

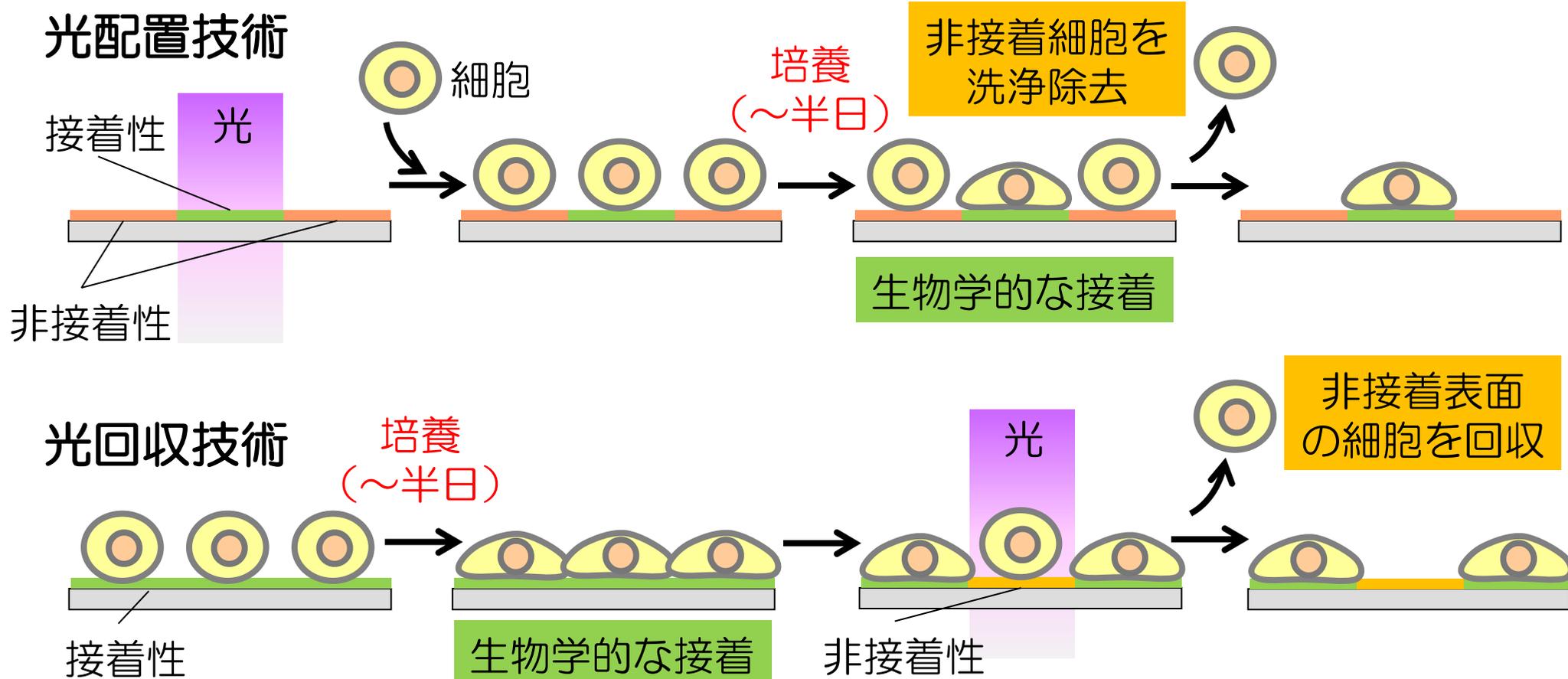
細胞の接着と脱離を光制御できる 細胞培養基材

東京大学 先端科学技術研究センター
准教授 山口 哲志

2021年5月28日

- 従来の光応答性細胞培養基材の問題点
- 新技術（光応答性PEG脂質基材）の特徴
- 想定される用途
 - 画像ベースの細胞ソーティング技術
 - 多種類細胞の迅速配置技術
 - その他
- 実用化に向けた課題
- 企業への期待

- 細胞自身の接着性を利用している
 - ➔ 接着細胞にしか使えない（×：血球や細菌、ウイルス）
 - 時間がかかる（← 洗浄で差がでる強さの接着に半日程度）



- 細胞膜との相互作用で固定化する
➡ 接着性に関わらず任意の細胞を瞬時に光配置

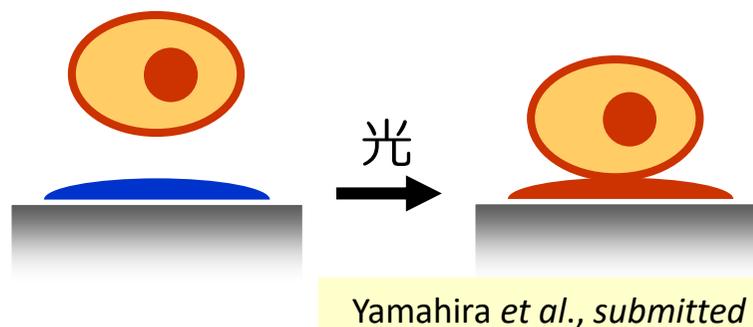


第1世代

光分解性PEG脂質

“光でとれる”

特願2019-550500

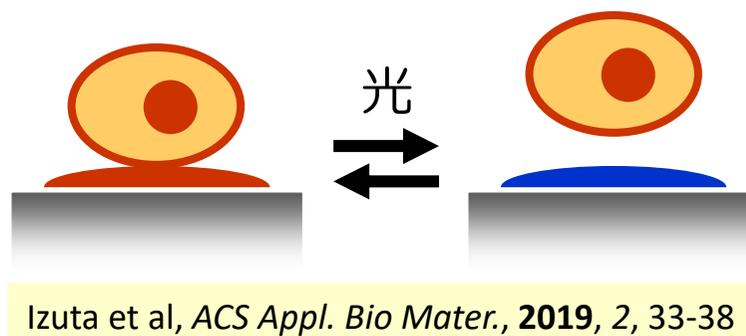


第2世代

光活性化PEG脂質

“光でくっつく”

