



平成31年度研究助成 【サウンド技術振興部門】より

大規模単一細胞解析の普及へ向けた 音響型細胞整列マイクロ流路プラットフォームの構築

東京大学大学院理学系研究科 特任助教

地方独立行政法人神奈川県立産業技術総合研究所
常勤研究員

磯崎 瑛宏

1. はじめに

食料問題やエネルギー問題は、QOLの根幹を成す問題である。これらの問題を解決し得る素材として、近年では藻類（ユウグレナやクラミドモナス）が着目されている。現在の主な藻類の研究方法は、細胞をひとつひとつ顕微鏡で観察することにより、形質の変化など確認することである。一方で、近年では大規模単一細胞解析研究が盛り上がりを見せている。細胞にも個性があるため、全体の平均ではなく、ひとつひとつの細胞を丹念に見ていくことが必要であり、かつ数千から数十万個の細胞を見ることで、細胞の特性を理解しようという研究分野である。しかし、このような技術の利用には高度・高価なマイクロ流路が必要という参入障壁が存在した。そこで本研究は、音響波を利用した簡易・安価なマイクロ流路で参入障壁を取り除き、藻類の大規模単一細胞解析研究の裾野を広げて研究分野の発展に貢献することを目指している。

2. 大規模単一細胞解析への参入障壁と目指すべきところ ～筆者の主観～

大規模単一細胞解析技術とは、単位時間あたりにたくさんの細胞を観察する技術であるが、一部の限られた人しか使うことができない。

い。その原因はさまざまであるが、一側面を、図1を用いて説明する。生物は非常に多様であり、同じ種類の細胞でも様々な形態を示す。形態を顕微鏡で丁寧に観察することで、生物学的知見を積み重ねることができる。たとえ潤沢な予算が無くとも、このように丁寧に顕微鏡で観察して新種を発見したり、特異な現象を発見したりすることは（原理的には）可能であり、現

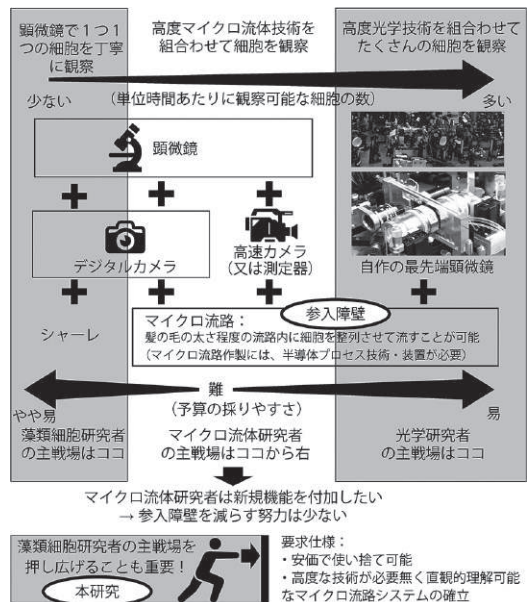


図1 単位時間あたりにたくさんの細胞を観察する技術（大規模単一細胞解析技術）と参入障壁

在でも多く行われている手法である（図1の左上）。しかしながら、顕微鏡で観察するとどうしても時間がかかる。その問題を解決するために、超高性能自作顕微鏡が多数開発されている（図1の右上）。これは非常に優れた技術であり、顕微鏡技術と比較すると、1000倍以上の高速化が見込まれ、生物学を大きく前進させる可能性を秘めている。しかしながら、この技術を利用するためには、高度な光学技術と、高性能なマイクロ流体デバイスが必要であり、大きな参入障壁となっている。

一方で、顕微鏡技術の10倍の高速化でも十分に大きなメリットがあるはずである。しかしながらそのような研究はあまり行われていない。あくまで筆者の主観であるが、その原因は、それぞれの研究者が考える研究としての面白さ、および予算の採りやすさに起因していると考えている。筆者は工学系の研究者なので、その視点から述べる。世界最先端の計測技術が、顕微鏡技術の1000倍の速度である場合、研究として目指すところは10000倍の速度など、今まで誰も達成していない領域である。そこに研究としての面白さ（新規性）があるからである。さらに、「世界一を目指す」と書くと研究予算も採りやすい（これはとても大切）。たとえ、生物学者が顕微鏡技術の10倍の速度で使える技術が欲しい、と言っても、工学系研究者はそこに興味を持ちにくい。研究予算の獲得と論文の執筆が難

