

## E305

## マイクロ流体デバイスを利用した細胞の形状依存分離手法の開発

(千葉大工)○(学)菅谷 紗里・(正)山田 真澄・(正)関 実\*

## 1. 緒言

複雑な細胞集団から特定の形状を有する細胞を分離・選抜する技術は、生化学や細胞生物学等の研究分野のみならず、医療診断や再生医療の分野において必須である。現在、細胞選抜のためにフローサイトメトリー(FACS)や磁気細胞分離法(MACS)など様々な手法が用いられているが、形状の違いを基に微粒子や細胞を簡便に分離する手法はこれまでに確立されていない。一方、当研究室ではマイクロチャンネル層流系を利用し、微粒子・細胞を大きさに依って分離する水力学的濾過法(Hydrodynamic filtration, 以下 HDF) [1] の開発を行ってきたが、対象とする粒子は球形であることが前提であり、非球形粒子の分離挙動は未知であった。そこで本研究では、非球形モデル粒子を作製し、その挙動を解析することで、HDF の形状依存分離への適用可能性を検討した。また実際に形状に依存した細胞の分離を試みた。

## 2. 実験

粒子の挙動を観察するために、直径  $10\ \mu\text{m}$  の蛍光球形ポリマー粒子の半球に Au 薄膜をスパッターコートし、部分的に蛍光標識された粒子を作製した [2]。さらに、遠心により半球 Au コート粒子を 2 または 3 個凝集させ、非球形モデル粒子(twin, triplet)を作製した(図 1)。Twin 粒子は分裂時の JM 細胞と同様の形状を示しており、分裂期の細胞モデルとして有用である。

次に共焦点 MicroPIV により HDF マイクロチャンネル内の速度分布を可視化するとともに、ハイスピードカメラによりモデル粒子のチャンネル内での挙動を観察した。

また、球形( $\phi = 10, 15, 20\ \mu\text{m}$ )および非球形モデル粒子(twin, triplet), また出芽酵母を HDF マイクロチャンネルに導入し、形状に基づく分離を行った。

## 3. 結果・考察

図 2 に HDF マイクロチャンネル内の流速分布と観察された球形および非球形粒子の挙動の模式図を示す。HDF ではメインチャンネルにおける分岐点において、壁面近傍の流れ(幅  $w_1$ )がブランチチャンネルに導入される。球形粒子の場合、半径が  $w_1$  より大きい微粒子はブランチチャンネルに導入されないため、大きさに基づいた分離が達成される。そして、分岐点近傍において球形粒子と非球形粒子の挙動に違いがあれば、形状に基づいた分離が可能となることが予想される。観測された微粒子は、チャンネル内の速度分布により壁面付近において回転運動を行っており、短径が同じで長径が異なる非球形粒子は壁面からの粒子の中心までの距離が変わるため、粒子の中心位置が一定の球形粒子との分離が可能であることが示唆された。

次にモデル粒子の分離結果を図 3 に示す。非球形 Twin 粒

子は球形粒子( $\phi = 10, 15, 20\ \mu\text{m}$ )とは異なる出口から回収された。また出芽酵母の分離を行ったところ、出芽中の細胞(または凝集細胞)と単一の細胞に分離することが可能であり、形状に基づく細胞の分離が達成された。

## 4. 結言

モデル粒子を作製し、HDF チャンネル内での球形および非球形粒子の挙動を明らかにした。そして、微粒子の挙動の違いを基に、形状に依存した微粒子/細胞の分離を達成した。この分離手法は分裂期の細胞の選抜やバクテリアの生物種による分離などに適応可能な有用な実験手法である。

## 5. 参考文献

- [1] M. Yamada and M. Seki, *Lap Chip* **5**, 1233 (2005).  
[2] C. J. Behrend, J. N. Anker and R. Kopelman, *Applied Physics Letters* **84**, 154 (2004).

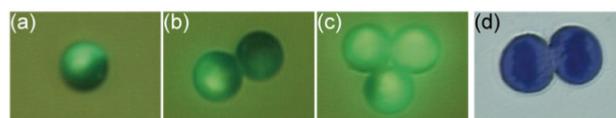


図 1. 作製したモデル粒子と JM 細胞: (a) 球形, (b) twin, (c) triplet, (d) 分裂期の JM 細胞. Scale bar =  $10\ \mu\text{m}$ .

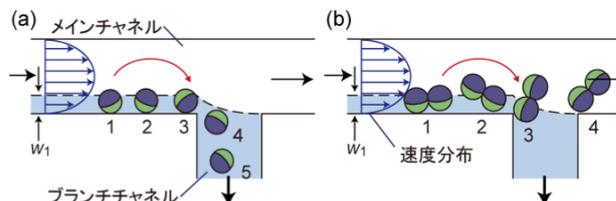


図 2. 観測された粒子の挙動模式図: (a) 球形粒子, (b) 非球形 twin 粒子。

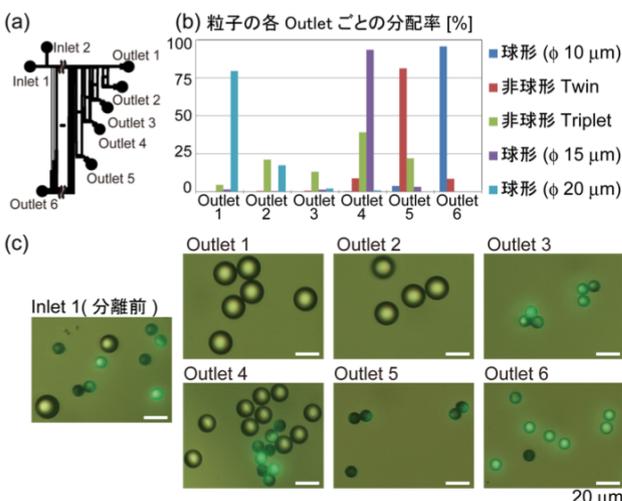


図 3. モデル粒子の分離: (a) 実験デバイス模式図, (b) 粒子の分配率, (c) 回収された粒子。

\*Tel/Fax: 043-290-3436

E-mail: mseki@faculty.chiba-u.jp