

# ハイブリッド型細胞チップの研究開発

加工技術課 小幡勤 材料技術課 大永 崇

富山大学医学薬学研究部 岸裕幸

関東学院大学工学部 小岩一郎

## 1. 緒言

ヒトの免疫機能を利用した抗体医薬に注目が集まっている。抗体医薬はヒトがそもそも体内に有する生体機能を利用しているので、効能が高くしかも副作用が非常に少ない。この免疫機能は、おもに血液中のリンパ球がその役割を担っている。

すでに当センターでは、半導体基板であるシリコンを用いた抗体産生細胞（リンパ球）をスクリーニングし、回収するシステム（ISAAC：Immunospot-array assay on a chip）を富山大学医学薬学研究部などと共同で開発している。また本システムで新型インフルエンザ、がん細胞に対応する抗体の取得に成功しており、今後の期待を集めている。

本研究では、より安価なシステムの構築と効率化を目指して新しい細胞チップを開発することを目的としている。

## 2. ハイブリッド細胞チップ

従来のシリコン型細胞チップは、半導体集積回路製造技術を応用した MEMS 技術を用いて開発している。本技術は、非常に微細な加工でも精度よく作り込むことができ、また抗体検出システムとの親和性もよいため主流の技術となっている。しかし、シリコン型細胞

チップにはリンパ球を積極的に基板表面に形成されたマイクロウェル（直径 10 $\mu$ m 程度）に收容するような機能を有していない。

現在シリコン型細胞チップのウェルへのアレイ率（細胞の入ったウェル数/全ウェル数）は、40%程度であり効率の悪いものとなっている。よって、これを改善する何らかの方法によってリンパ球を能動的にウェルへ收容できるようになれば、より少ない末梢血を用いた診断・検査などの用途には展開が可能になる。

能動的に細胞を取り込む手段として、これまで真空吸引などの方法が検討されているが、この方法は吸引時に細胞を破壊するなどのダメージを与えることがあることや、構造上数十万個というウェルを並べるような細胞チップの実現は難しい。

本研究では、磁気を利用して細胞を吸引する方法を検討している。この方法は本来血液中のリンパ球を選別するための磁気ビーズ法を応用したもので、ナノメートルサイズの磁気ビーズを細胞表面に修飾し、磁界を印加することでウェルへ細胞を引き寄せせるものである。

基板は安価なガラスを使用する。また、ウェルは樹脂などの材料によって作製、めっき技術も応用してよ



Fig.1 Hybrid Micro-well Array Chip

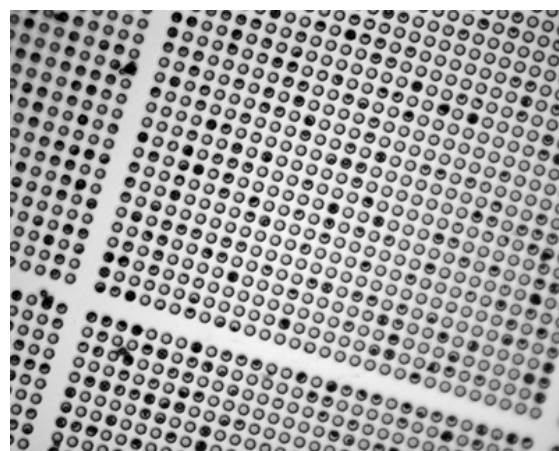


Fig.2 Seeding the magnetic beads (after 1min)

り強く吸引できるようにしてある。

### 3. 評価

評価は取扱いが容易な磁気ビーズを利用している。磁気ビーズは、直径 6~8 $\mu\text{m}$  程度の大きさの樹脂ビーズに酸化鉄などの磁性材料をコートしたもので、それをチップ上に播種した際の様子を観察することで評価を行った。

試作したチップをネオジム磁石上に載せて磁気ビーズを播種すると数秒でほぼすべての磁気ビーズがマイクロウェルに収容された。これは磁性膜の磁力で吸引した際と比較しても顕著な効果が確認できた。

さらに実際の生体細胞による確認もおこなった。利用した細胞は、マウスの B リンパ球で富山大学医学薬学研究部・岸准教授より提供を受けた。B リンパ球は、マウスの脾臓を回収、それを精製することで得た。B リンパ球を分離後、その表面に 250nm 径の磁気ビーズを修飾した。

用意したリンパ球は、鮮度があるうちに試作チップに播種し、その様子を観察した。リンパ球がウェルに収容されることを確認できたが、一部はチップ表面に残る傾向が見られた。これは磁気ビーズ単体と違い、細胞の粘着性によって、重力で着地した細胞が表面にとどまったものと推測される。懸濁液に浮遊している間に磁気トラクターによってうまく吸引されたもののみがウェルに入ったと思われる。

### 4. 結言

リンパ球などの細胞を効率よく 1 個単位で取扱いが可能な能動型細胞チップの開発を行った。従来のシリ

コンチップと比較して、様々な技術が融合したハイブリッド型細胞チップは、マイクロウェルの単細胞の配置という機能において優秀な機能を持つことがわかった。

今後、ISAAC 法の効果的な応用展開と、本チップの適用で感染症治療やガン治療に大きく寄与することが期待できる。

本研究関連成果の一部は、米国科学雑誌「Nature Medicine (ネイチャー姉妹誌)、2009 年 9 月号」(ISAAC 法及び新型インフルエンザ抗体取得)、速報誌「BBRC : Biochemical and Biophysical Research Communications」(ISAAC 法によるガン細胞 TRAIL 受容体抗体の取得)に発表した。また、一部は文部科学省知的クラスター第 II 期・ほくりく健康創造クラスターの成果である。

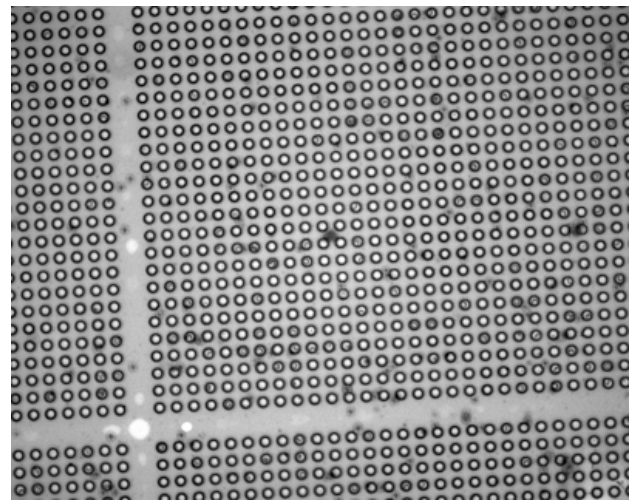


Fig2 Seeding Test (Mouse Lymphocyte)

## Development of hybrid micro-well array chip

Tsutomu OBATA

Hiroyuki Kishi (University of Toyama, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences)

Ichiro Koiwa (Kanto Gakuin University, Engineering Department)

We developed a hybrid micro-well array chip for treating one cell efficiently. The micro-wells with magnetic trap enable to hold the magnetic beads and mouse lymphocytes. It was able to accommodate the cell more efficiently by adding the magnetic field compared with the past. In the test that used magnetic beads (6-8micron in diameter), it succeeded in the trap of all almost beads. Moreover, the performance in mouse's lymphocyte was able to be confirmed.