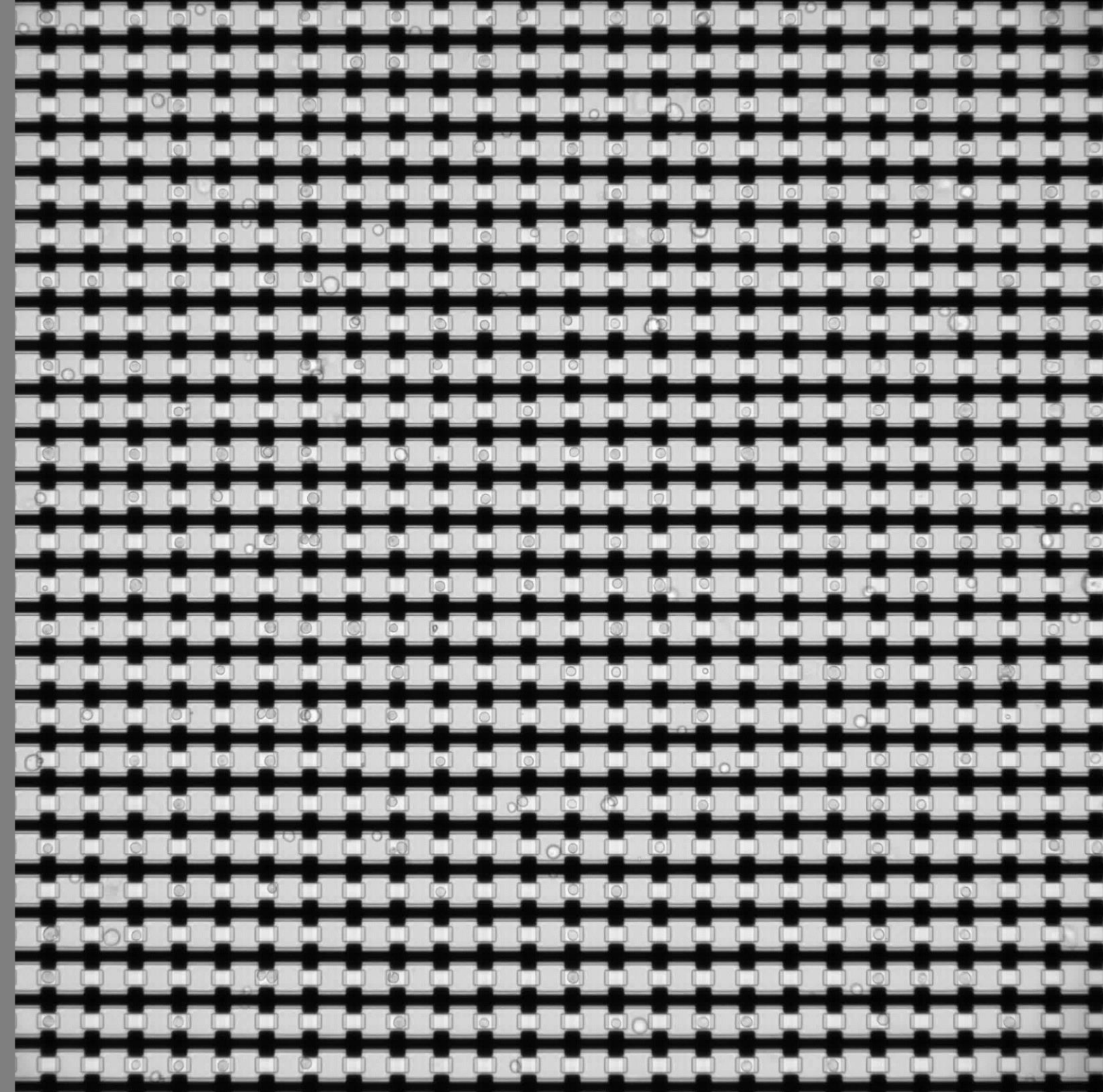


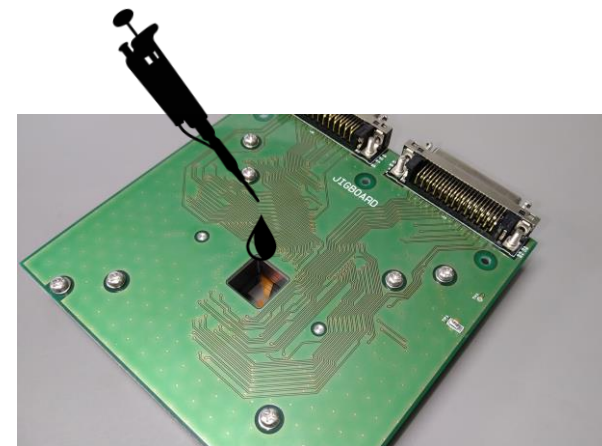
単一細胞の種類や活性を 非標識で一括に計測する電極チップと その方法

兵庫県立大学
大学院理学研究科物質科学専攻
准教授 鈴木 雅登

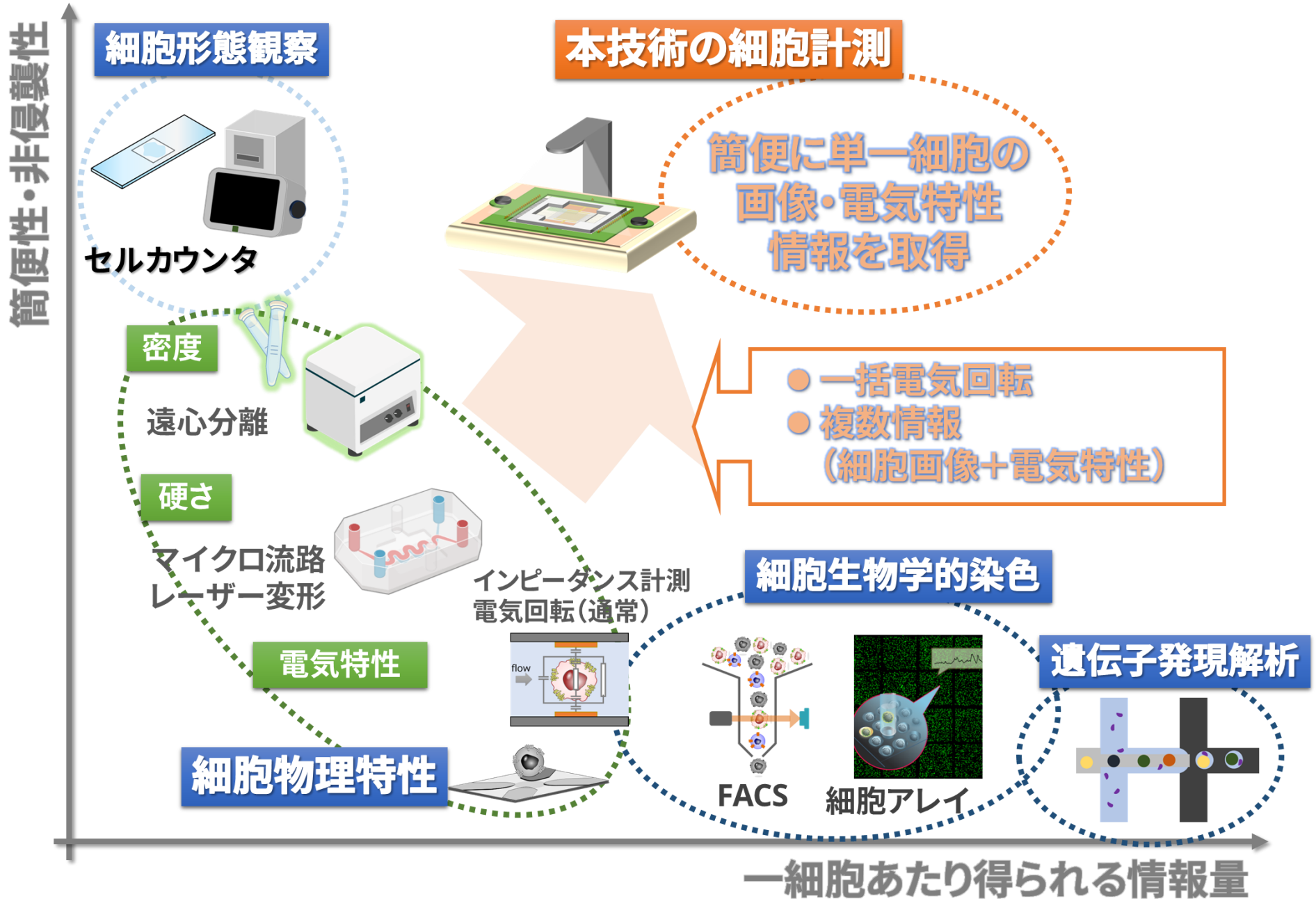
2023年10月17日



液量: 200 μL
濃度: $5\sim 10\times 10^4$ cells mL^{-1}



従来技術とその問題点

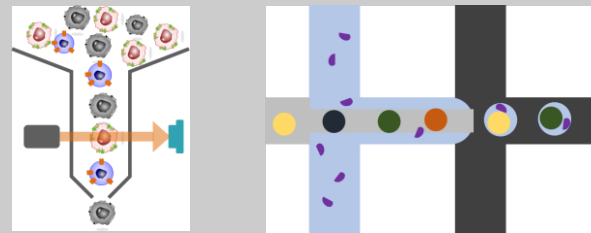
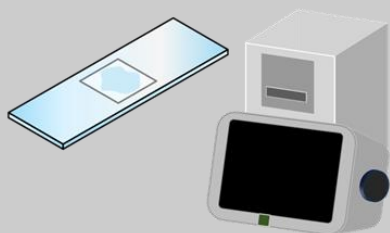


従来技術とその問題点

- 染色や破碎が必要, 評価した細胞の利活用が困難
- 状態の情報のみで, 時間情報の取得が困難

形態観察(セルカウンタ)

細胞生物学特徴 (セルソーター, 遺伝子発現)



細胞処理量

△
($10^3 \sim 10^4$ cells/test)

◎
($10^4 \sim 10^6$ cells/test)

簡便性

◎
(観察だけ)

×
(染色, 破碎などの前処理)

情報量

×
(状態情報, 形状, 生死)

△
(状態情報, 発現量)

侵襲性

△
(染色で生死状態が判明)