特願2017-509496



第3世代

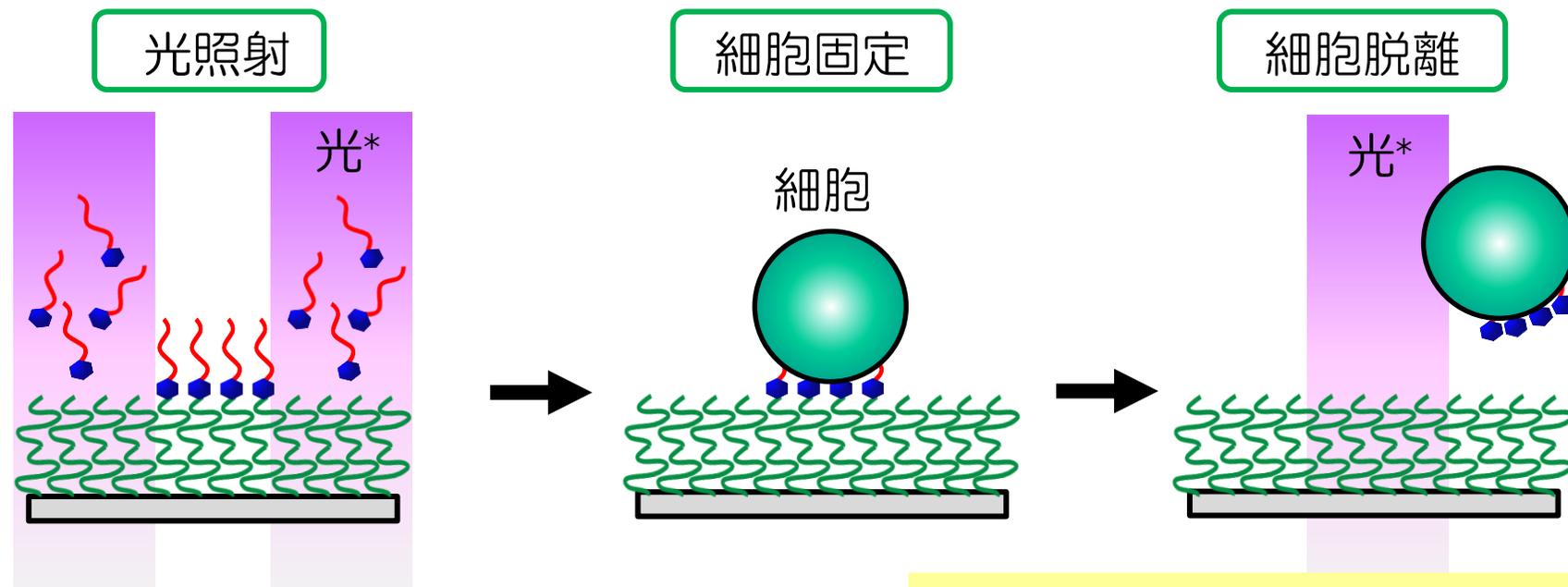
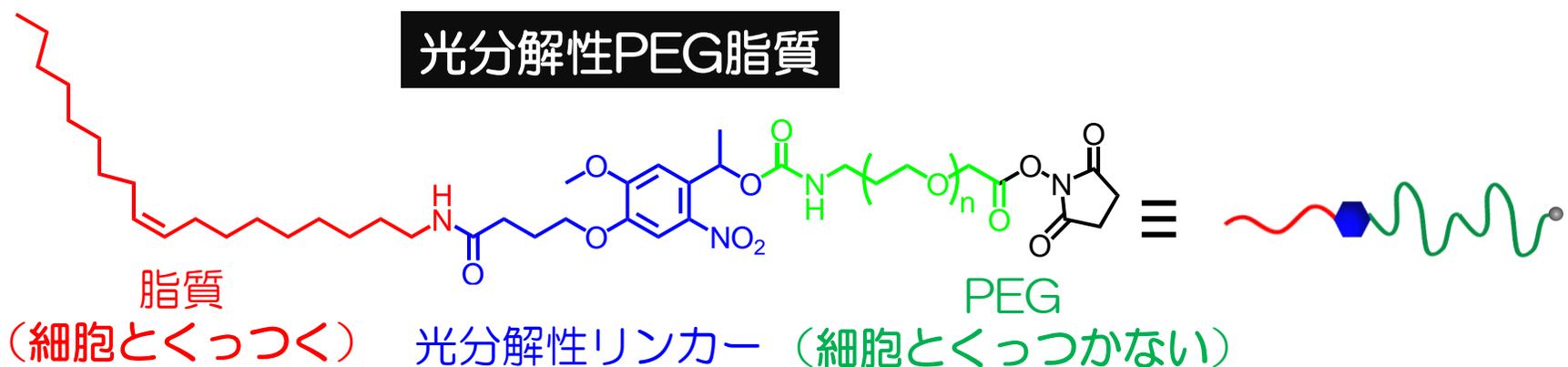
光異性化PEG脂質

“光でくっついたりとれたり、繰り返し”

特願2018-105068

光分解性PEG脂質表面（特許②）

- 光照射表面だけに、任意の細胞を固定化できなくする

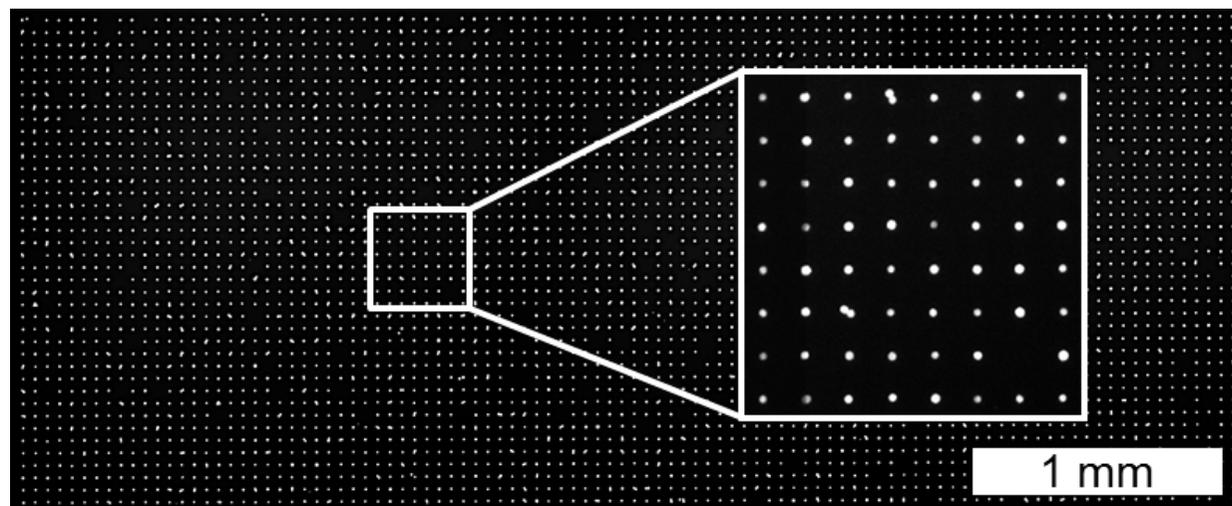
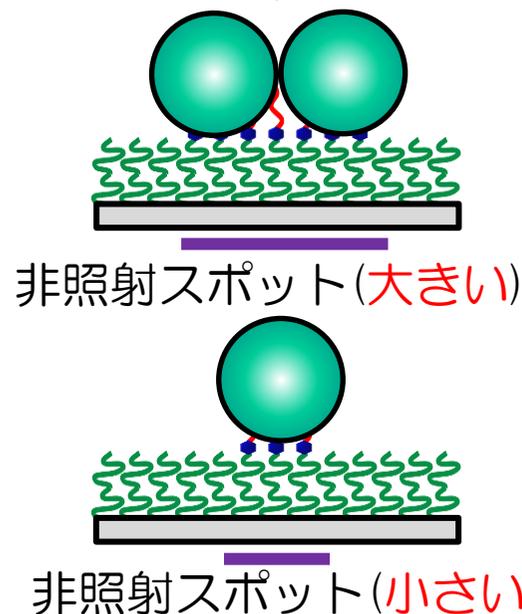


