

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：

1 細胞多角的独自解析技術の開発

研究開発機関名：

国立大学法人 東京大学

研究開発責任者

上村 想太郎

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

セレンディピターにより分取したサンプルを再解析する手法の開発

セレンディピターを用いて、毎秒 100~200 個のスループットで 1 分間の分取操作を実施した場合、1ml 程度の溶液中に 10^4 個程度の細胞が回収されることとなり、後段の解析(遺伝子解析など)のためのサンプルとしては希薄であるという問題が懸念される。この問題は特に希少細胞をターゲットとした分取実験で特に問題となる。そこで、これらのサンプルを濃縮する方法を構築することを当該年度の目標とした。

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

サンプルを濃縮する方法として、吸引方式によるサンプルの濃縮法、及び、遠心回収によるサンプル濃縮法の 2 つの方式を考案し、検討を進めた。後者の方法はサンプルを濃縮するのみならず、セレンディピターから分取された細胞の、分取精度の評価にも活用できた。

1. 吸引方式によるサンプル濃縮法

セレンディピターのサンプル排出口(対象サンプルと判別され分取したサンプルが装置から出てくる箇所)に、アスピレーター(溶液を吸引する装置)を配置し、サンプルの濃縮を図った。セレンディピターが発するサンプルの分取信号によりアスピレーターの吸引タイミングを制御(on/off 制御)することで、サンプルを含まない溶液部分を吸引回収することを試みた。実際にセレンディピターから排出された溶液をアスピレーターにより吸引することまで確認したが、この吸引によりセレンディピター内の流速制御に影響が生じること可能性が明らかとなった。このような状況から当該年度は、後に示す遠心回収によるサンプル濃縮法を確立することに注力した(よって詳細は省略する)。

2. 遠心回収によるサンプル濃縮法(遠心回収チップ)

円筒形に形成した PDMS(ポリジメチルシロキサン)をガラス基板に接合することで、自作遠心回収チップを作成した。これにサンプルを入れ、遠心力を加えることで、サンプルをガラス基板上に集め、溶液上清部を吸い出すことでサンプルの濃縮が可能となった。また、底面をガラス基板とすることで、一般的な光学顕微鏡による観察も可能となった。これを用いてセレンディピターによって分取したビーズサンプルや血小板凝集塊サンプルの評価が可能となった。

2-2 成果

遠心回収チップによるビーズ分取精度の評価

大きさの異なる二つのビーズ(3 μm 及び 6 μm)を 1:1 の比率で混合したサンプルを用意し、セレンディピターによりこれらを分取後(6 μm ビーズを選択的に集める)した。この分取サンプルを遠心回収チップにより濃縮し、分取精度を評価することに成功した(図 1)。また同様に、血小板凝集塊サンプルの分取精度の評価にも成功した(図 2&3)

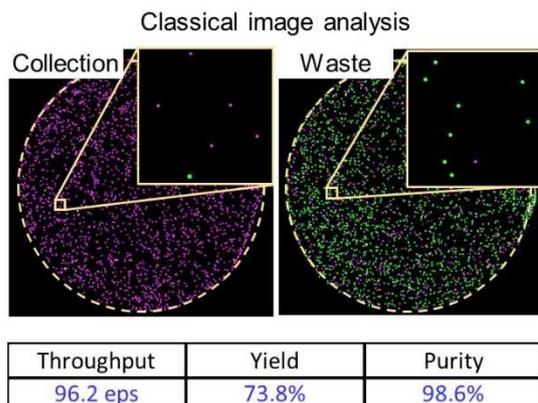


図 1. 遠心回収チップによるビーズ分取精度の評価(紫:6 μm ビーズ, 緑:3 μm ビーズ)

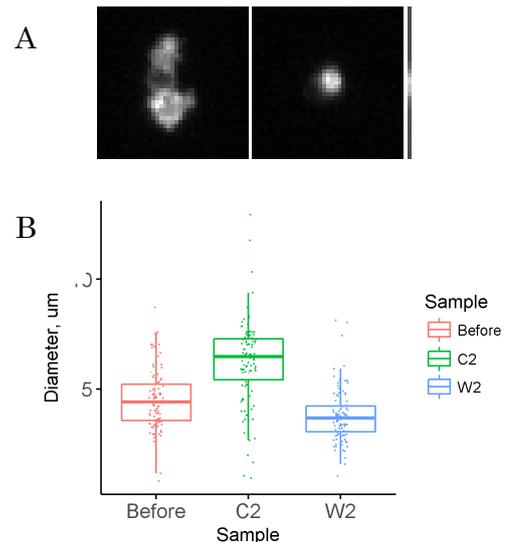


図 2. 遠心回収チップによる血小板凝集塊の分取精度評価 A)血小板凝集塊(左)と単一血小板(右). B)各サンプル(分取前, 分取(C2), 廃棄(W2)画分)における細胞の大きさ。分取画分で有意に大きな血小板(凝集塊)が分取されている

2-3 新たな課題など

遠心回収によるサンプル濃縮法(遠心回収チップ)は、セレンディピターの開発およびバージョンアップに今後も安定して活用することが見込まれる一方、吸引回収法は実現に至っていない。吸引回収法は、識別情報を紐づけた回収(index ソーティング)に繋がる見込みがあることから実現が望まれる方式であるが、セレンディピター内の流速制御に影響を及ぼさないような吸引条件を見出すなどの改善が必要となる。

3. アウトリーチ活動報告