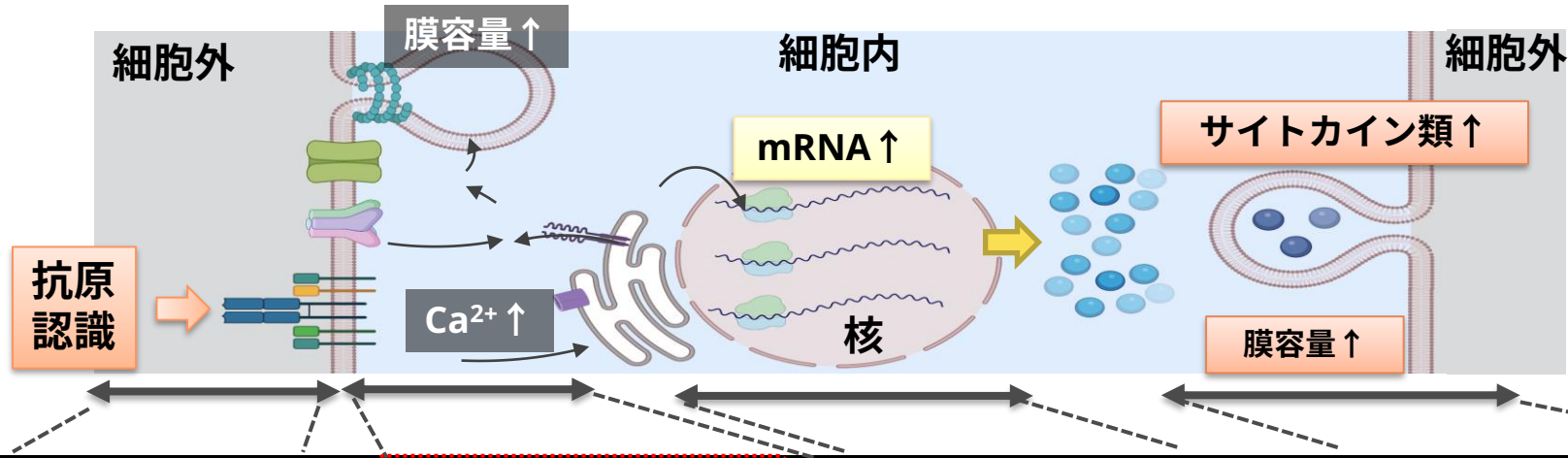
×
(染色, 破碎が必要)

回収性

×
(特定の細胞の回収は困難)

△
(エラーあり)

従来技術とその問題点



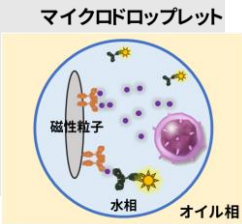
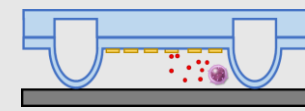
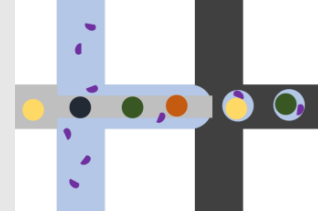
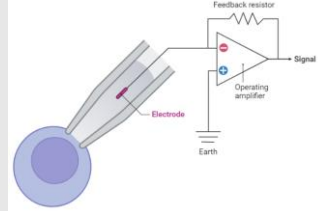
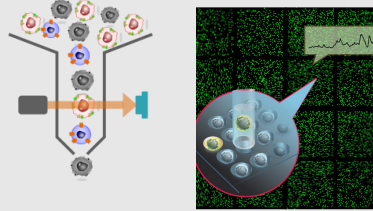
細胞表面発現解析

応答解析

細胞内発現解析

分泌物分析

原理



情報

静的
(タンパク質, 糖鎖)

動的
(細胞膜内外)

静的
(遺伝子, タンパク質)

動的
(細胞外分泌物)

時間

△
(数時間)

○
(数秒~数分)

△
(数時間)

×
(数日)

侵襲性

×
(染色, 破碎)

×
(接触, 染色)

×
(破碎)

○
(分泌物を分析)

処理量

◎
(10⁶~10⁷細胞)

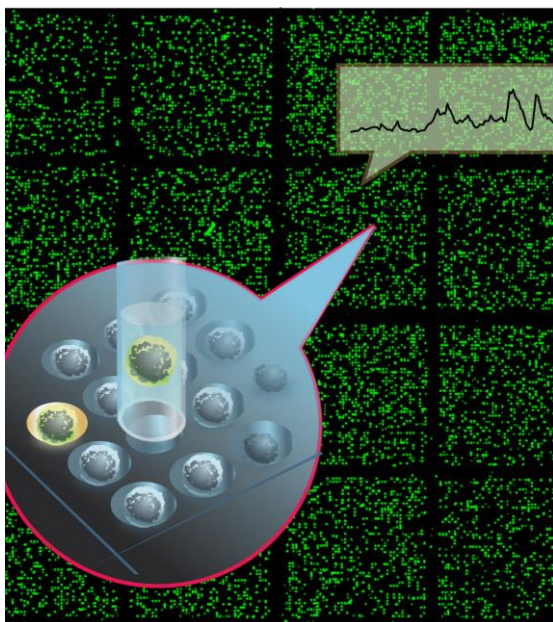
×
(1~100細胞)

○
(10³~10⁵細胞)

○
(500~10,000細胞)

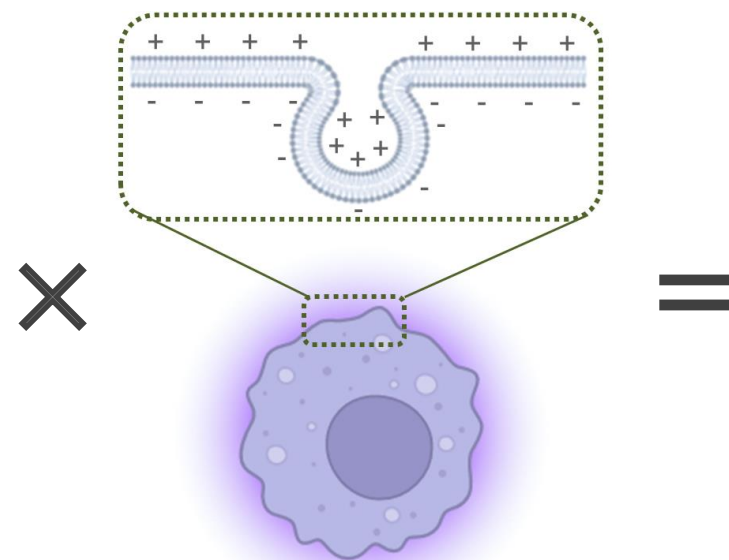
解決方法

1 細胞の区画化



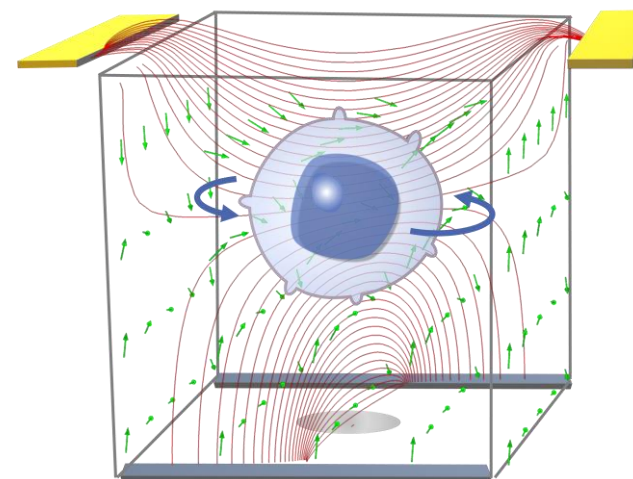
(Suzuki M. Sci. Rep., 2016)

細胞の電気操作



(Suzuki M. Langmuir., 2007)
(Kawai S. Analyst, 2020)
(Suzuki M. Biosens. Bioelectron. 2021)

その場で電気的に回転



(Suzuki M. Lab Chip. 2023)

新技術の特徴・従来技術との比較

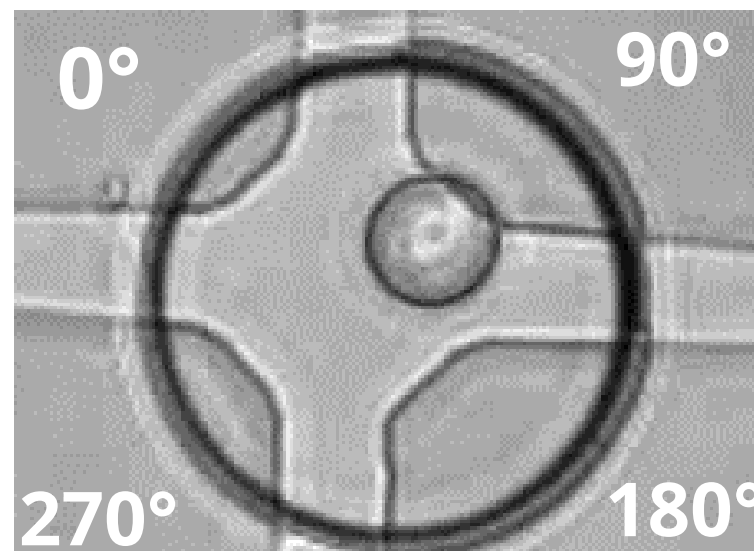
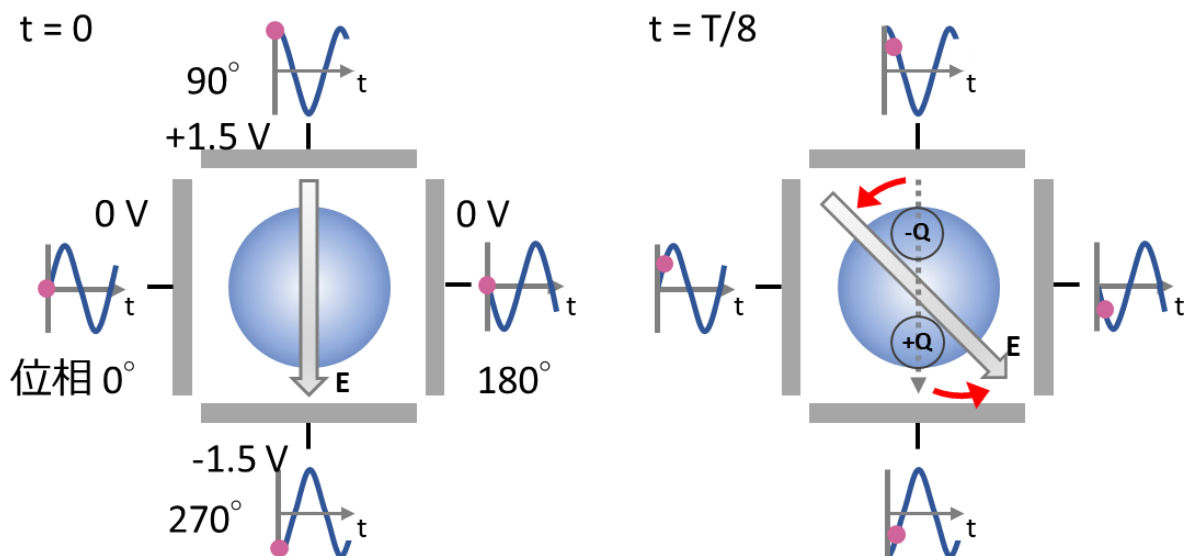
電気回転計測