光* : 360~405 nm

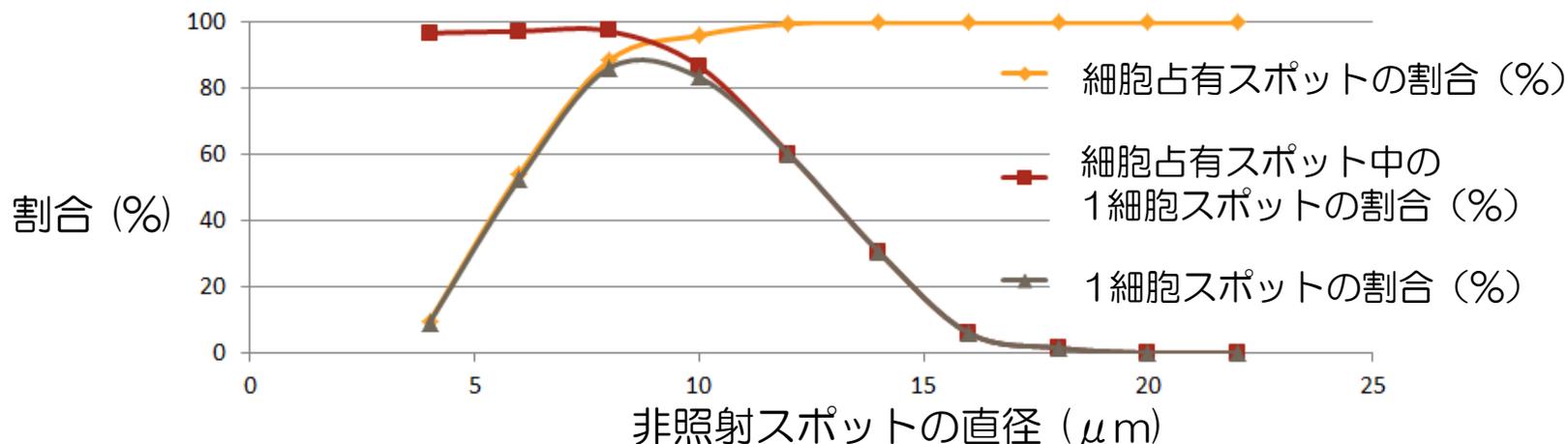
Yamguchi et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **51**, 128 (2012)

光分解性PEG脂質表面（特許②）

- 光照射表面だけに、任意の細胞を固定化できなくする
 ➡ 非照射スポットサイズの最適化により1細胞アレイ構築



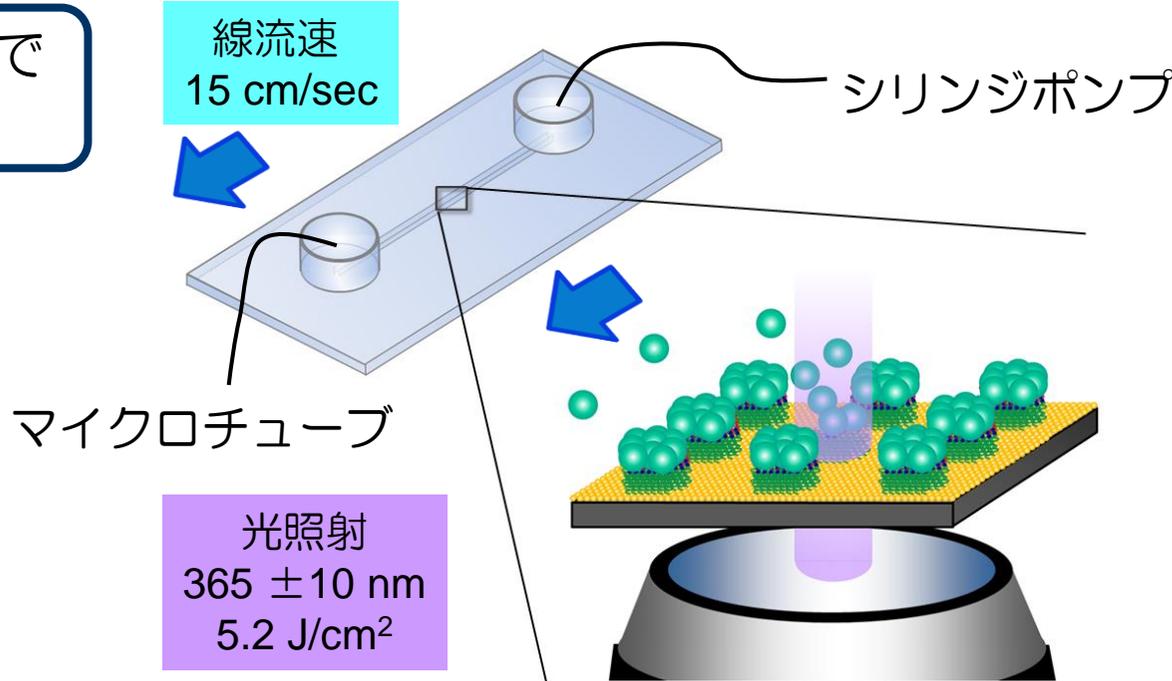
Yamahira et al., *Macromol. Biosci.* **14**, 1640 (2014)



