

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： 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：

オープンチップを用いた超高速細胞分取システムの開発

研究開発機関名：

名古屋大学

研究開発責任者

新井 史人

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

超高速細胞分取のための超高速流体制御技術を基盤とした分岐流路での細胞分取技術、および、信頼性の高い細胞分取のための超精密流体制御を基盤とした非分岐流路での細胞分取技術の開発を行う。平成 28 年度は希少で **High Impact** な細胞を単一細胞の分解能で高速・正確に細胞を分取するために、各プロジェクトと連携し、分岐流路を用いた「ミニセレンディピター」の開発に注力し、周辺技術の向上を図る。超高速流体制御技術および超精密流体制御技術として、流体制御ポンプおよびバルブの仕様を決定し、連続細胞分取技術の開発を行う。マイクロ流体チップ作製技術においては、前年度までに達成した開口部を有するオープンチップの加工方法技術を用いて作製したマイクロ流体チップに対し、細胞を用いた基本性能の実証を行いながら設計の改良を行う。

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

表 1 に示すロードマップに従い、研究開発を行った。各課題の研究開発計画を以下に示す。

①超高速・超精密流体制御技術，課題：応答速度：2,000 events/秒，送液安定性：0.05 %

前年度までに開発したオンチップメンブレンポンプの改良を行った。さらに、大容量のサンプルの解析のため、空気圧駆動型の超精密流体制御ポンプの改良を行った。

②マイクロ流体チップ作製技術，課題：高透過性・高剛性マイクロ流体チップ加工技術の確立

平成 27 年度までに確立した、サンドブラスト等を用いたガラスの加工技術や接合技術を用いることで、高透過性・高剛性マイクロ流体チップを作製し、ユーグレナおよび GCIY 細胞を用いた基本性能の実証を行いながら設計の改良を行った。

③超精密細胞回収技術，課題：目的の細胞を低侵襲・高精度に回収する技術の確立

ユーグレナ細胞懸濁液、および、PJ6 白崎チームとの共同により、接着性および非接着性の培養細胞を用いた基本性能の実証を行いながら、位置決め性能の高精度化、吸引・吐出制御の高精度化等のシステムの改良を行った。

④システム統合・制御技術，課題：システムの自動化，シーケンスの最適化

蛍光染色した稀少細胞の分取システムを構築し、ベンチマークとして蛍光励起型のオンチップ細胞分取を行った。

2-2 成果

①超高速・超精密流体制御技術

図 1, 2 に示すようなオンチップ細胞ソーティングにおいて、前年度までに開発した、オンチップメンブレンポンプの改良を行い、オンチップ細胞ソーティングのための高速な局所流体制御技術として、16 μ s (31000 events/s 相当)の応答速度を達成した。また、サンプル導入のための流体制御技術として、空気圧駆動型のポンプの開発を行い、 ± 0.023 %の安定な流体制御を達成した。

②マイクロ流体チップ作製技術

図2に示すような高透過性・高剛性マイクロ流体チップの作製のために、サンドブラスト，DRIE，謡曲接合等のMEMS技術を用いることで，ガラス-シリコン-ガラスの3層構造を有するマイクロ流体チップの作製技術を確認した．ユーグレナおよびGCIY細胞を用いた基本性能の実証を行いながら設計の改良を行いその有用性を確認した．さらに，セレンディピターミニで必要となる比較的大判(縦20 mm，横80 mm，厚み0.8 mm)のマイクロ流体チップの作製も，同様の技術を用いることで達成できることを確認した．