Rotating-Field-Induced Rotation and Measurement of the Membrane Capacitance of Single Mesophyll Cells of *Avena sativa*

W. M. Arnold and U. Zimmermann

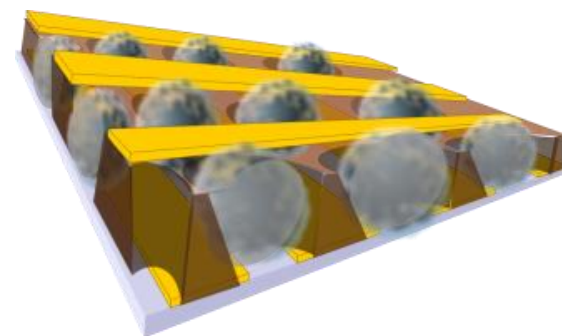
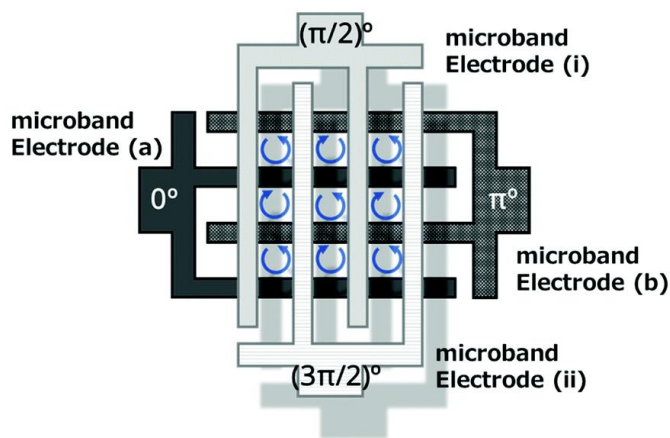
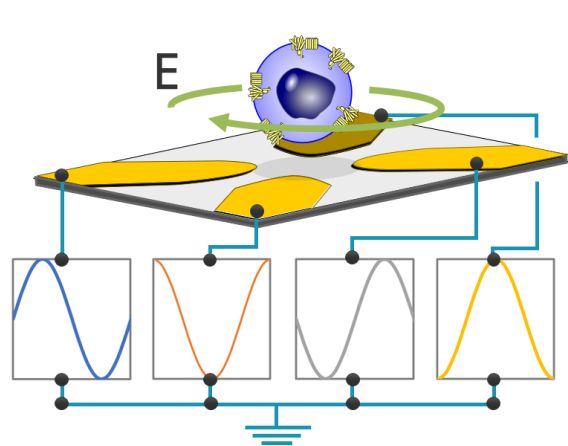
Arbeitsgruppe Membranforschung am Institut für Medizin Kernforschungsanlage Jülich, Postfach 19 13, D-5170 Jülich, Bundesrepublik Deutschland

Z. Naturforsch. 37 c, 908–915 (1982); received July 15, 1982



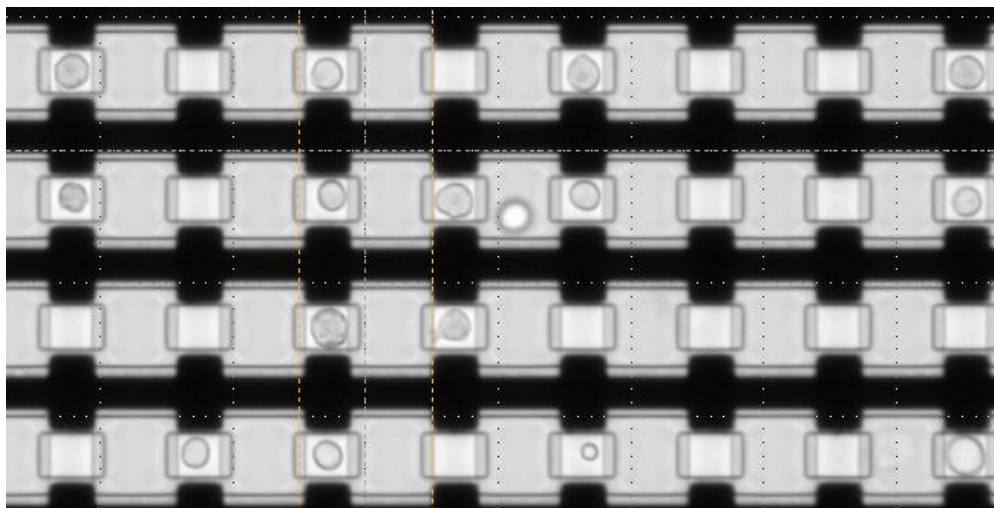
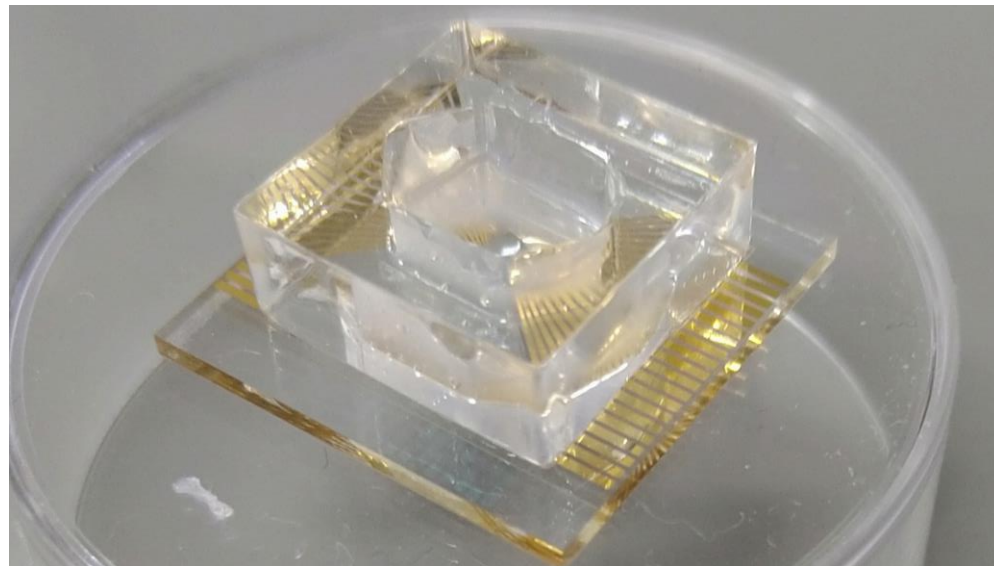
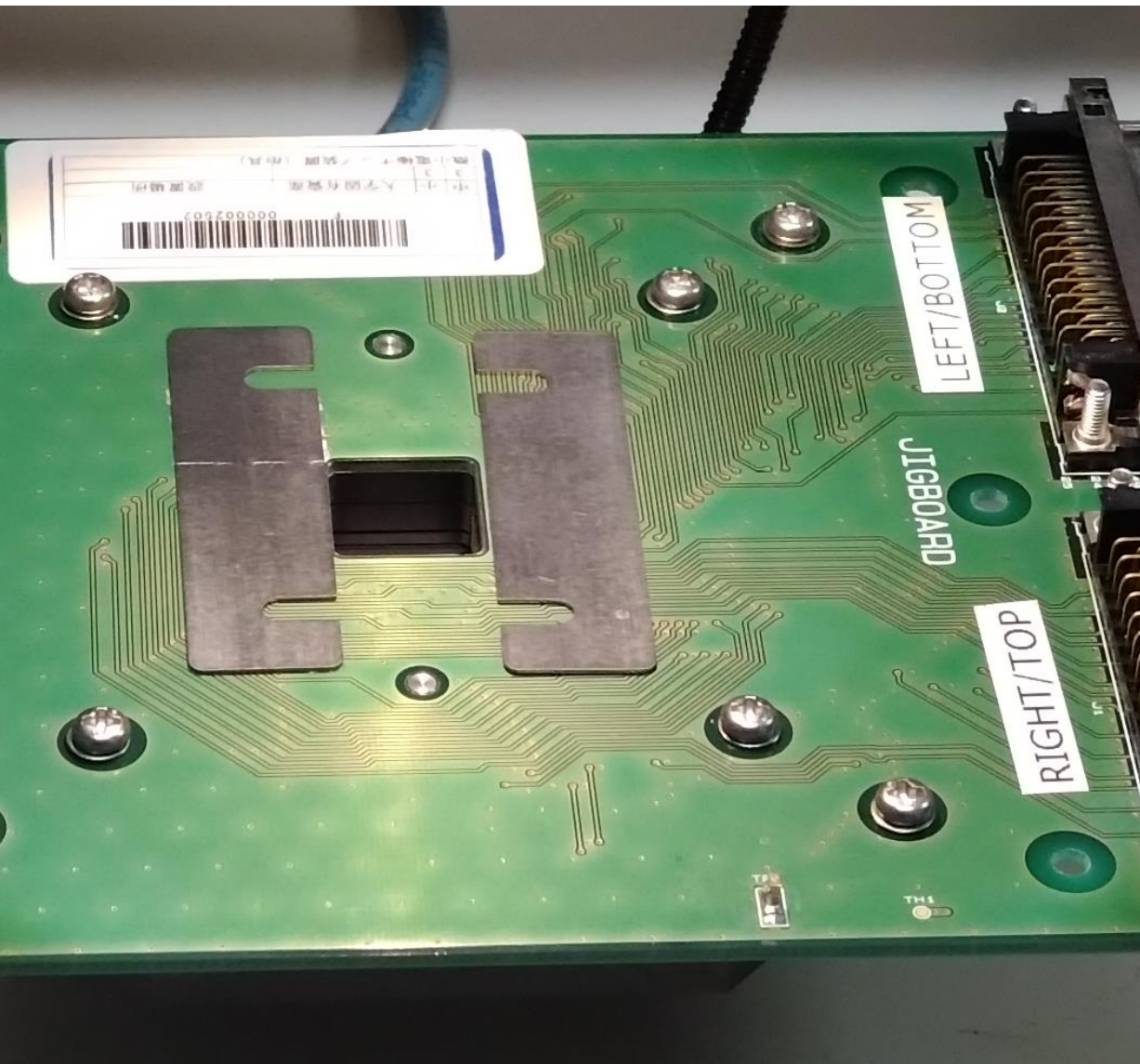
新技術の特徴・従来技術との比較

