

細胞スクリーニング用低コストチップの開発

材料技術課 大永 崇、 加工技術課 小幡 勤、 企画管理部 P J 推進担当 氷見清和*
富山大学大学院 医学薬学研究部免疫学講座 岸 裕幸

1. はじめに

多数の細胞や微生物の中から必要な性質を持ったものを選び出すことは、バイオテクノロジーの基礎技術として極めて重要である。本研究ではそのためのツールとして、1個の細胞や微生物を収納できる穴が格子状に多数配列した構造を持つチップを開発した。樹脂を用いる成形により低コストでチップを提供できるようにすると共に、チップ表面に反応性を導入して抗体、酵素、色素などを表面に固定できるようにした。これにより、穴に入った特定の細胞や微生物が産生する物質が穴の周りの発光や色の変化を生じさせ、その穴がマークされることで、スクリーニングが可能となる(1例を図1に示す)。現在シリコンなどで作製され非常に高価なこのようなチップを、従来の1/10以下の価格で製造することを可能とした。

2. 開発した細胞スクリーニング用チップ

本研究により開発した細胞スクリーニングチップの1例を図2に示す。図2のチップはBリンパ球用のチップであり、スライドガラスサイズの大きさでチップ中央にBリンパ球を個々に収納するためのマイクロウェルアレイを有する(図2(a)参照)。マクロウェルはBリンパ球のサイズに適合するよう、内接円直径10 μ m、深さ14 μ mとしてある(図2(b)参照)。

ウェルの形状、配列、総数などは対象とする細胞等に合わせる事が可能である。本チップは、表面機能、ウェル構造、スクリーニング機能、供給性・コストに特長を有しており、それらについて以下で説明する。

(2-1. 表面機能) 本研究のチップは、それを構成する樹脂素材を調製することにより、機能表面を有する。ベース素材においては表面の親水・疎水性の制御が可能であり、タンパク質や細胞の吸着を制御することができる。開発したチップにおいては、これらの非特異的吸着は好ましくないため、吸着量が最も少なくなるよう樹脂を調製している。

またチップ表面には、特定の反応により必要な抗体等を固定するために、反応基を導入している。これを利用して蛍光標識抗体を固定した結果を図3に示す。チップに抗体水溶液を接触させて反応させた場合には蛍光が認められ、抗体が固定化される(図3(a)参照)。一方、同じチップに抗体を接触させただけでは、蛍光は認められない(図3(b)参照)。

(2-2. ウェル構造) 本チップのウェル構造は、図2(b)のもの以外にもニーズに合わせて開発がなされている。明確なニーズとしては、市販の細胞回収装置(エスシーワールド株式会社製 Cellporterなど)に適合するチップがある。この場合、ウェル構造の仕様としては、穴のサイドに同じ深さの溝を有する構造

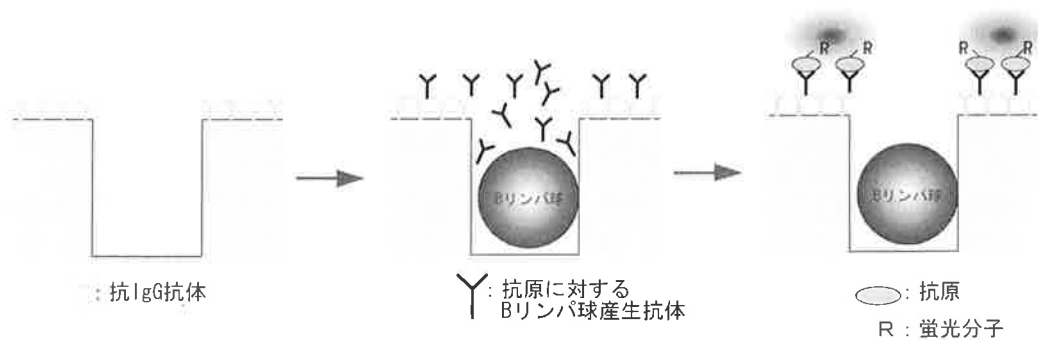
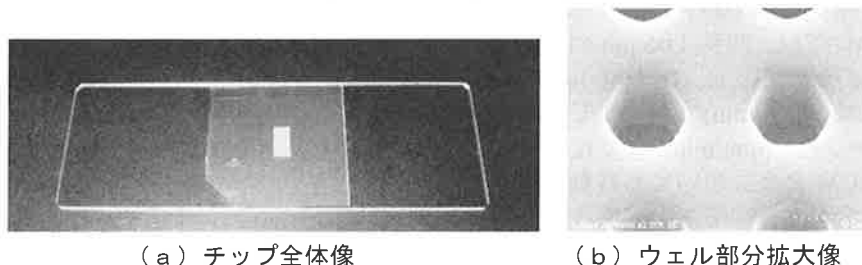


