

循環腫瘍細胞・セルクラスター・セルフリー核酸を調べつく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検体から血液中を循環する腫瘍細胞、セルクラスター(細胞塊)、セルフリー核酸(細胞外の核酸)を分離してそれぞれを調べることができれば、最先端の解析技術をそれぞれに対して適用できるようになる。そ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、血液中の腫瘍細胞だけではなく、細胞塊や細胞外の核酸を分離するためのシンプルなマイクロ流路チップと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 Displacement¹⁾を利用したマイクロ流路チップ²⁾、マイクロ流路チップと液だめを一体化したカートリッジ³⁾、カートリッジに送液するための電動デバイス⁴⁾を開発した。また、サイズ分離の閾値の異なるチップ⁵⁾を開発し、カートリッジ交換で様々な閾値を検討できるようにした。今年度は、サイズ分離の閾値が30 μm と2.3 μm のチップを用いて分離実験を行った。

まず、閾値が30 μm のチップを用いて細胞塊と単一細胞との分離を検討した。腎がん由来の培養細胞の培養液またはそれを血液に混ぜたサンプルで分離実験を行ったところ、Fig. 1に示すように小さい粒子(細胞)と大きい粒子(細胞塊)とに分離することができた。一方、浮遊培養により作成した100 μm 以上のサイズの細胞塊を含む培養液を血液に混ぜて分離すると、細胞塊の分離は可能であるが回収率が低かった。閾値30 μm のチップは柱間隔が90 μm であるため、100 μm 以上の細胞塊がチップに捕捉されたものと考えられる。これらのことから開発したチップでは柱間隔90 μm より小さいサイズの細胞塊を分離できる可能性が示された。

次に、閾値が2.3 μm のチップで赤血球と血漿の分離を検討した。ラットから採取した血液を分離したところ、赤血球は大きい粒子として分離されなかった。これは、赤血球(直径約8 μm 、厚み約2 μm)が開発したチップの中では2.3 μm より小さい粒子(厚み程度の大きさの粒子)としてふるまう可能性を示している。今後、赤血球のこの性質を利用した分離方法を検討する。

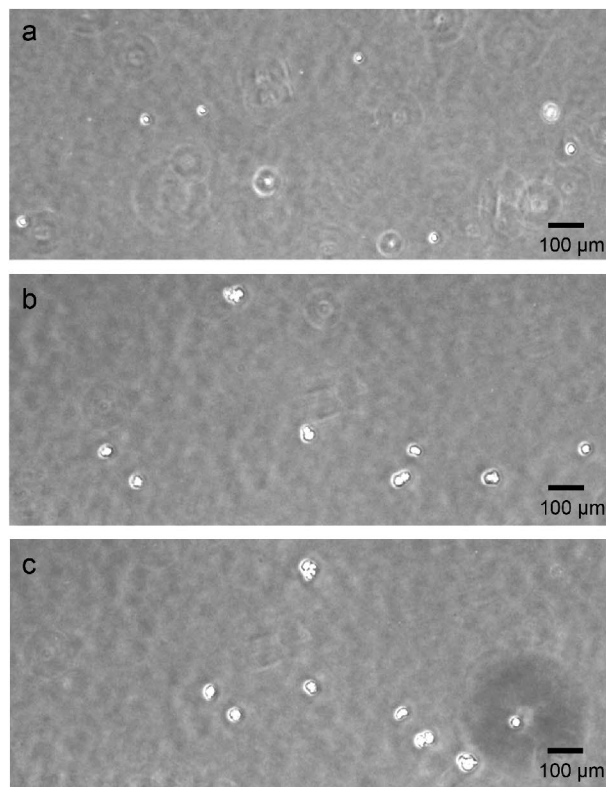


Fig. 1 Microscopic images of (a) single cells and (b) cell clusters separated from the culture medium, and (c) cell clusters separated from the blood sample using the microfluidic chips with separation threshold of 30 μm

3. 結言

開発したチップ、カートリッジ、デバイスを用いて分離実験を行い、血液中の細胞塊と単一細胞を分離できる可能性を示した。また、チップ中で赤血球が厚み程度の大きさの粒子としてふるまう可能性を示した。

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
- 5)富山県産業技術研究開発センター研究報告 **37**(2023) 53

謝辞

本研究はJSPS 科研費 JP20K12706 の助成を受けたものです。