- マイクロウエルに4電極を持つ**独自電極構造**(出願済み)
- 回転評価した細胞を**正確に回収**し培養プレートへ吐出



		<i>Analyst</i> , 2020, 145, 4188-4195	本技術 特願2020-093819 <i>Lab Chip</i> , 2023, 23, 692-701
細胞数	× 1~10細胞	○ 1000~5000細胞	○ 1,500細胞
溶液刺激	× 保持力なし	× 保持力なし	○ ウェルで保持
細胞の回収	○	×	○

新技術の特徴・従来技術との比較

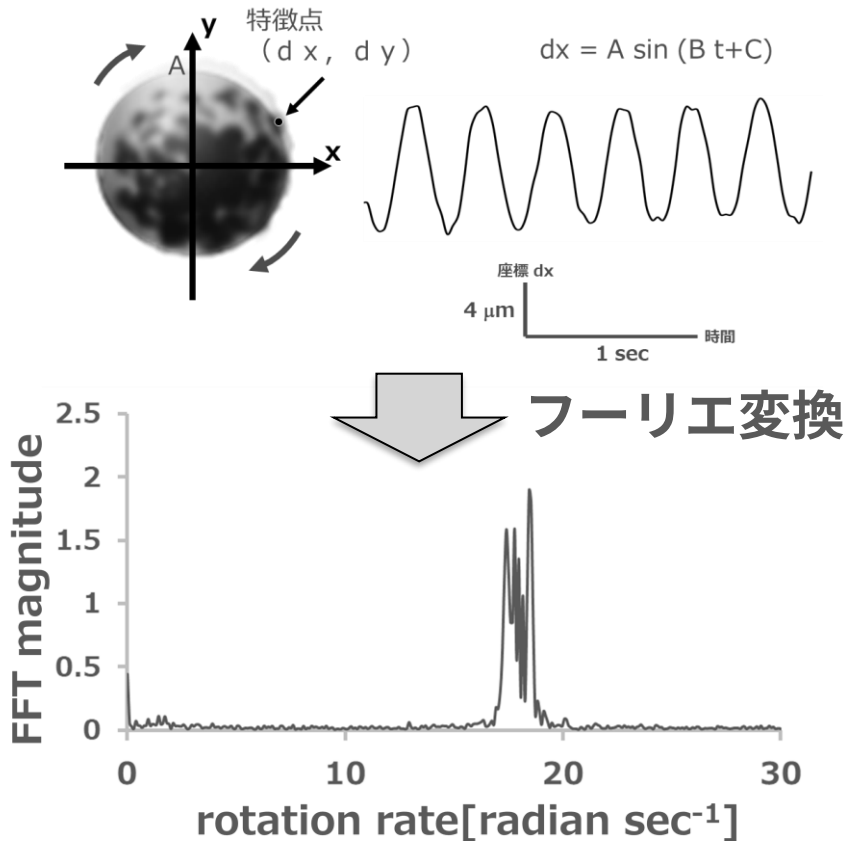


新技術の特徴・従来技術との比較

たくさんの回転する細胞の回転速度を迅速に評価する方法が未確立

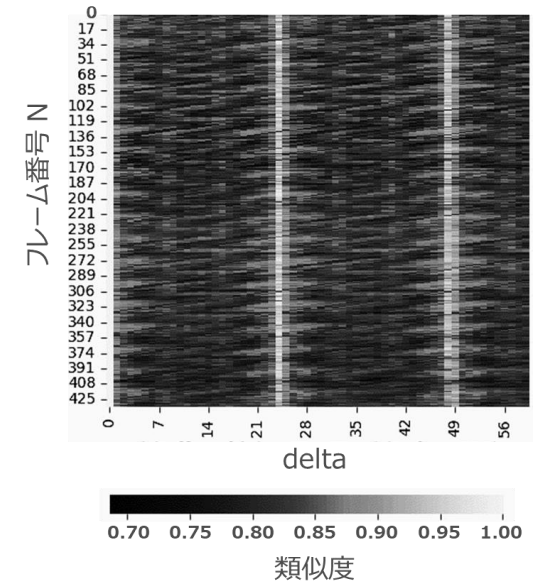
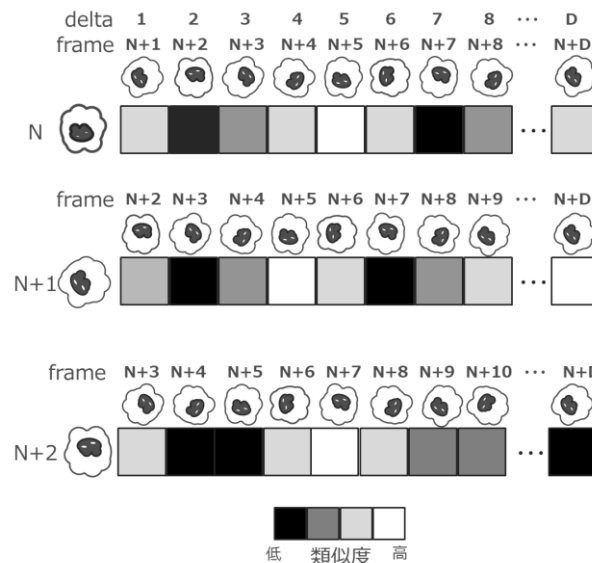
これまでの方法 特徴点の軌跡

- 特徴点の抽出が困難
- 回転速度の時間情報の欠落



本技術 特願2022-068169

- 各フレーム間の画像の類似度を算出
- 類似度の高い画像を1回転した画像として、回転速度を算出
- 回転速度の経時変化が追跡可能



電気回転計測によってわかること

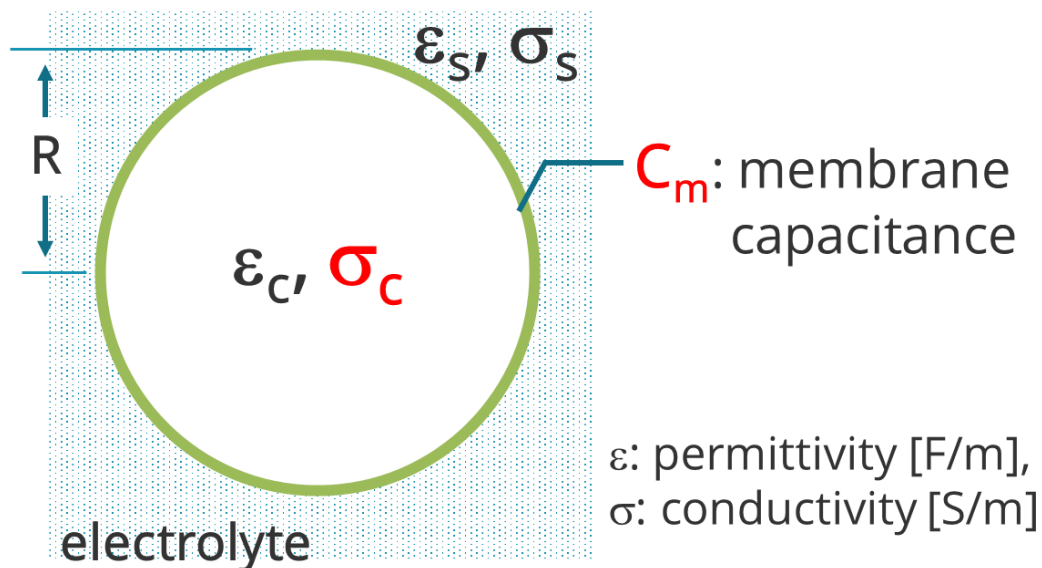
$$\Omega = -\frac{\epsilon_s \epsilon_0}{2\eta} \text{Im}[CM] E^2$$

Ω : 回転速度

CM: Clausius-Mossotti 因子

$$CM = -\frac{\omega^2(\tau_s \tau_m - \tau_c \tau'_m) + j\omega(\tau'_m - \tau_s - \tau_m) - 1}{\omega^2(\tau_c \tau'_m + 2\tau_s \tau_m) - j\omega(\tau'_m + 2\tau_s + \tau_m) - 2}$$

$$\tau_m = C_m R / \sigma_c, \quad \tau_c = \epsilon_c / \sigma_c, \quad \tau'_m = C_m R / \sigma_s, \quad \tau_s = \epsilon_s / \sigma_s$$