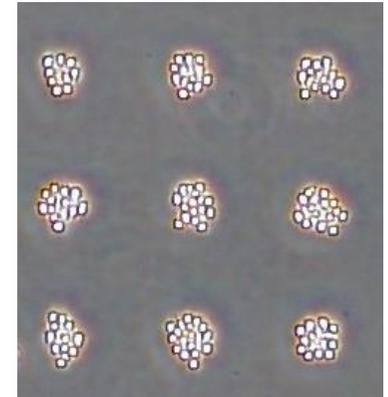
光分解性PEG脂質表面（特許②）

- 光照射表面だけに、任意の細胞を固定化できなくする
 ➡ 光照射によって選択的に細胞を脱離できる

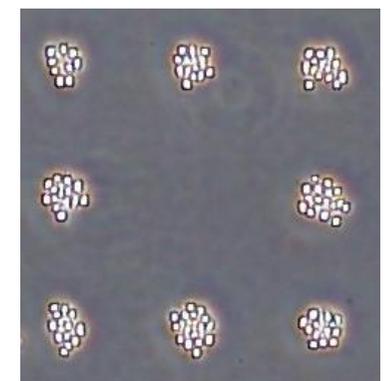
マイクロ流路内で
光照射



光照射前



光照射後

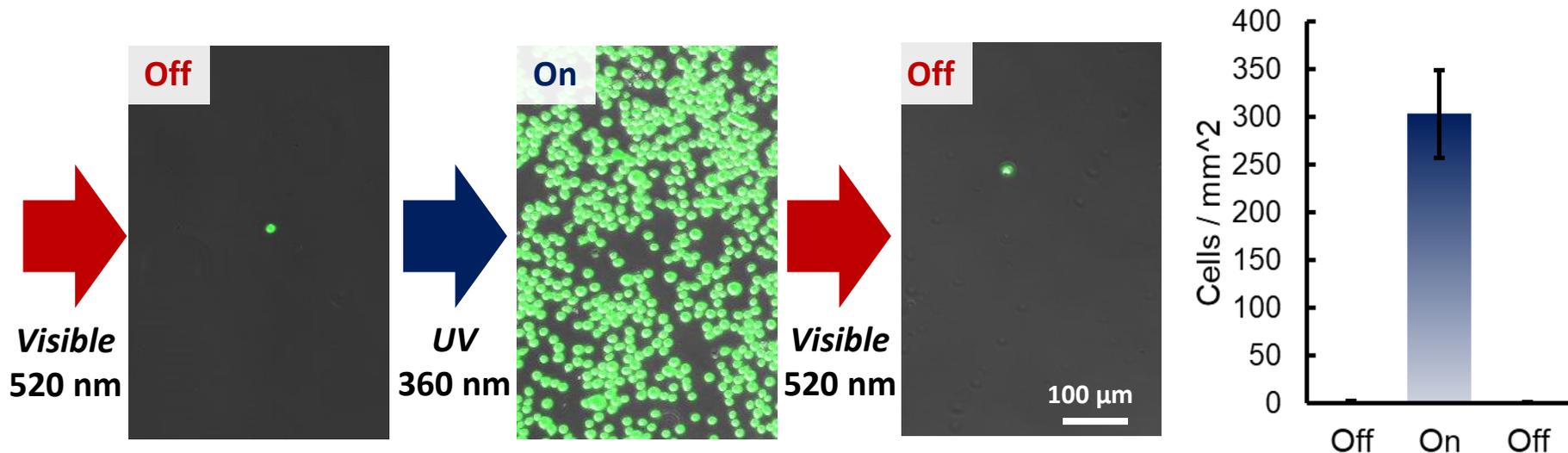
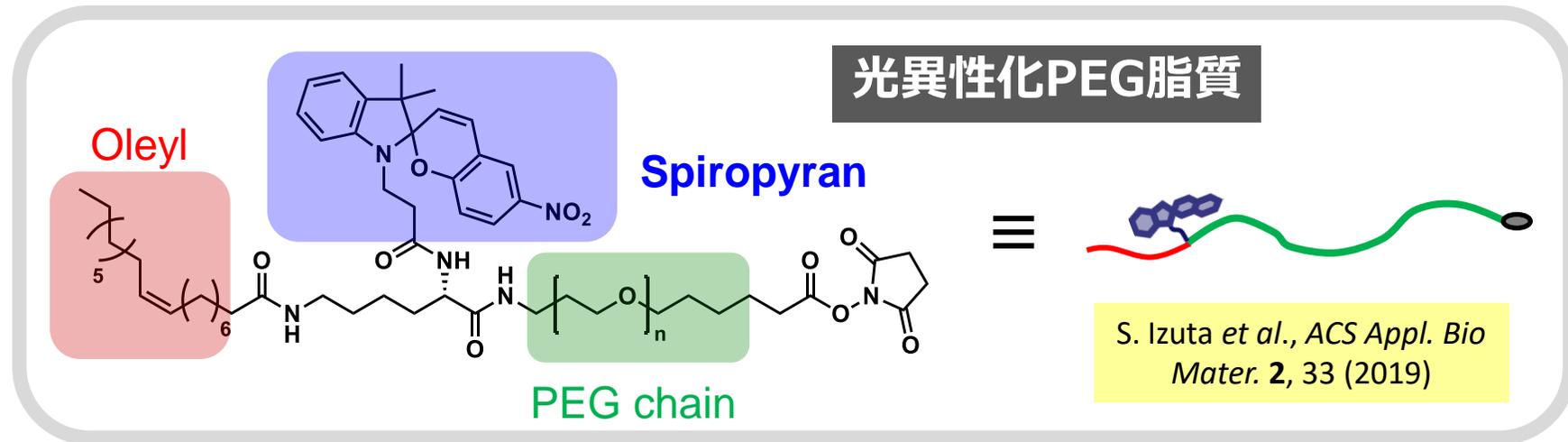


選択性 非照射スポット ($n = 69$) の固定化細胞の 95% が残る。

生体適合性 光照射で回収した細胞の生存率 ($90 \pm 6.4\%$) は、
光を照射せずにピペッティングで回収した細胞の生存率 ($90 \pm 6.7\%$) とほぼ同じ。