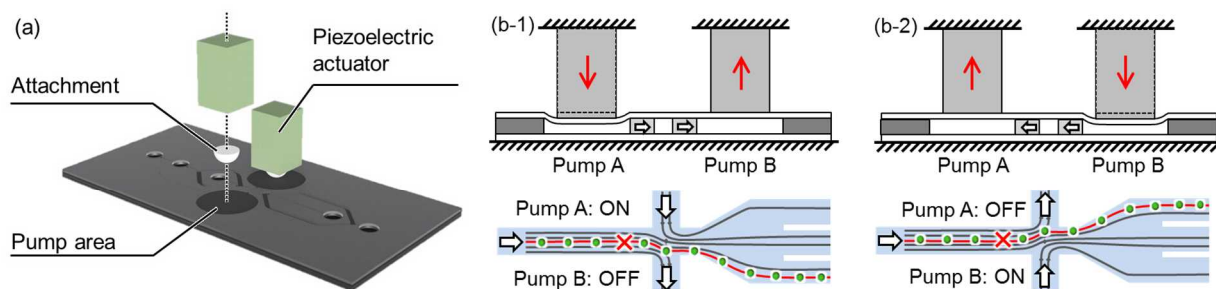


図1 オンチップデュアルメンブレンポンプを用いた，細胞ソーティングのコンセプト．(a)概念図，および，(b)システム動作の例．

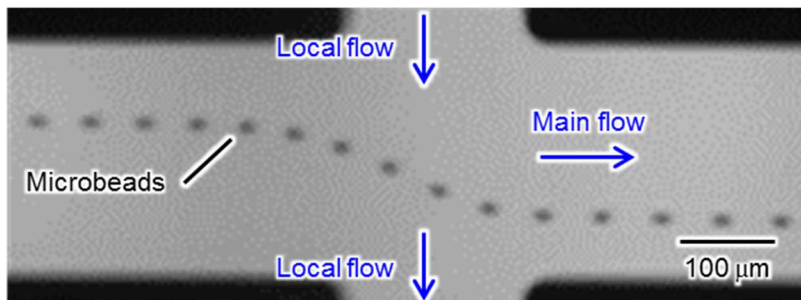


図2 流体制御による微粒子ソーティングの例（時間間隔 20 μs）．

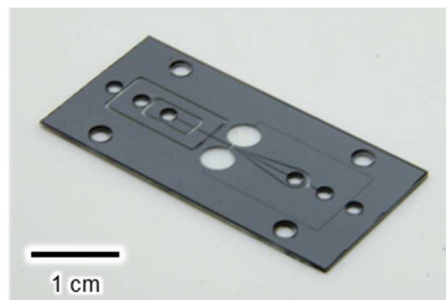


図3 高剛性マイクロ流体チップ．

③超精密細胞回収技術

前年度までに開発したシングルセルピッカーの改良を行い，細胞懸濁液を用いた基本性能の実証を行いながら，位置決め性能の高精度化，吸引・吐出制御の高精密化等のシステムの改良を行い，回収細胞生存率：90 %以上，回収分解能：1 cell + 1 cell 以下の性能である 2.75 pL の分解能の吸引・吐出性能を実現した．また，ユーグレナ細胞懸濁液，および，PJ6 白崎チームとの共同により，接着性および非接着性の培養細胞を用いた基本性能の実証を行いながら，1 細胞での吸引・吐出に成功し，有用性を確認した．

④システム統合・制御技術

蛍光染色した稀少細胞の分取システムを構築し，ベンチマークとして蛍光励起型のオンチップ細胞分取を行った．ユーグレナおよびGCIYを用いた実験において，それぞれ，ソーティングの成功率：92.8%，97.8%，純度：95.8%，98.9%，生存率：90.8%，90.7%の性能を実証した．さらに，セレンディピターミニのオプティクスコアの設計および評価を担い，細胞を用いた実験において，本研究開発成果であるオンチップ細胞ソーティング技術，および，高透過性・高剛性マイクロ流体チップの基本性能の実証を行った．

2・3 新たな課題など

当該年度までに、セレンディピター開発において、ソーティングユニット、安定送液、および、シングルセルピッカーの基本性能の実証を行った。Phase 2 では、各要素技術を統合したセレンディピター開発に向けて、PM 含めプロジェクトメンバーと十分な情報交換を行い、セレンディピター実現のための基盤技術の実証実験を進め、システムの仕様および課題を決定することが必要である。

3. アウトリーチ活動報告

特になし。