C_m : 細胞膜容量

細胞膜のラフネス, イオン透過性を反映
細胞の分泌挙動, イオンチャネルの活性化

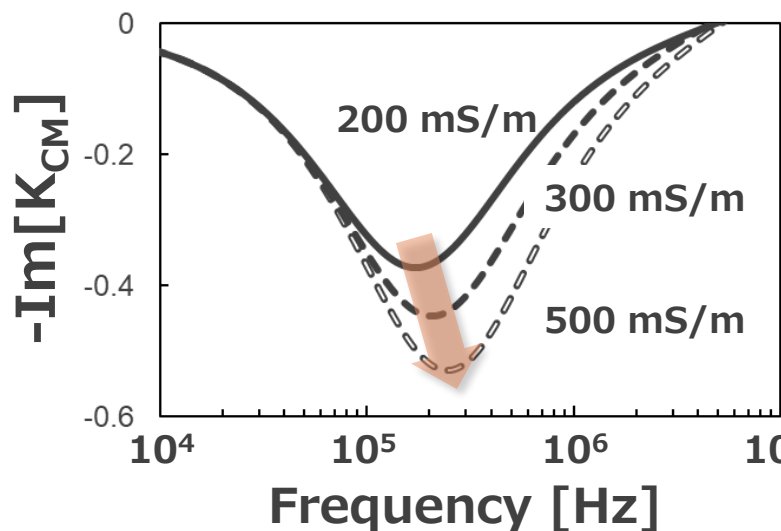
σ_c : 細胞質導電率

細胞質のイオン濃度・組成を反映
分化による細胞の変化, 細胞核の損失

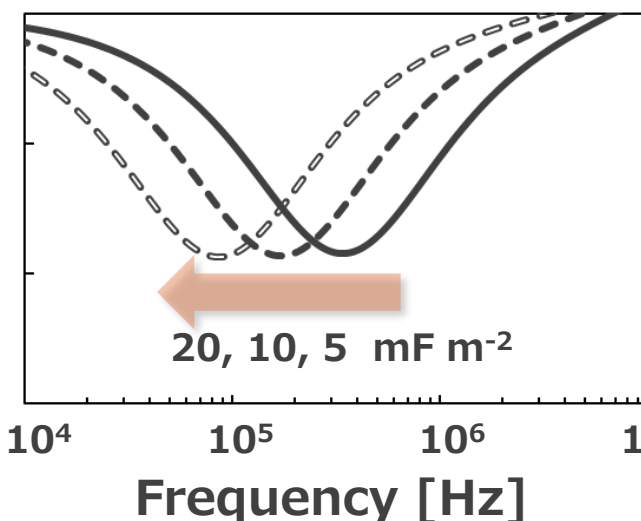
電気回転計測によってわかること

- 印加周波数を変更し，各周波数の回転速度を計測
- 細胞質導電率，細胞膜容量を決定

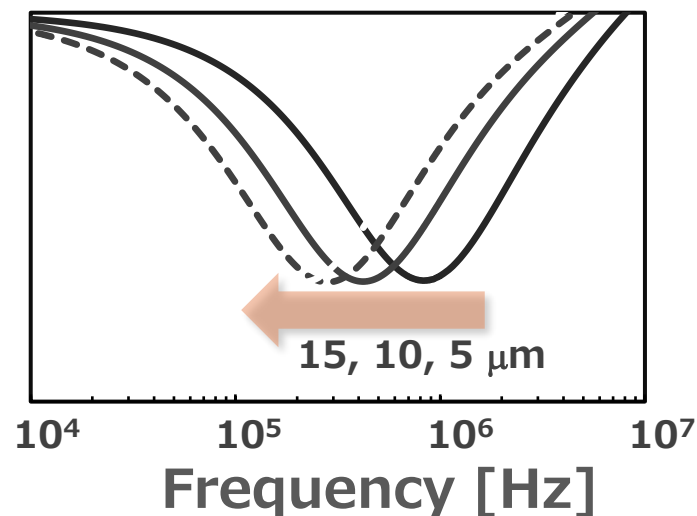
細胞質導電率



細胞膜容量

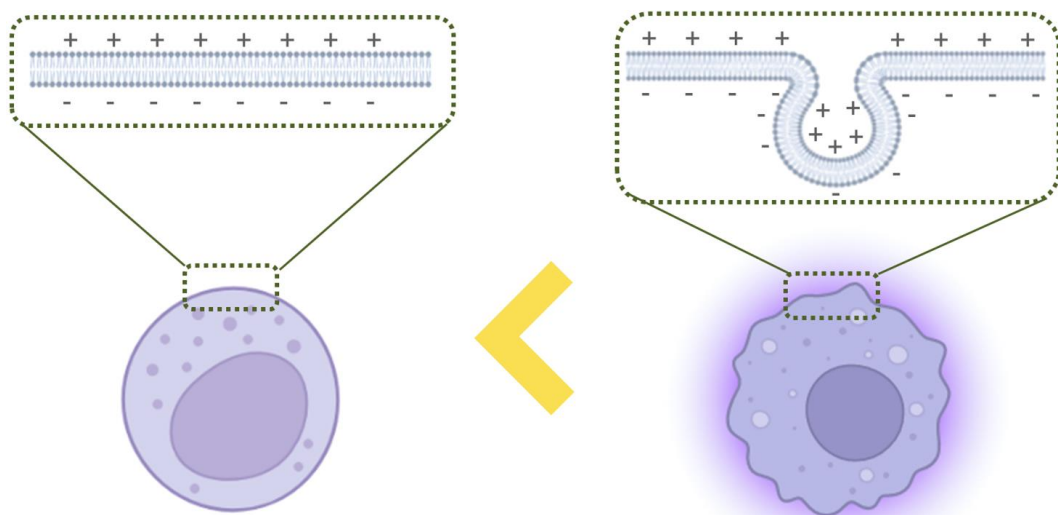


細胞半径

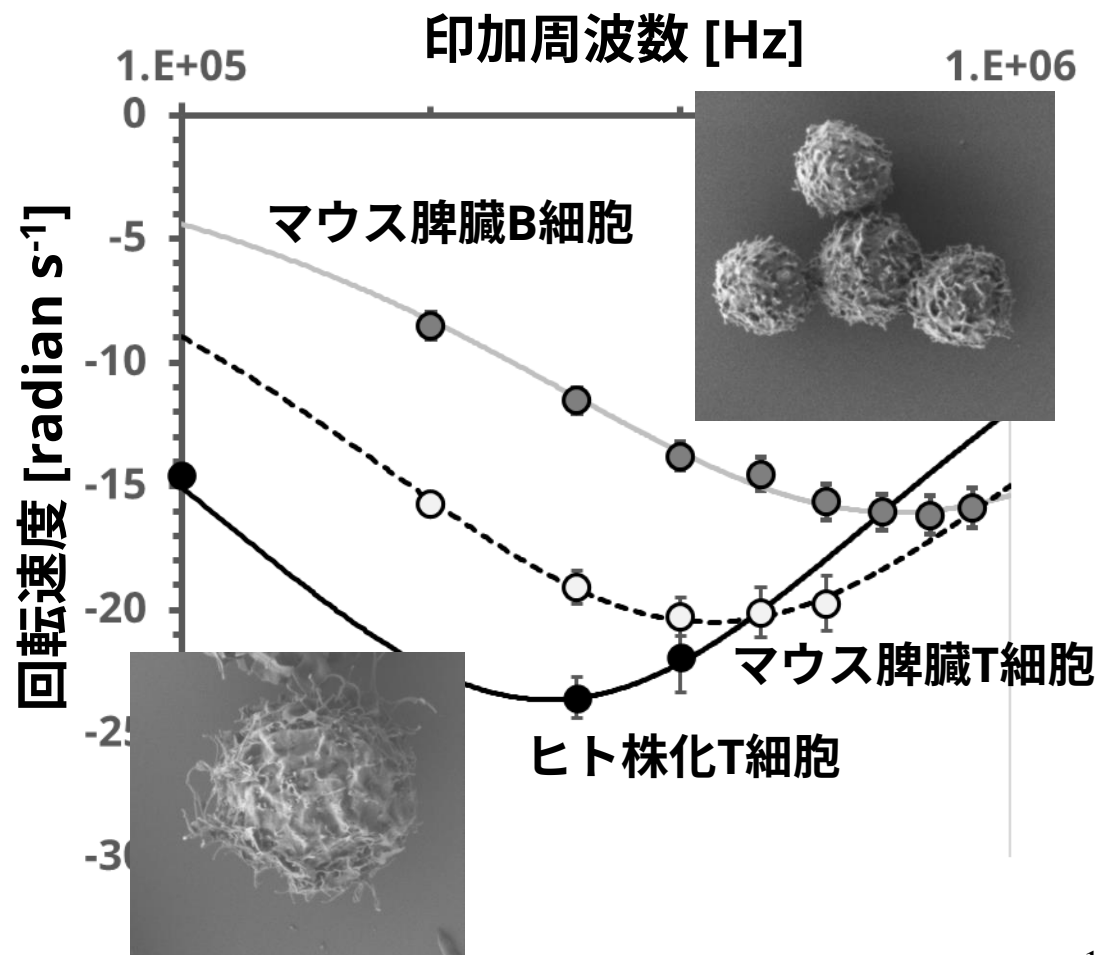


実施例(1) -血球系細胞の識別-

- 細胞膜の微細形状は細胞種によって異なる
- 微細形状の違いを電気回転速度として検出

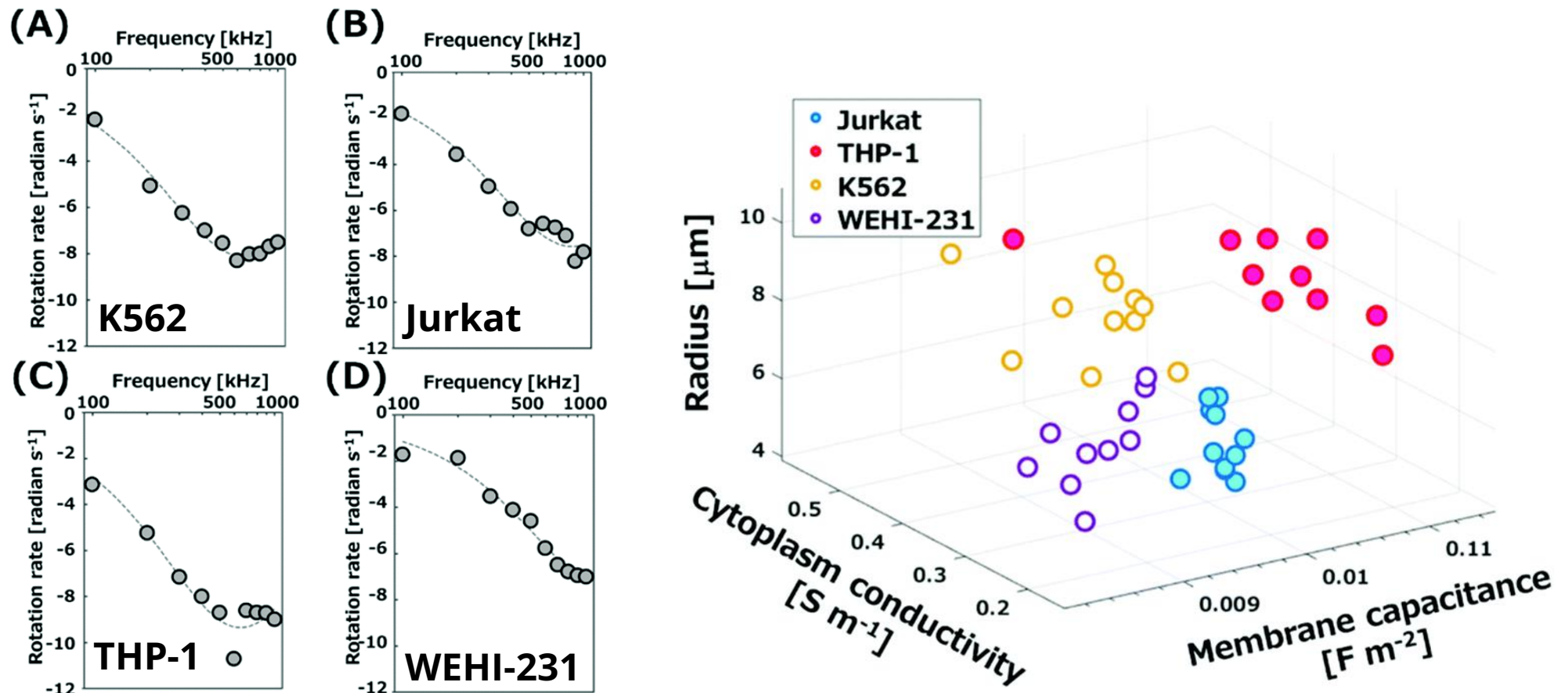


