

世界初 マイクロチップでの単一細胞全自動解析・回収装置

The World's First Microchip-based Fully Automated Single-cell Analysis and Collection System

1. 概要

生細胞の解析は、特に単一生細胞におけるゲノムを始めとする基礎研究や分化と誘導を主とする再生医療等の分野において、ますますその重要性が注目されています。従って、ある瞬間状態の細胞を解析・回収するセルソーターよりも、経時的に生細胞の挙動も捉えられる生細胞の解析と回収の為のツールが希求されています。

数十万個あるマイクロウェル(注1)に各々収納された単一細胞に対して経時的な変化を捉えるタイムラプス解析(注2)を可能とする超高感度な光学の解析を行い、ターゲットの単一細胞をダメージレスで培養プレートに回収するまでの一連の精密操作を全自動化した製品「単一細胞全自動解析・回収装置」(図1)を世界初で商品化しました。

細胞塊を用いる従来の解析手法に比べ、非ターゲットの細胞によるノイズの影響を回避できるので、数千倍以上の計測感度と正確な解析が得られるため、iPS・ES細胞による再生医療や新薬候補のスクリーニング等に画期的な進歩をもたらすと期待されています。

注1: マイクロメートル程度の小さい直径を持つ集積度の高いウェル(くぼみ)

注2: 時間の経過に応じて細胞を連続的に計測・解析すること。



図1 単一細胞全自動解析・回収装置外観
Fully automated single-cell analysis and collection system appearance..

2. 特長

2.1 特長

本製品は、マイクロチップ上の数万から数十万のマイクロウェルに収納される単一細胞を高感度で計測しながら、目的の単一細胞をダメージレスで培養プレートに回収できる世界唯一の製品であり、8000個以上の細胞を僅か6秒で3蛍光色による高感度計測が可能です。また、タイムラプス解析を行うための試薬置き換え機能も備えつけられています。

本製品は、単一細胞を収納できる数十万個のマイクロウェルの集積度の極めて高いマイクロチップ(図2)、目的の単一細胞をダメージレスでピックアップして培養プレートに回収できる単一細胞回収部及び細胞の蛍光シグナルを高感度で計測できる高感度計測部から構成されます(図3)。

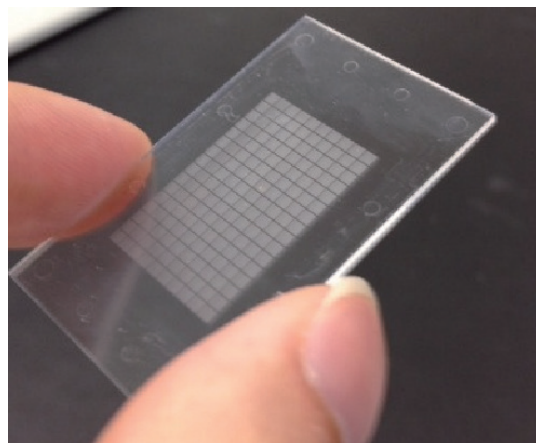


図2 マイクロチップ
Microchip.

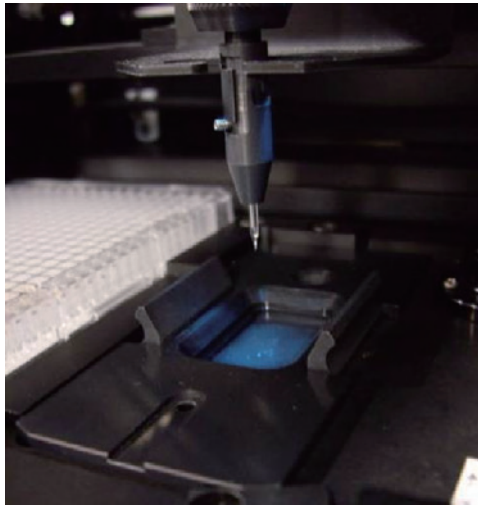


図3 本製品の主な構成
Main structure of the product.

マイクロチップは安価な樹脂成型の使い捨てタイプで、数 μm の微小な細胞を収納する直径10 μm のウェルを設けたチップ(ウェル数:33万個以上)から、比較的にな大きな細胞を収納できる直径20 μm 及び30 μm のウェルを設けたチップ(ウェル数:8.4万個)があります。また、チップの表面には、用途に応じて必要な表面処理を施すことも可能です。

2.2 高感度タイムラプス解析

本製品は、フローサイトメーターのような流路系と異なり、マイクロチップに収納された単一細胞を対象とする計測が可能となるため、例えば、細胞の抗体と抗原反応を表す複数種類の蛍光シグナルと透過光シグナルを極めて高感度で計測できるほか、試薬などの刺激による細胞への蛍光シグナルの経時的な変化(図4)の有無とその強弱を明らかにするタイムラプス解析も可能です。

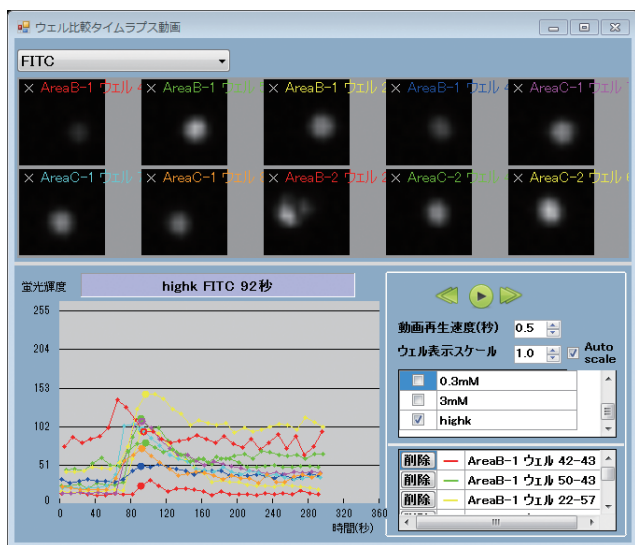


図4 タイムラプス解析の事例
Example of time-lapse analysis.

