

循環腫瘍細胞・セルクラスター・セルフリー核酸を調べるためのシンプルな分離法

生活資材開発課 高田耕児

公立大学法人富山県立大学 安田佳織 国立大学法人北海道大学 菊地 央

1. 緒言

リキッドバイオプシーは身体への負担が少ない液性検体(血液など)を診断等に利用する技術である。リキッドバイオプシーの検体から循環腫瘍細胞、セルクラスター、セルフリー核酸を分離してそれぞれを調べることができれば、次世代シーケンスをはじめとした解析技術の進歩を多面的・重層的に利用できるようになり、癌の不均一性をより深く理解することのできる新しいリキッドバイオプシーを生み出すことができると考えられる。その実現のために必要となるのがシンプルな分離法である。本研究では、循環腫瘍細胞だけではなくセルクラスター、セルフリー核酸を分離するためのシンプルなチップとシンプルなデバイスを開発することを目的とする。

2. 実験

これまでの研究で、Deterministic Lateral Displacement 法¹⁾を利用したマイクロ流路チップ²⁾を開発し、血液から培養がん細胞を分離できることを示してきた。またチップと液だめを一体化したカートリッジ³⁾、カートリッジを取り付けてサイズ分離する電動デバイス⁴⁾を開発した。今年度は、まず、血球と血漿を分離するために、サイズ分離の閾値である Critical diameter (D_c)が小さいチップを作製した。具体的には $D_c = 2.3 \mu\text{m}$ のチップ、 $D_c = 2.6 \mu\text{m}$ のチップを射出成形により作製した。Fig.1 に $D_c = 2.3 \mu\text{m}$ 、 $D_c = 2.6 \mu\text{m}$ 、 $D_c = 20 \mu\text{m}$ の流路の顕微鏡写真を示す。柱の直径や間隔が大きく異なるチップであるが、いずれも問題なく成形することができた。次にこれらのチップと液だめを一体化してカートリッジ化した。これで、 $D_c = 2.3 \mu\text{m}$ 、 $D_c = 2.6 \mu\text{m}$ 、 $D_c = 10 \mu\text{m}$ 、 $D_c = 20 \mu\text{m}$ 、 $D_c = 30 \mu\text{m}$ の5種類のカートリッジが完成し、カートリッジ交換するだけで、セルクラスター、細胞、セルフリー核酸の分離実験に対応することができるようになった。Fig.1 に示すように、 D_c によって柱の直径や間隔が大きく異なるため、一つのチップですべての D_c に対応するのは困難または汎用性が低くなると考えられ、カートリッジ交換で柔軟に対応する方法が良いと考えている。電動デバイスはシンプルかつコンパクトであり、デバイスを複数用いて、セルクラスター、細胞、セルフリー核酸を連続的に分離するといったことも容易であると考えられる。

電動デバイスとは別に、カートリッジを取り付けて分離

できる手押しデバイスについても新たに作製した。

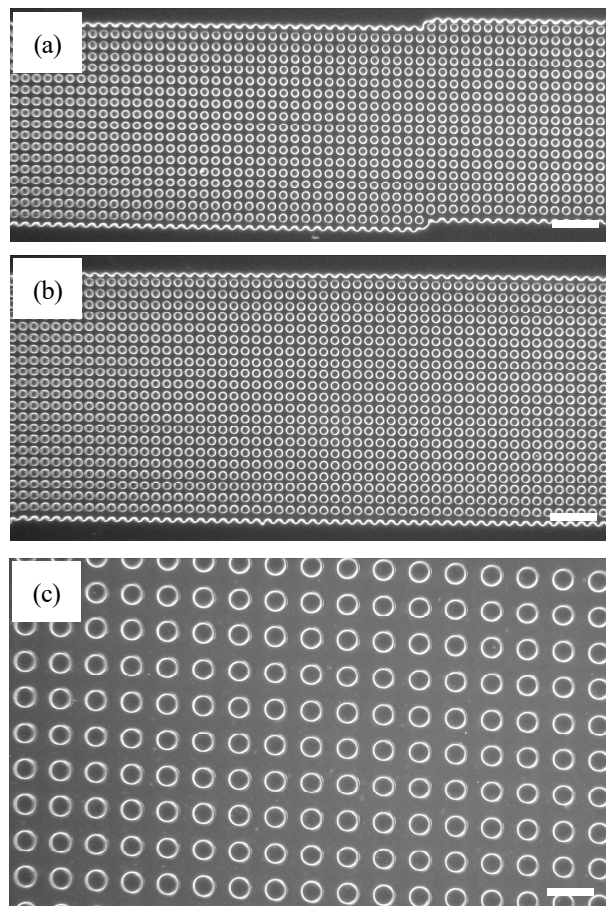


Fig. 1 Microscopic images of channels with different D_c s; (a) $D_c = 2.3 \mu\text{m}$, (b) $D_c = 2.6 \mu\text{m}$ and (c) $D_c = 20 \mu\text{m}$: Scale bars are 200 μm

3. 結言

5種類のカートリッジを作製し、カートリッジ交換するだけで、セルクラスター、細胞、セルフリー核酸の分離を検討することができるようになった。今後、性能を評価する実験を行う。

参考文献

- 1)Huang *et al.* Science **304** (2004) 987-990
- 2)富山県工業技術センター研究報告 **31**(2017) 112
- 3)富山県産業技術研究開発センター研究報告 **34**(2020) 69
- 4)富山県産業技術研究開発センター研究報告 **36**(2022) 52

謝辞

本研究はJSPS 科研費 JP20K12706 の助成を受けたものです。