Created in BioRender.com 



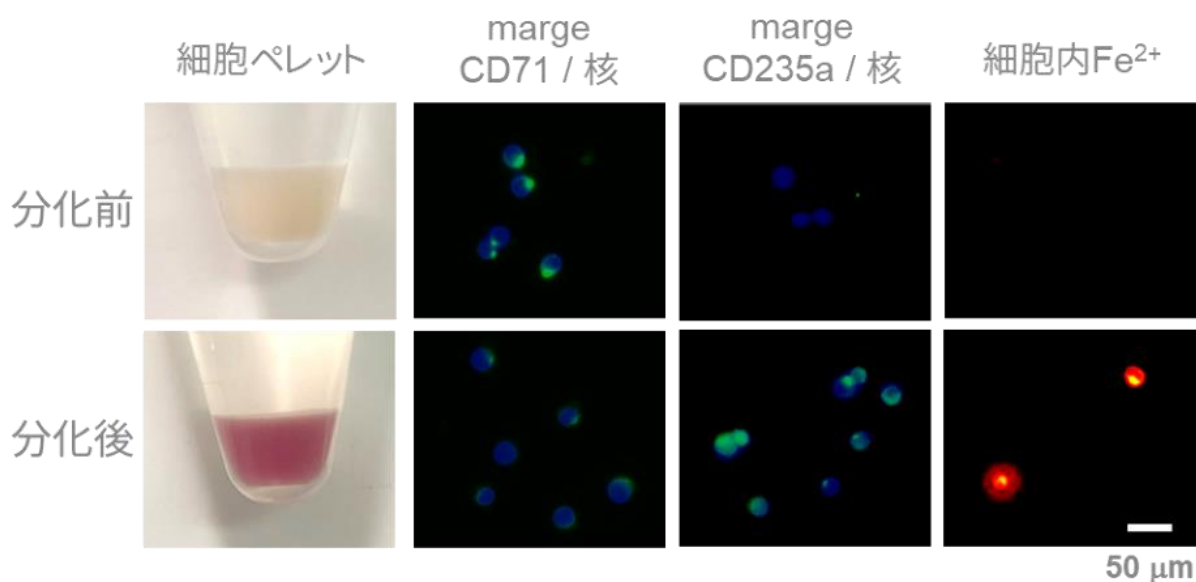
実施例(1) -血球系細胞の識別-

- 回転速度から「細胞質導電率」「細胞膜容量」を算出
- 4種の細胞を非染色に識別



実施例(2) -分化度の識別-

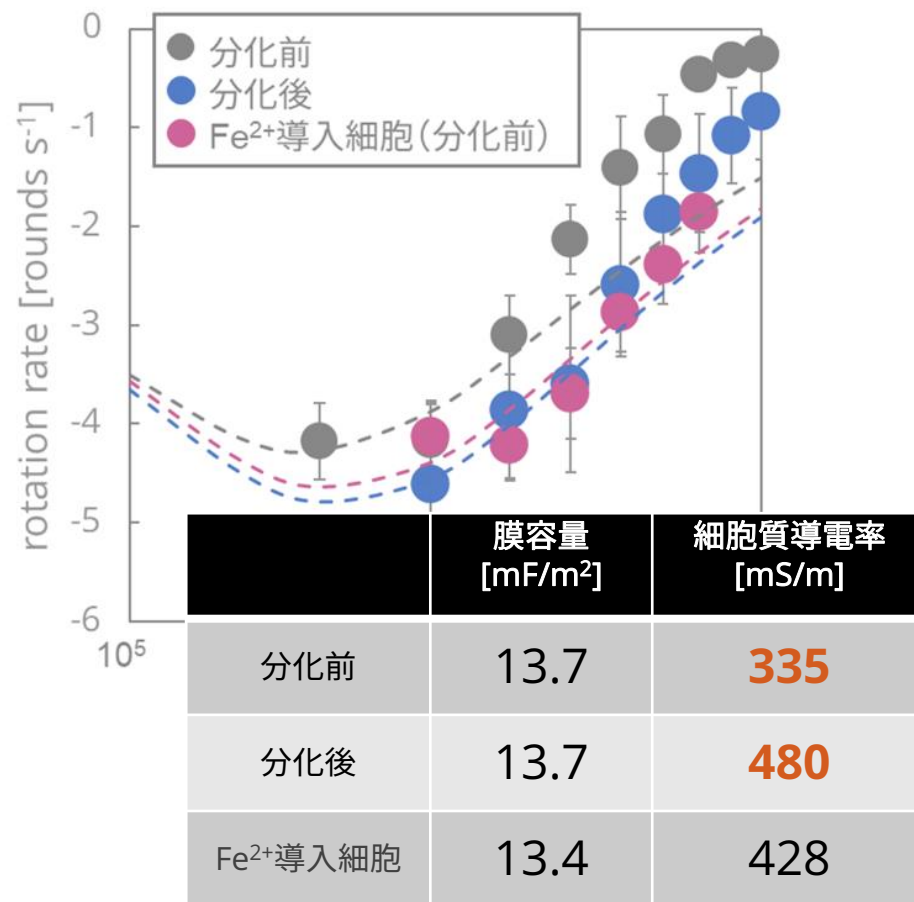
- 赤血球様細胞への分化により細胞内 Fe^{2+} が蓄積
- 回転速度の増加として識別



CD71(トランスフェリン受容体): 赤血球系造血細胞の増殖期に発現

CD235a(グリコフォリンA): ヒト赤血球の膜表面に発現

R. Takeuchi *et al.*, *Anal. Sci.*, 2021, 37, 229



実施例(4)-評価後の細胞の回収-

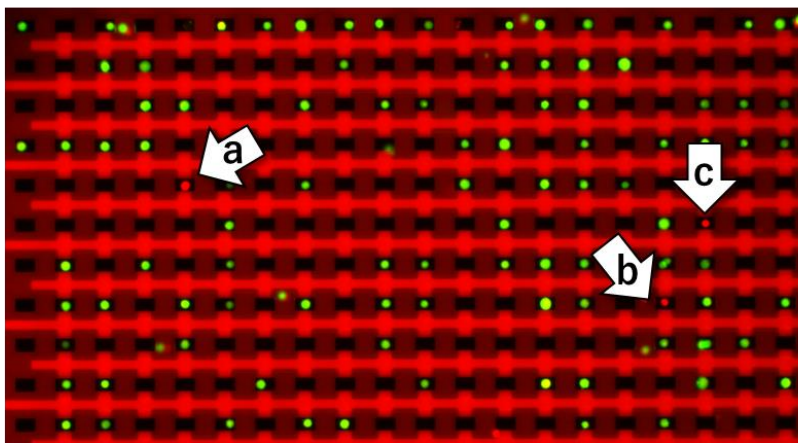
- 電気回転計測結果に基づき単一細胞の確実な回収
- 単一細胞培養，単一細胞遺伝子発現へ展開