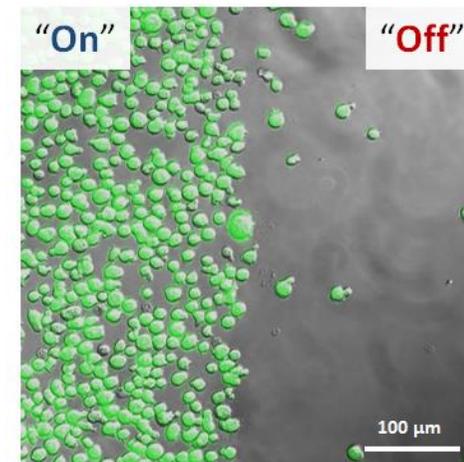
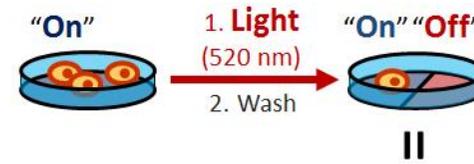
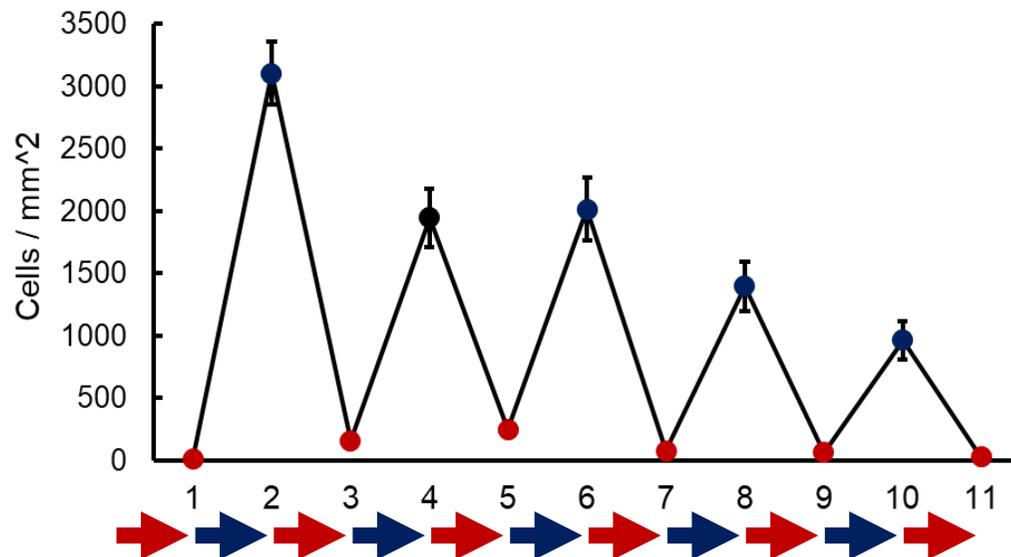
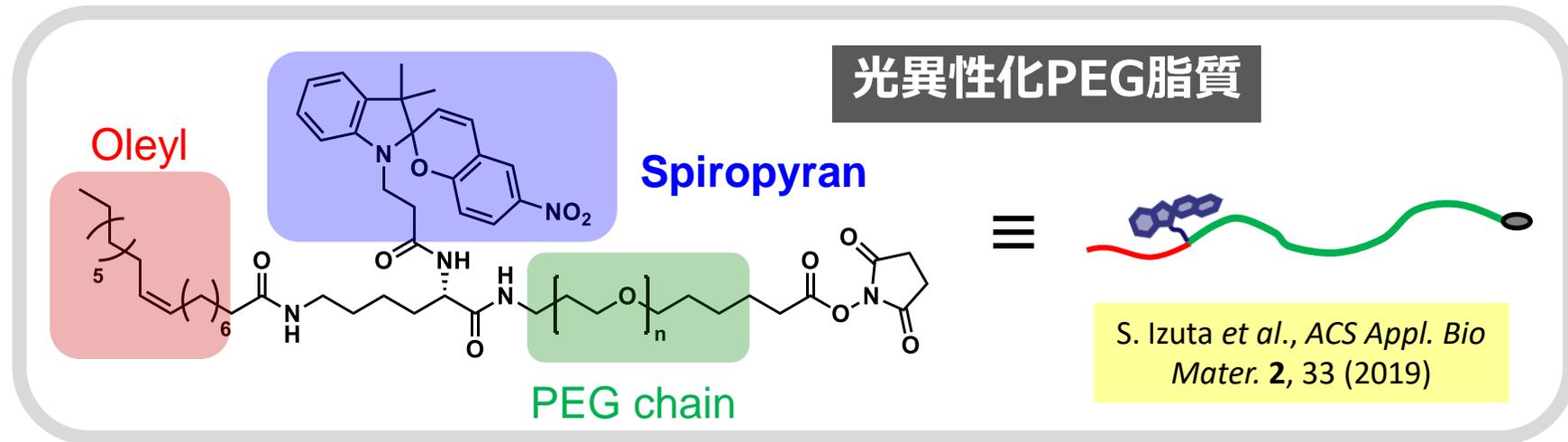
光異性化PEG脂質表面（特許③）