しいからである。しかしながら、筆者はこのような領域の研究が本質的に重要なのではないかと考えている。すなわち、潤沢な予算を持たない研究室でも使用可能な、中規模単一細胞解析技術を提供することができれば、研究の裾野を大きく広げることに繋がり、延いては研究レベル全体を押し上げることに繋がるのではないかと考えている。このような背景のもと、筆者は安価でかつ中規模な単一細胞解析が可能となる技術の開発を試みることにした（図1の下）。具体的には、顕微鏡とデジタルカメラ（または比較的安価なハイスピードカメラ）と安価なマイクロ流路を用いて大規模（中規模？）単一細胞解析を行うプラットフォームを構築する。

3. 1本200円のガラスキャピラリーを用いて細胞を整列

本研究のコア技術は、安価なマイクロ流路の開発である。細胞を一行に並べ（細胞整列技術）、カメラの視野内に連続的に細胞を供給することが、マイクロ流路の役割である。表1に示すように、細胞整列技術は主に、流体中に流れる細胞の慣性力を用いて細胞を並べる技術（Inertial focusing）、流路に上下左右から流体を流し込み、中心流体を流路中心に押込むことで細胞を並べる技術（Hydrodynamic focusing）、流路中に定在音響波を発生させ、流路中心に細胞を集めて流す技術（Acoustic focusing）の3つの

表1 細胞整列技術

| | Inertial focusing | Hydrodynamic focusing | Acoustic focusing |
|---------|------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 原理 | 慣性力を用いて、流路の特定の位置に細胞を流す | 周りから押込むように流体を流し、流路中心に細胞を流す | 流路中に定在音響波を発生させて、流路中心に細胞を流す |
| 適用可能な流速 | > 数 m/s | 数 m/s | < 数 cm/s |

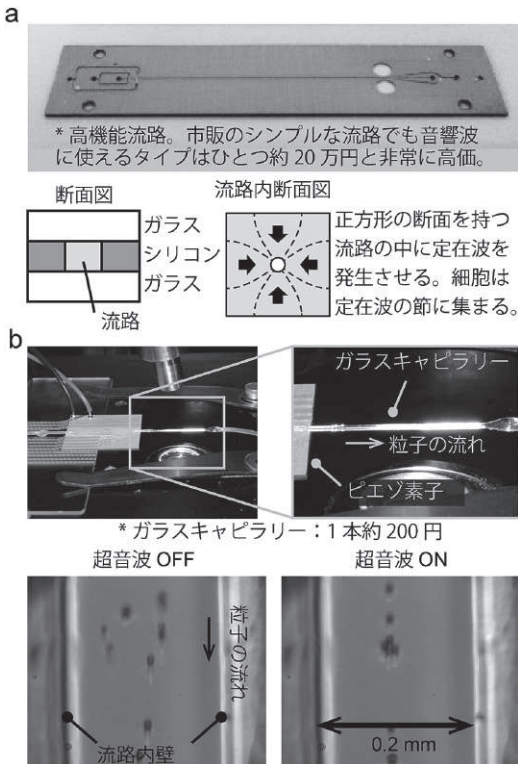


図2 音響型細胞整列デバイス (a)半導体プロセスを用いて試作したデバイス^{1), 2)} (b)ガラスキャピラリーを用いた試作デバイス。ピエゾ素子にガラスキャピラリーを貼り付けた簡単な構成で7 μ m粒子の整列に成功。

技術がある。それぞれ、適用可能な流速が異なっている。本研究では、流速を遅くする必要があるので、Acoustic focusingが最も適している技術となる。

図2 aに筆者がこれまで使ってきたマイクロ流路（名古屋大学新井研究室提供）を示す^{1), 2)}。断面図に示すように、シリコンがガラスでサンドイッチされた構造となっている。この流路に適切な周波数を持つ音響波を与えると、流路内に定在波が立ち、細胞が流路中心に集まる。ここでは幅200 μ mの流路を用いていたため、音響周波数は、3.6MHzを印加した。この流路を用いると、細胞整列がきれいに行える。一方で、このような流路を作製するためには、高度半導体製造装置が必要になる。市販の流路として購入する場合には、ひとつ約20万円程度するなど、非常に高価である。