例えば、図4の写真に記録されたのは、ある瞬間の蛍光シグナルの異なる細胞の様子であり、最も蛍光シグナルの強い細胞(黄色い線で表示されたもの)を回収の対象にすることができます。蛍光シグナルの強弱は、細胞における薬の感受性や細胞の性質等を表す間接の指標として用いられます。

2.3 単一細胞の回収

単一細胞の蛍光情報や透過光情報等を、既定の論理式にて解析し、所定の基準に合致する目的の単一細胞集団をガラスキャピラリーでピックアップして、培養プレートや特殊なチューブに全自動でその単一細胞を回収することができます。また、回収前後に対象ウェルに対して目的細胞の有無を確認し、目的とした細胞が確実にピックアップされ回収されたことを確認する手段を有します。

2.4 応用例

本製品は、iPS細胞やES細胞等を対象とする再生医療分野の基礎研究のみならず、創薬の為の新しいスクリーニング方法としても用いられます。感度が大幅に向上されたので、従来検出できなかった薬の候補も検出できるようになり、例えば、ペプチドライブラリーを用いる薬のスクリーニングが効率的且つ確実に行えます。

さらに、臨床分野でも、タイムラプス解析による単一細胞への薬物感受性解析評価と遺伝子解析が行えることで、特に抗がん剤投与の指針にも寄与できることも期待されています。

図5は、本製品によって解析・回収された単一iPS心筋細胞を五日間で培養して形成され始めた良質なコロニーの一例を示しています。通常、物理的なダメージや汚染等の影響で単一細胞の培養が難しいのですが、写真の様に単一細胞が増殖すれば、良好な結果が得られます。

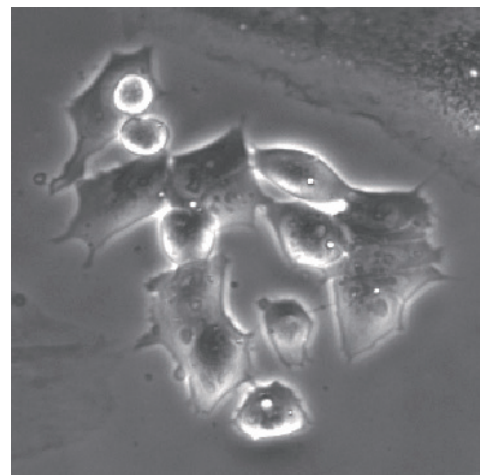


図5 iPS心筋細胞コロニー培養例
iPS cell colonies cultured myocardial example.

3. 製品仕様

本製品は、クリーンベンチ内にも設置できる小型軽量のもの
であり、カスタマイズにも対応できる仕様(温度制御機能や光
源等の仕様変更・追加が可能)で、主な標準仕様を表1に示し
ます。

表1 標準仕様
Standard specification.

型式	As One Cell Picking System
マイクロチップ	ウェル直径: ϕ 10 μ m, ϕ 20 μ m, ϕ 30 μ m
励起光源	ランプ(ユーザ選択可)
蛍光	FITC/任意: PE・GFP・Cy3・Cy5・GFP等 (ユーザ選択可)
測定感度	< 1,800 MESF FITC (Spherotech Rainbow Beads 使用時)
計測所用時間	1色: 3.7 sec/1エリア
	2色: 5.4 sec/1エリア
	3色: 6.1 sec/1エリア
回収率	95%以上(ϕ 20 μ m ビーズ使用時の典型値)
回収所用時間	約 30 秒/ウェル(目的の1細胞の回収)
回収キャピラリー	先端径 10 ~ 45 μ m
回収プレート	ウェル数: 6, 24, 48, 96, 384 底の形状: Uと平面
解析結果出力	データ: fcs ファイル, csv ファイル, 結果画面: bmp ファイル
本体サイズ	W 510 mm $\times$ D 680 mm $\times$ H 780 mm
パソコン仕様	Windows® 7

※ Windows は、米国 Microsoft Corporation の米国および
その他の国における登録商標です。

なお、本製品は、アズワン株式会社より、研究用途として国
内販売されています。

4. 謝辞

本製品は、アズワン株式会社、黒田俊一 名古屋大学教授、
近藤昭彦 神戸大学教授及び藤井郁雄 大阪府立大学教授らの研
究グループと産学共同で開発され、第5回「ものづくり日本大
賞」の製品・技術開発部門において、経済産業大臣賞を受賞致
しました。

また、英科学誌ネイチャーの姉妹誌「サイエンティフィック・
リポーツ」にも(<http://www.natureasia.com/ja-jp/srep/abstracts/42558>)掲載されました。

5. その他

関連特許

登録番号:

4999086JP, 4956289JP, 5006117JP, 4977012JP,
5392992JP

公開番号:

2010-085343JP, 2010-029178JP

出願番号:

2012-224512JP

〈製品問い合わせ先〉

生産技術部 バイオデバイス事業チーム 徐 杰

TEL: 0436-42-1636 FAX: 0436-42-9334