- 紫外光で細胞を固定化し、可視光で細胞を固定化できなくする



光異性化PEG脂質表面（特許③）

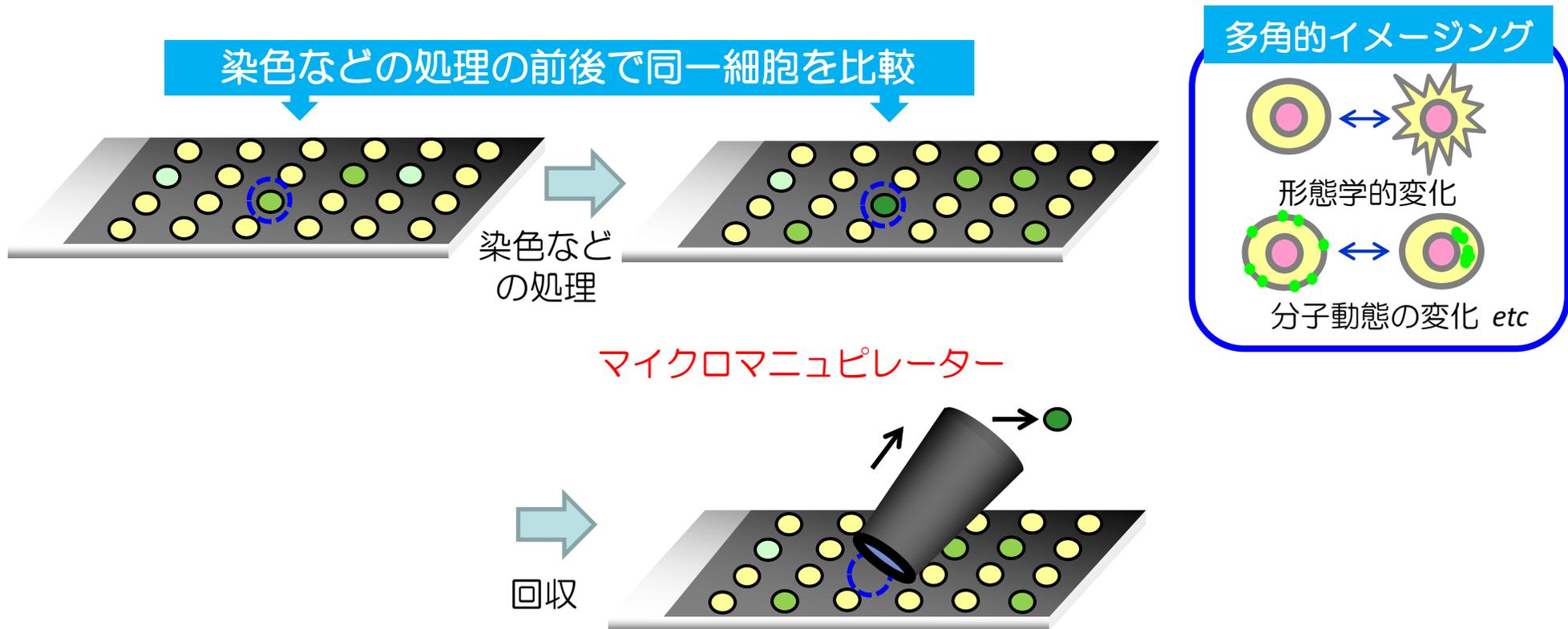
- 紫外光で細胞を固定化し、可視光で細胞を固定化できなくする



画像ベースの細胞ソーティング技術

1 細胞アレイを用いた細胞選別

- 細胞を高密度に並べて解析し、目的の細胞を分取する
- 多角的なイメージングを指標に正確に識別できる（形態学的特徴, 分子動態, など）

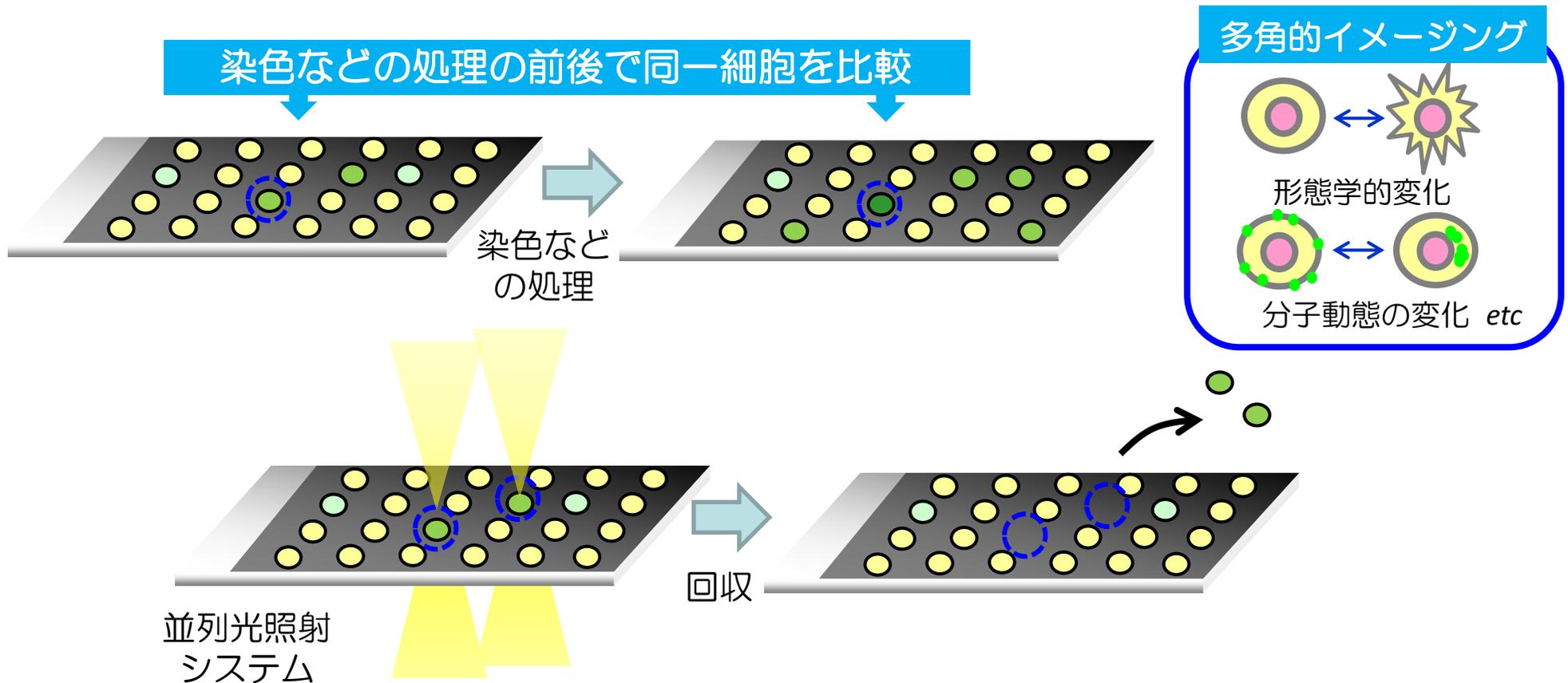


➡ 用途によっては、細胞の回収操作に時間がかかる

画像ベースの細胞ソーティング技術

1 細胞アレイを用いた細胞選別

- 細胞を高密度に並べて解析し、目的の細胞を分取する
- 多角的なイメージングを指標に正確に識別できる（形態学的特徴, 分子動態, など）

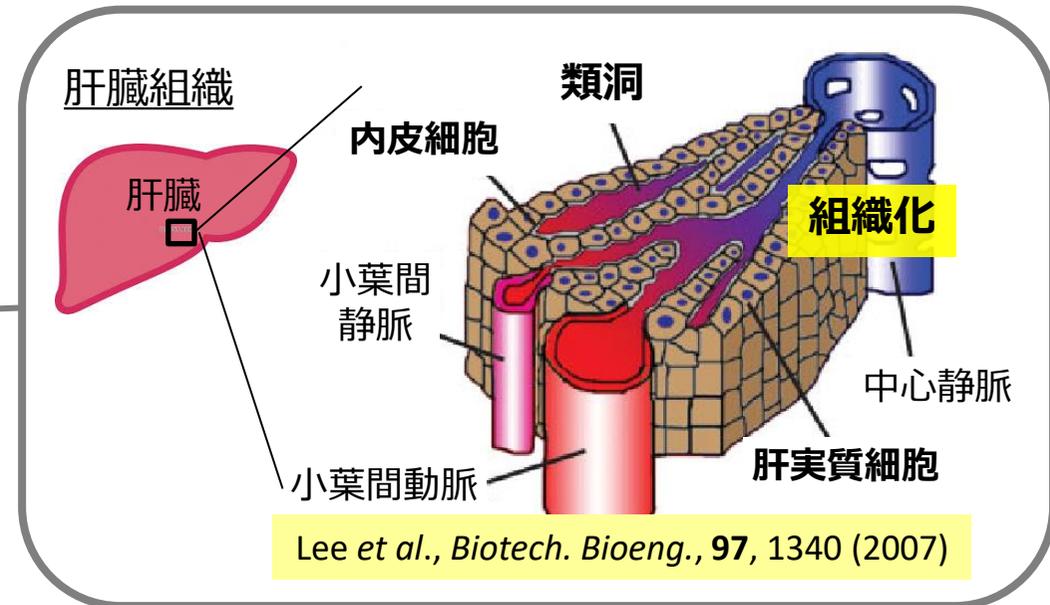
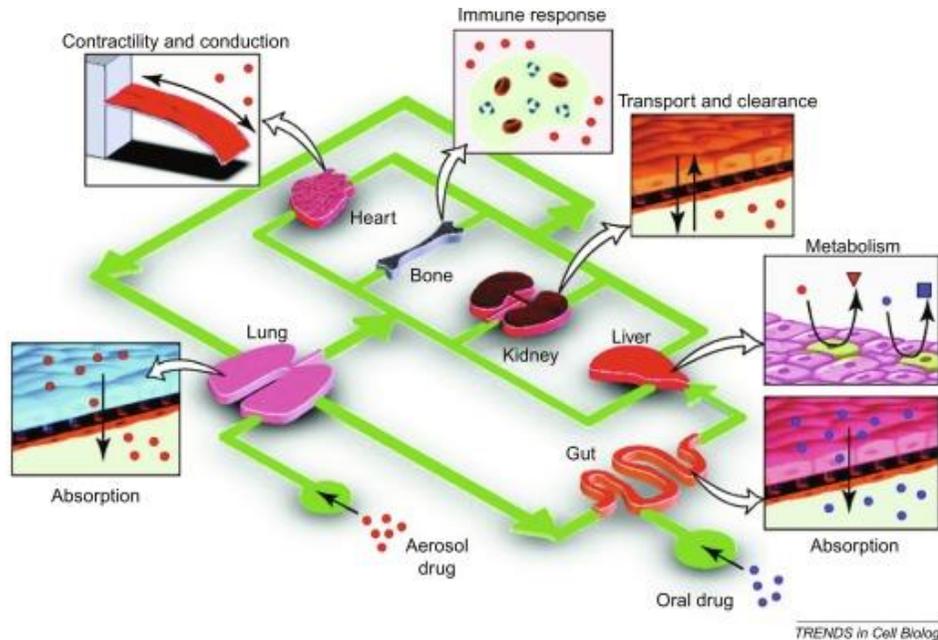


