

マイクロ流路技術を利用した W/O ドレップレット・ マイクロゲルドロップ作製とスクリーニングへの応用

いしげ まさゆき
石毛 真行

株式会社オンチップ・バイオテクノロジーズ ユーザーサポート部



略歴

- 2006年 東京大学医科学研究所 FACS コアラボ 研究員
- 2009年 国立感染症研究所 免疫部 研究補助員
- 2013年 熊本大学大学院医学教育部医学専攻 博士課程(医学)終了
- 2013年 株式会社オンチップ・バイオテクノロジーズ入社 (現在に至る)

専門分野

蛍光標識した細胞を分取する装置フローサイトメーター(FACS 含む)を免疫学、ウイルス学を中心とした研究で活用し、ヒト化マウスを使用した *in vivo* における HIV 感染初期の動態解析で学位を取得する。その後、フローサイトメトリーの知識を生かすため、国産セルソーターの開発・販売を手掛ける株式会社オンチップ・バイオテクノロジーズに入社し現在に至る。フローサイトメーターの活用法を拡大し、海外メーカーに負けない国産理化学機器の発展に貢献することを切に願う。

近年、シングルセルを 20~100 μm という小さな器に入れて、溶解・反応などをさせるツールを使用した装置が研究分野においても活躍し始めている。そのツールとは、Water-in-Oil(W/O)ドロップレットのことである。この W/O ドロップレットは、まわりがオイルで中が水溶液のもので、その境界に界面活性剤が存在することで安定している。その現象は言い換えれば乳化(emulsification)であり、乳液(emulsion)のことである。主な例を上げると、バターやマーガリンは W/O 型で、マヨネーズや生クリームはその逆の O/W 型である。本日は、W/O ドロップレットおよびその延長線上で作製可能なゲルマイクロドロップ(GMD)の話を中心とするが、いずれもバターやマーガリンのイメージとは異なり、液体状で扱いやすい応用例となる。ではその W/O ドロップレットをどうやって研究に生かすのか？このことは我々が考えなくてはならない課題となっている。W/O ドロップレットの一番大きな特徴は、直径 35 μm のドロップレットで約 22pL、直径 100 μm で 524pL という極小な体積の空間に水溶液閉じ込めることができ、それぞれが器となることである。既に装置として知られている例は、Droplet Digital PCR(ddPCR):1 ドロップレット/1DNA 断片となるようにプライマー・プローブ等と一緒に封入して PCR をかけ、陽性・陰性ドロップレット数でその割合を解析し、PCR 検出感度向上に貢献した製品や細胞と一緒にバーコード付きのビーズを封入して次世代シーケンス(NGS)の前処理として使用し、シングルセル発現解析などを容易にすることに貢献した製品が展開されている。これらに共通する技術は、マイクロ流路を使用していることがあげられる。W/O ドロップレットは、極端なことを言ってしまうと、水溶液と油と界面活性剤をボトルに入れて激しく振れば作製できてしまう。しかしながら、この作製方法では研究用途で使用するにはハードルが高い。なぜなら、作製されるドロップレットのサイズは、大きいものから小さなものまで様々となるからである。これでは1 ドロップレットに1 細胞封入することは難しい。その解決策として、マイクロ流路を使用することで均一なドロップレットを作製することができる。我々は、極小空間にシングルセルを閉じ込め分泌物をも封じ込める W/O ドロップレットの可能性と正確なサイズの W/O ドロップレットを作製するマイクロ流路技術に注目して、シングルセルが分泌する物質を指標にスクリーニングすることができないか検討した。まず始めに大腸菌をターゲットとしてドロップレットへの封入・ターゲットの分取・シングル化の Proof of Concept を確認した。その次に、有用微生物単離の可能性追求、最後に、抗体産生細胞単離の可能性追求と進めた。我々は今回、これら詳細をお話しすると共に、W/O ドロップレットの理解と利用発展のための起爆剤となれば良いと考えている。