5倍速

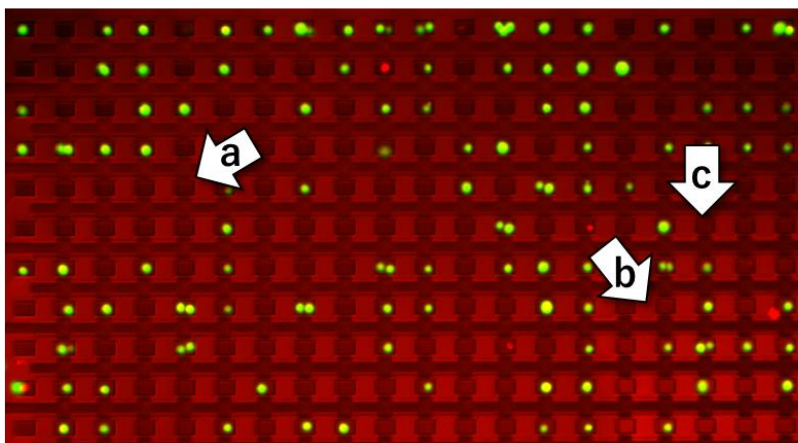


実施例(4)-評価後の細胞の回収-

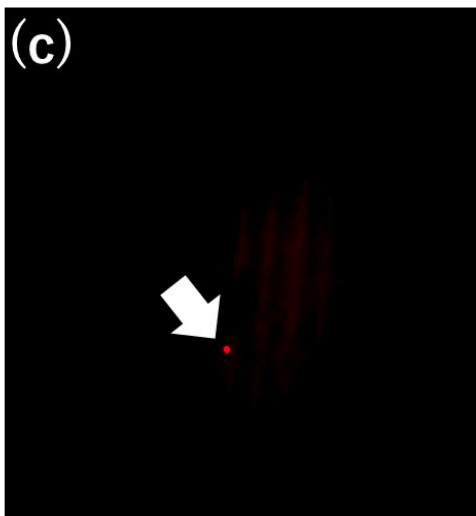
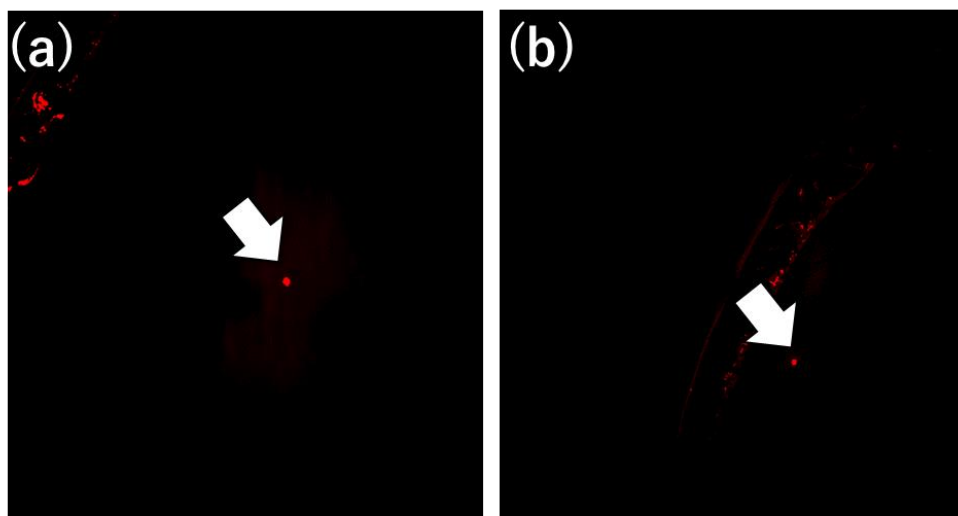
(A)



(B)



(C)

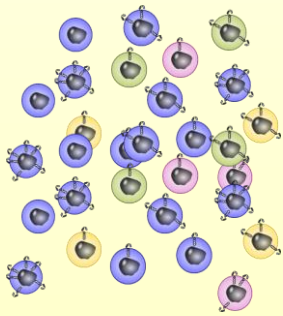


提供する価値

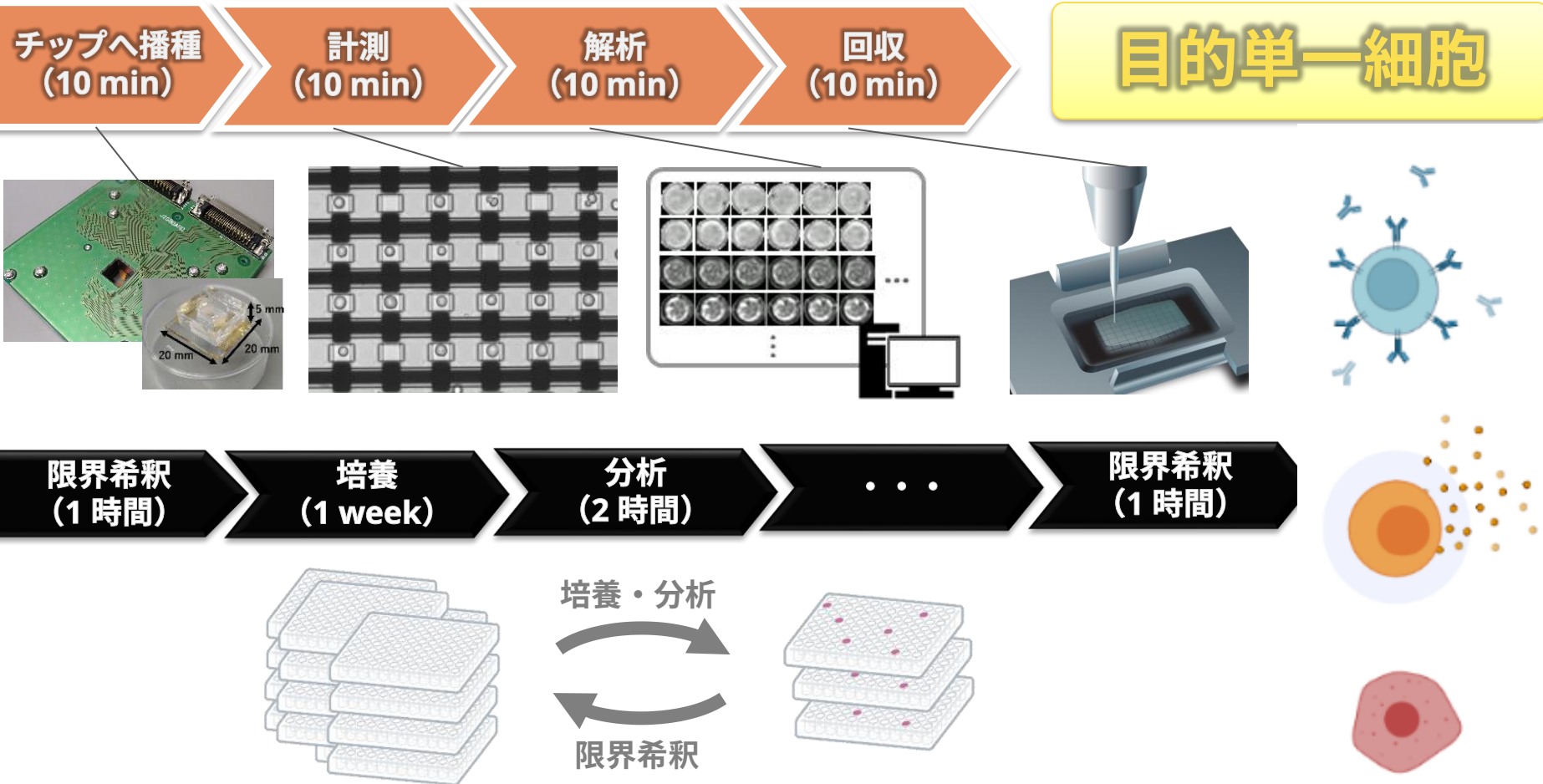
有用で機能の高い貴重な1細胞を前処理なく短時間に見つける

治療用細胞
創薬用細胞

不均質な細胞
集団

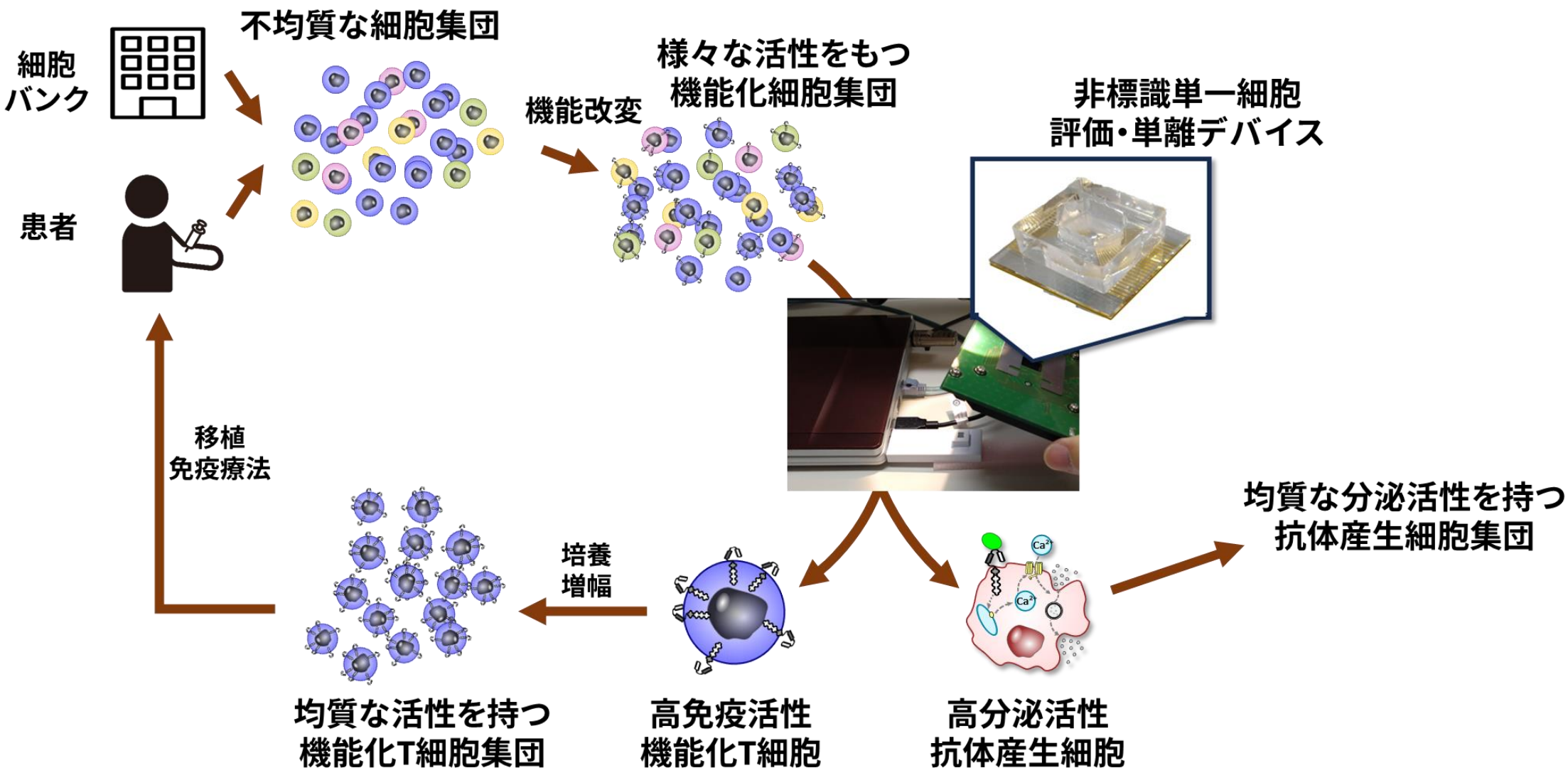


治療効果のばらつき
生産量の低下



想定される用途 (1)

