しており（H27 年度の成果にかかるものは計 3 件）、「業績」ページでは、その詳細を記載している。また本プロジェクトの Facebook で当チームの記事を執筆するなどアウトリーチ活動に協力した。