➡ 大量の細胞を高速光回収できる

多種類細胞の迅速配置技術

Organ on a chip

- マイクロ流路内に各臓器の機能を有する人工組織を配置し、生体内環境を模倣する。
- 体内での薬物の代謝や薬効を再現し、動物実験の削減や創薬効率の向上に貢献する。



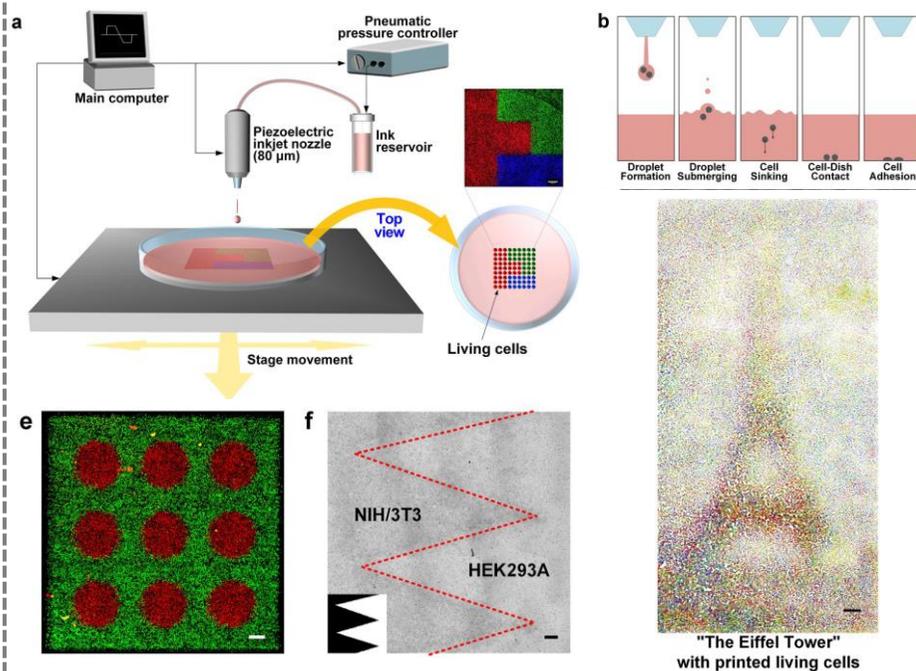
<https://ars.els-cdn.com/content/image/3-s2.0-B9780128126592000016-f01-09-9780128126592.jpg>

世界市場規模は2018年の推計113億ドルから、2023年段階では606億ドルへと急速な拡大が予測

➡ 課題：複数種の細胞から成る精緻な組織構造の再現が必要

多種類細胞の迅速配置技術

1. インクジェットプリンティング

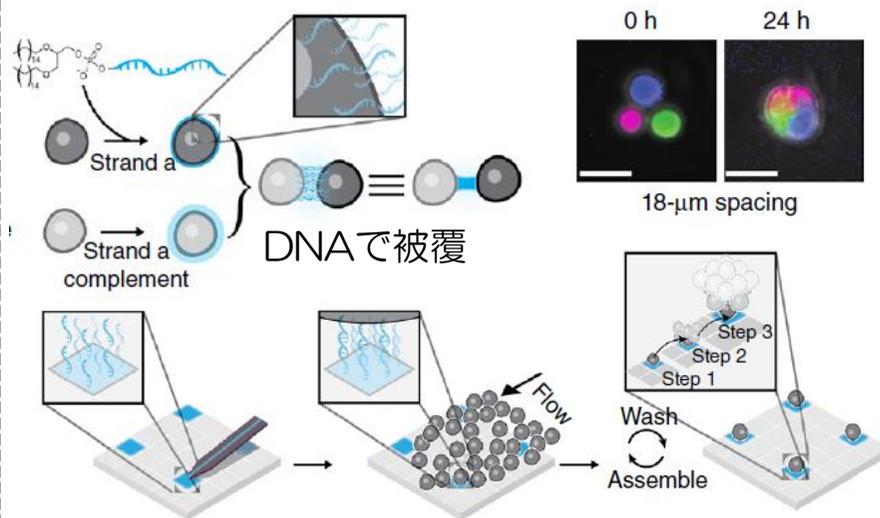


→ 細胞傷害性を低減し、異種多細胞を配置

Park et al., *Sci. Rep*, 7, 14610 (2017)

- ✓ 任意の表面に簡便、自動化
- ✗ 1細胞レベルの精緻な配置は困難
- ✗ 精緻な1細胞吐出は時間とコストがかかる

2. ソフトリソグラフィー (contact printing)



カンチレバーで相補的なDNAを塗布して配置

Todhunter et al., *Nat. Meth.*, 12, 975 (2015)

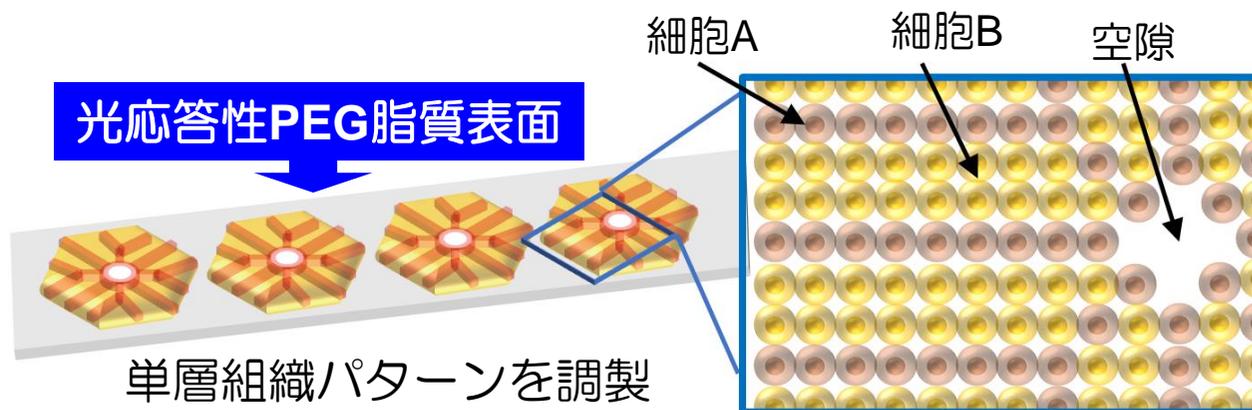
- ✓ 任意の表面で細胞種に制限無く配置
- ✓ 1細胞レベルの精度で配置
- ✗ 多種類の細胞選択的ナリガンドが必要
- ✗ 一か所ずつ塗布するため、**数個~数100個程度の量しか現実的に作れない**