図2 bは筆者らがこれまでに試作したガラスキャピラリーを用いた流路である。ガラスキャピラリーは市販のものを利用しており、1本約200円と非常に安価である。ここに音響波を与えると、粒子がきれいに整列する様子が確認できた。さらなる条件検討が必要であるものの、大規模単一細胞解析に使用できる可能性を十分に示していると言える。

4. 実は…

音響波による細胞整列技術は、スウェーデンのThomasグループが中心となり多くの研究発表を行っているほか、一部の大規模単一細胞解析装置（Thermo Fisher社製）にも採用されている。さらに、歴史的には、ガラスキャピラリー

ーに音響波を与えることで細胞を整列させ、細胞の蛍光情報を検出する装置は提案、実証されている。従って、本研究で提案している内容は、大きな新規性があるとは言えない。一方で、近年ではデジタルカメラの性能向上や、ハイスピードカメラの低価格化などにより、流路内に流れる細胞の形態を観察することが容易になってきている。このような周辺技術の変化により、ガラスキャピラリーを用いたデバイスの再構築にも意義があると考えて取り組んでいる。

5. 今後の展開

本研究の目的が達成されると、大学やベンチャー企業など潤沢な予算を持たない研究グループが細胞整列技術を利用可能になり、大規模単一細胞解析研究の裾野が広がる。特に、情熱を持って藻類の研究に取り組む研究者が大規模単一細胞解析技術を手にするにより、多くのブレークスルーが期待でき、食糧問題やエネルギー問題の解決、延いては（少し遠い未来かもしれないが）それら資源を奪い合って起きる戦争や内戦なども減少し、QOL向上へ向かうと期待される。また、本技術の応用先は藻類に限定されるものではなく、細胞全般や化粧品などの粒子の解析技術としても有用であるため、幅広い波及効果が期待できる。

謝辞

本研究の一部は、一般財団法人カワイサウンド技術・音楽振興財団の研究助成によって遂行されました。2節や4節で述べたように、工学系としての新規性が大きくない中、研究の重要性に共感していただき助成いただいたものと理解しています。ここに深謝申し上げます。また、本研究の一部は、地方独立行政法人神奈川県立産業技術総合研究所の研究事業の一環として行われました。

参考文献

- 1) Isozaki, A.; Mikami, H.; Hiramatsu, K.; Sakuma, S.; Kasai, Y.; Iino, T.; Yamano, T.; Yasumoto, A.; Oguchi, Y.; Suzuki, N.; Shirasaki, Y.; Endo, T.; Ito, T.; Hiraki, K.; Yamada, M.; Matsusaka, S.; Hayakawa, T.; Fukuzawa, H.; Yatomi, Y.; Arai, F.; Di Carlo, D.; Nakagawa, A.; Hoshino, Y.; Hosokawa, Y.; Uemura, S.; Sugimura, T.; Ozeki, Y.; Nitta, N.; Goda, K.; *Nat. Protoc.* 14, 2370-2415, 2019.
- 2) Nitta, N.; Sugimura, T.; Isozaki, A.; Mikami, H.; Hiraki, K.; Sakuma, S.; Iino, T.; Arai, F.; Endo, T.; Fujiwaki, Y.; Fukuzawa, H.; Hase, M.; Hayakawa, T.; Hiramatsu, K.; Hoshino, Y.; Inaba, M.; Ito, T.;

Karakawa, H.; Kasai, Y.; Koizumi, K.; Lee, S-W.; Lei, C.; Li, M.; Maeno, T.; Matsusaka, S.; Murakami, D.; Nakagawa, A.; Oguchi, Y.; Oikawa, M.; Ota, T.; Shiba, K.; Shintaku, H.; Shirasaki, Y.; Suga, K.; Suzuki, Y.; Suzuki, N.; Tanaka, Y.; Tezuka, H;

Toyokawa, C.; Yalikun, Y.; Yamada, M.; Yamagishi, M.; Yamano, T.; Yasumoto, A.; Yatomi, Y.; Yazawa, M.; Di Carlo, D.; Hosokawa, Y.; Uemura, S.; Ozeki, Y.; Goda, K.; *Cell* **175**, 1, 266-276, 2018.