

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：統合システム開発

委 託 研 究 開 発

実 施 状 況 報 告 書 (成 果)

平成 29 年度

研究開発課題名：

ガラスマイクロチップを用いたオンチップ 1 細胞ハンドリング技術の開発

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

セレンディピター統合システムの構築に向け、様々な計測や分離技術に適し、物理・化学耐性も高い全ガラス製のマイクロ流体チップを開発し、各チームに供与すること、各チームの要求仕様である、ガラス種類、厚さ、耐圧性能等に基づいたカスタムガラスチップ製造技術を開発するとともに、大量供給に向けた作製ラインの高速化を進め、また、分離後の細胞処理や分析前処理など、各プロジェクトをつなぐ橋渡しを目的とした。具体的には、高速ソート後に細胞にダメージを与えず速度および圧力を徐々に低減するモジュールを構築するとともに、オンチップで解析に繋ぐための多数並列チャンバーへの細胞単離・分析プラットフォームを提供する。

## 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

当該年度においては、上記課題のメインとなる(1)低温ボンディングを利用した新たなガラスマイクロチップの製造方法に関する研究開発でとくに進捗があった。また、(2)細胞分析実験プラットフォームの開発、についても進捗があり、これら2項の状況について、詳細は次項にて記述する。

### 2-2 成果

#### (1) 新たなガラスマイクロチップの製造方法に関する研究開発

半導体集積回路の製造に使われる微細加工技術を応用した「マイクロ流体チップ」の開発や研究が、さまざまな分野で進められている。マイクロ流体チップは、手のひらサイズの基板上に指紋サイズの極めて微細な流路を集積した器具であり、少量の細胞・試薬での実験や分析時間の短縮が可能のため、化学・生物実験の効率化が図れる。

従来は、溝を持つ2枚のガラス板を貼り合わせてマイクロ流体チップを作製した後で、微細流路内に区画定着させたいタンパク質や細胞などを注入していた。この「貼って付ける」理由は、貼り合わせの際に高温に加熱するため、乾燥や熱に弱い材料は耐えられないからである。また、複数種類のタンパク質や細胞などを区画定着させたい場合は、それらを順次注入するが、そのたびに流路全体が満たされるため、区画ごとに定着を制御することが困難であった。

そこで、当研究チームは、ガラス板に細胞や生体分子を所定位置に定着させた後、ガラス板を常温で表面処理と加圧により貼り合わせて流路を形成する「付けて貼る」方式の手法を開発した。その結果、複数種類の細胞や生体分子を1本の微細流路内に機能を維持したまま、区画定着できることを確認した。

今後、「付けて貼る」新たな手順による方式で作製されたマイクロ流体チップを利用することにより、例えば生命科学分野においては、貴重な試料を用いる研究が加速されることが期待され、医療分野においては、患者への負担となる侵襲を最小限にした検査法が開発されると考えられる。また生体材料、またバイオや医療に限らず、電極や高分子、触媒など、さまざまな機能性材料を、その機能を損なわずにチップに封入する手法としても使えるため、さまざまな分野への展開が期待できる（図 1）。

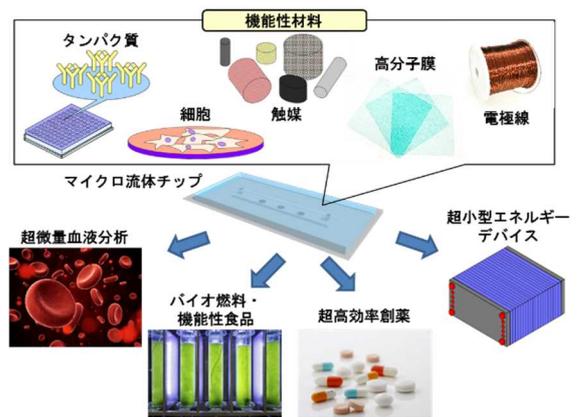


図 1. 室温ボンディングチップ成果の応用展開

## (2) 細胞分析実験プラットフォームの開発

これまで超薄板ガラスのフレキシビリティを利用したバルブやポンプ、センサーなどを開発してきたが、この超薄板ガラスの薄さそのものの利用により、各孔直径が数  $\mu\text{m}$ ～数百  $\text{nm}$  のガラスフィルターを開発・細胞培養に応用した。衝撃力の大きいフェムト秒レーザーを用いれば一発の加工でも貫通穴形成でき、これは、流路内での細胞培養に応用できる。チップ内での細胞培養は、細胞数や試薬量の低減に効果があり、これまでに数多くの報告がある。ガラスマイクロチップは、空気を透過しないという特性があるため、細胞を長期間培養するには培地を流し続ける必要があるが、その流れによる圧力やせん断応力の影響が避けられない。そこで流路内にフィルターを設けることで、チップのメリットを生かしつつ細胞を長期間培養することに成功した（図 1）。

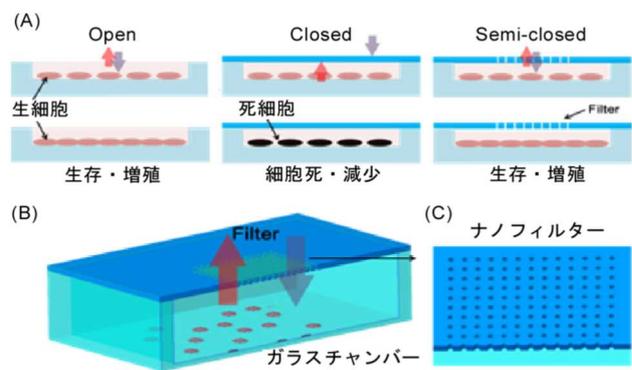


図 2. オンチップガラスフィルターを用いた細胞培養. (A) コンセプト. Open (完全に開放系の培養系), Closed (閉空間微小流路) および Semi-closed (フィルター付き微小流路)での比較. (B) 細胞培養チャンバーとフィルターの関係. (C) ナノフィルターデザイン.

## 2-3 新たな課題など

上記のように、様々な技術を開発してきたが、実際の細胞解析プロジェクト等に応用するには、現場のニーズ、例えば使いやすさなどを考慮しなければならず、翌年度はこの点を重視し、各研究者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

なし