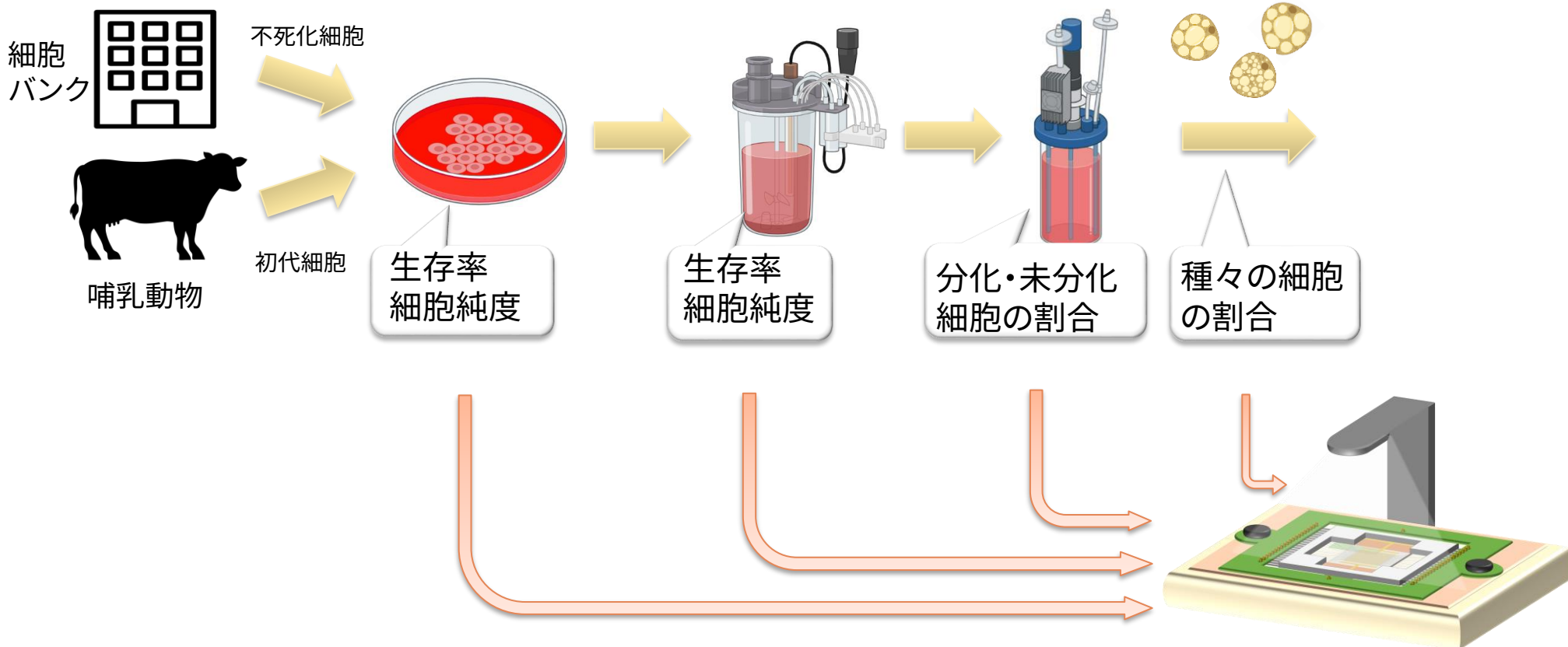
モノクローナルな細胞集団を利用した細胞治療・抗体生産



想定される用途 (2)

培養プロセスにおける簡易な細胞検査

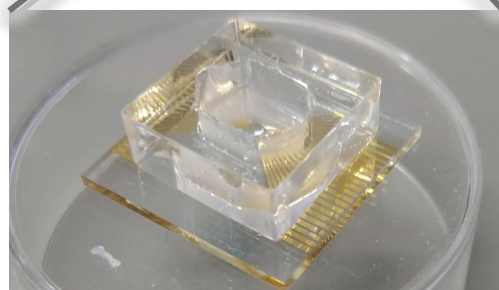
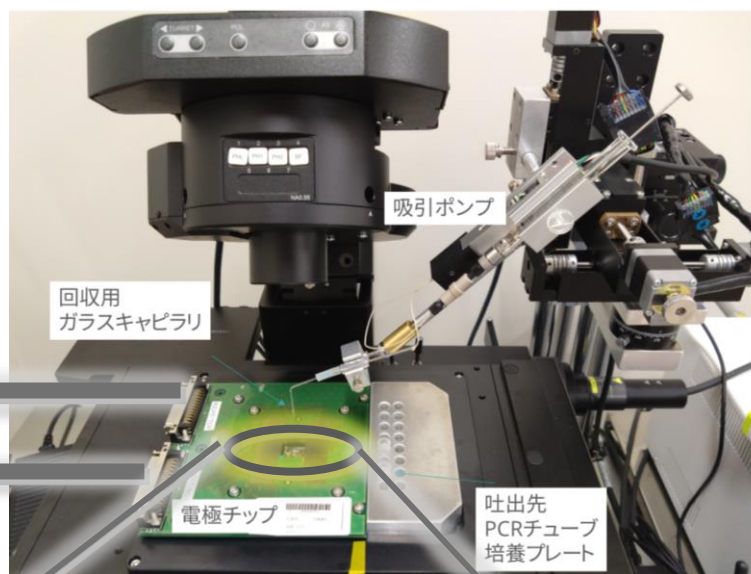
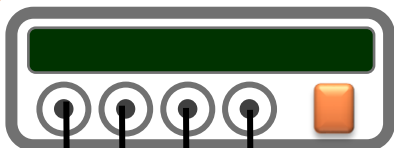
1. 原料細胞の入手
2. 細胞の純化
3. 増幅培養
4. 分化培養



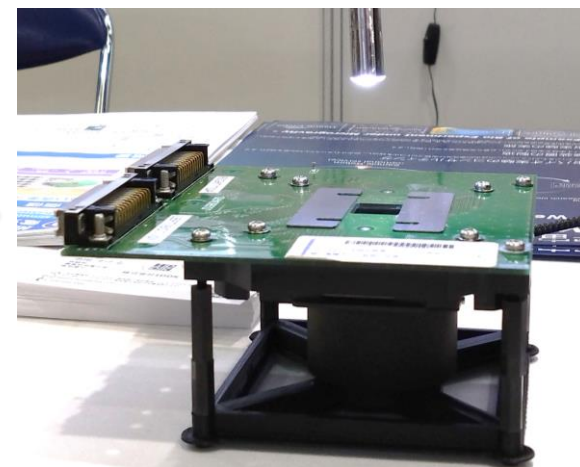
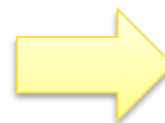
実用化に向けた課題と企業への期待

- 簡易計測装置への装置の小型化・計測の自動化は開発に目途
- 抗体産生細胞やモノクローン化に**意味のある細胞での実証不足**
- 計測から細胞回収までの**全体のシステム化**が課題

交流信号発生装置



小型化



一体システム化が未達
有用な細胞での実証不足

本技術に関する知的財産権

- **発明の名称**：電気回転デバイス及びこれを備えた細胞評価システム
- **出願番号**：特願2020-093819
- **出願人**：兵庫県立大学
- **発明者**：鈴木 雅登, 河合 志希保, 安川 智之

- **発明の名称**：粒子の回転速度の測定方法
- **出願番号**：特願2022-068169
- **出願人**：兵庫県立大学
- **発明者**：鈴木 雅登, 安川 智之

産学連携の経歴

【産学連携の実績】

- 2010-2017年 企業研究員として大学との共同研究を5件推進
- 2018-現在 大学教員として企業との3件の共同研究を推進

【産学連携促進プログラム】

- 2021年 JST A-STEPトラリアウト事業に採択
- 2021年 JST START-GAPファンドプログラムに採択
- 2022年 KSAC GAPファンドプログラムに採択
- 2022年 メドテックグランプリKOBE 2022 最優秀賞受賞
- 2023年 NEDO官民による若手研究者発掘支援事業
(スタートアップ課題解決支援型)に採択

お問い合わせ先

兵庫県立大学

産学連携・研究推進機構 知的財産本部

T E L : 079-283-4560

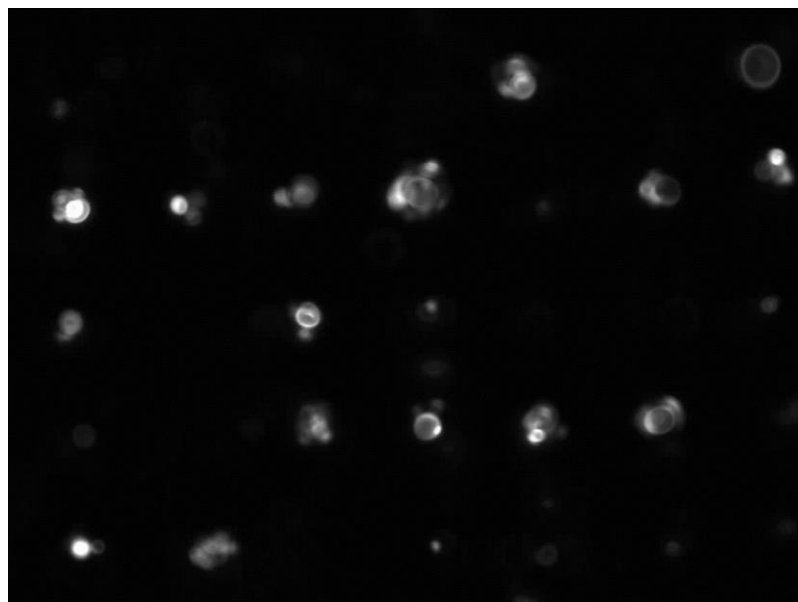
F A X : 079-283-4561

e-mail: chizai@hq.u-hyogo.ac.jp

皆様のサンプルをお待ちしております!

回転でわかる現象を一緒に開拓するメンバーを募集中

リポソーム



無機材料(SiO_2)
マイクロロッド(非球形)