図1 Bリンパ球スクリーニング方法

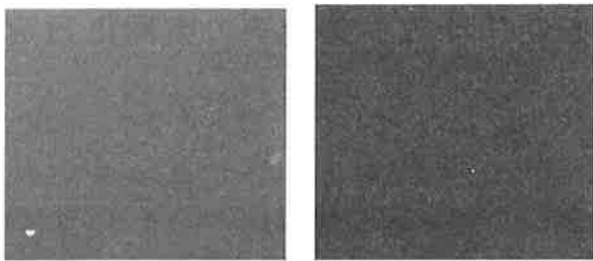


(a) チップ全体像

(b) ウェル部分拡大像

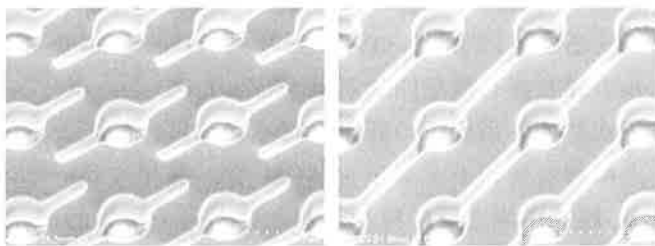
図2 細胞スクリーニング用チップ

*現 商工企画課



(a) 反応あり (b) 反応なし

図3 抗体を接触させたチップ表面の蛍光観察像



(a) ウェルタイプI (b) ウェルタイプII

図4 細胞スクリーニング用チップのウェル構造

が求められる。そこでウェル構造について試作検討し、図4のウェル構造を開発した。この構造では溝部分の幅が $2\mu\text{m}$ でアスペクト比が7と大きいが、本開発の樹脂により容易に成形可能である。

(2-3. スクリーニング機能) 本チップを用い、現在の主要な用途であるBリンパ球スクリーニングについて、富山大学において試験した(試験方法は図1と同様で、詳細は特許第4148367号を参照)。試験には、表面に抗体を固定できる反応基を有し、図4(b)と同じ構造のチップを用いた。試験では、抗体を産生する細胞のウェルが図5の中心付近に見られるように強い蛍光を発する様子が認められ、本研究のチップがBリンパ球スクリーニングに使用可能なことを確認した。またスクリーニング試験全体に関して評価したところ、本研究のチップは細胞接着が全く発生しないことや、細胞回収率、観察性能などに優れることが分かった。

(2-4. 供給性・コスト) 本研究のチップは、低コストで大量供給が可能である。チップ生産は、図6の卓上型UV硬化装置(1kWの高圧水銀ランプを装備し、ワークエリアが約 $200\times 200\text{mm}$)のような小型設備によ



図5 細胞スクリーニング試験における蛍光観察像

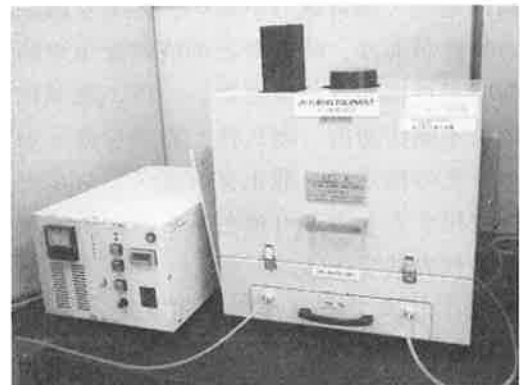


図6 卓上型UV硬化装置

り、100枚/時は容易に達成でき、よって10,000枚/月の提供が可能である(現在の需要規模には十分な量)。

コストに関しては不確定な部分が多いが、最も影響が大きい鋳型の償却コストは、1枚の鋳型からの生産量を上げられれば劇的に低下する。既にこの生産量として100枚以上を確認し、さらに他の知見からは1~2桁程度の向上が期待できる。現在、鋳型価格=シリコン製チップ価格であるので、本チップの価格をシリコン製の $1/10$ 以下にし、さらに低コスト化することは十分に可能である。

出願特許

特願2008-320217「マイクロウェルアレイチップ」

[謝辞]

本研究は、科学技術振興機構 重点地域研究開発推進プログラム 平成20年度シーズ発掘試験により実施した。ここに謝意を表す。

キーワード： 細胞、スクリーニング、マイクロチップ、樹脂、抗体、固定化

Development of Micro-well Array Chips for Screening Cells

Takashi OHNAGA, Tsutomu OBATA, Kiyokazu HIMI, and Hiroyuki KISHI

Novel micro-well array chips were developed for screening cells. Reaction sites were introduced into the surface of the chip and it became possible that antibodies were covalently bonded to the surface. The product from cells in wells was selectively caught around the well by the antibodies and cell screening became possible with marking the caught product by the fluorescent-labeled antibodies.