解像度と細胞の種類数に制限があり、時間とコストもかかる

多種類細胞の迅速配置技術

Organ on a chip

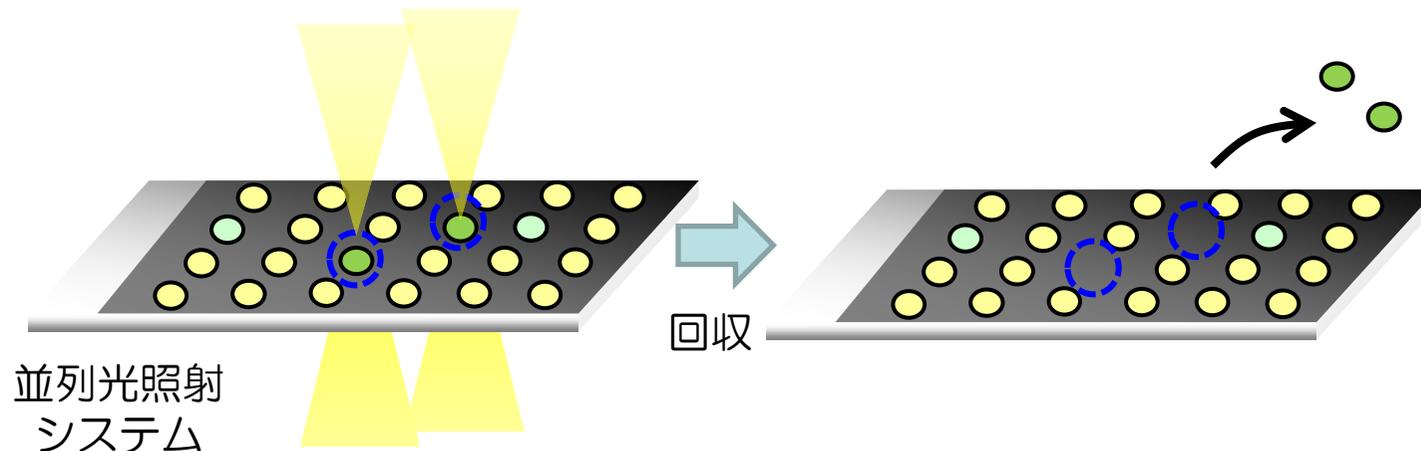
- マイクロ流路内に各臓器の機能を有する人工組織を配置し、生体内環境を模倣する。
- 体内での薬物の代謝や薬効を再現し、動物実験の削減や創薬効率の向上に貢献する。



- 複数種の細胞を迅速に（10分以内で）配置できる。
- 浮遊系細胞を含む任意の細胞を配置できる。
- 配置した細胞を細胞外マトリクスなどに転写できる。

➡ 迅速に生体模倣性の高い組織を流路内に作製
 （転写技術の併用により三次元化も原理的に可能）

画像ベースの細胞ソーティング技術

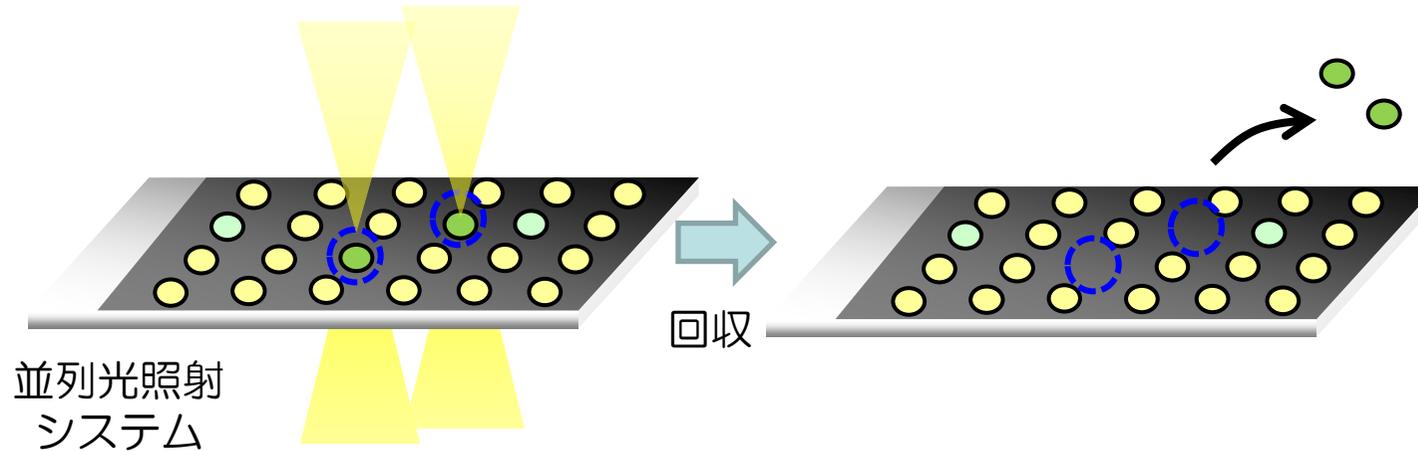


- 目的の表現型の細胞を高速で同定する画像解析技術
- 同定した目的細胞にのみ自動で並列光照射できる光照射システム（光学系と全自動ステージとを連動したシステム）
- 光で脱離した細胞を正確に回収する流路系（1細胞回収系）

多種類細胞の迅速配置技術

- 広い面積に光を順次正確に照射できる光照射システム

画像ベースの細胞ソーティング技術



- 目的の表現型の細胞を高速で同定する画像解析技術
- 同定した目的細胞にのみ自動で並列光照射できる光照射システム
(光学系と全自動ステージとを連動したシステム)
- 光で脱離した細胞を正確に回収する流路系 (1細胞回収系)

多種類細胞の迅速配置技術

- 広い面積に光を順次正確に照射できる光照射システム

➡ 上記の必要技術の提供・我々の技術の有効利用

特許①

- 発明の名称 : 脂質膜含有物を固定化するための化合物、当該化合物で修飾された基材、当該基材上に脂質膜含有物をパターンニングする方法及び脂質膜含有物を当該基材上で単離する方法
- 出願番号 : 特願2017-509496
- 出願人 : 国立大学法人東京大学
- 発明者 : 長棟 輝行, 山口 哲志, 山平 真也

特許②

- 発明の名称 : 光分解性細胞固定化剤
- 出願番号 : 特願2019-550500
- 出願人 : 国立大学法人東京大学
- 発明者 : 山口 哲志, 岡本 晃充, ヤジエンブスカ・ナタリア・テレサ, 泉田 森, 山平 真也, 長棟 輝行

特許③

- 発明の名称 : 光応答性細胞固定化剤
- 出願番号 : 特願2018-105068
- 出願人 : 国立大学法人東京大学
- 発明者 : 山口 哲志, 泉田 森, 岡本 晃充

特許④

- 発明の名称 : 生体物質固定化材料
- 国際出願番号 : PCT/JP2020/045492
- 出願人 : 国立大学法人東京大学
- 発明者 : 山口 哲志, 上原 廉二郎, 岡本 晃充

株式会社東京大学TLO

シニアアソシエイト 竹埜 友祐

TEL 03-5805-7688

FAX 03-5805-7699

e-mail takeno@todaitlo.jp