

## 「イノベーション創出コンテスト 2009」応募書類

記入日 2009年 月 日

発明の名称※	無菌操作用閉鎖系を有するセル・ソーター	
発明の分野※	研究分析機器設計	
発明の公開状況※ (論文、特許出願など) 【該当項目以外を削除してください。】	未公表	
発明の公開状況の詳細 (特許出願済みの場合は出願番号を、論文等の場合はタイトル・発表年月日・発表媒体名などを記入してください)		
この発明に関して、共催者への売却 (審査あり)を希望しますか?※ 【該当項目以外を削除してください。】	はい	

※記入必須項目

1. 発明の要約 (400字程度)
<p>本発明は、生命科学及び医学分野で使用する機器に関連し、特に、動的な開閉機構を利用した細胞分取機器 (セル・ソーター) に関連するものである。</p> <p>セル・ソーターは、研究及び臨床で使用する機器として欠かせないものである。しかしながら、従来のセル・ソーターは、開放流体系液滴形成法を用いているため、細菌などによる汚染の可能性を伴い、臨床応用上での問題となっている。従って、閉鎖流体系を用いたセル・ソーターが求められている。</p> <p>本発明は、上述の問題を解決するために、</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>—閉鎖系内において</li> <li>—光学的技術を用いて目的の細胞を検出し</li> <li>—磁歪効果を用いた機構により経路を制御し</li> <li>—目的の細胞を適切な流出口および流出口へと移動することができる構造を有するセル・ソーター提供するものである。</li> </ul>

## 2. 解決しようとする技術課題およびその背景

### 【背景】

セル・ソーターは、研究及び臨床で使用する機器として欠かせないものである。典型的な装置は、細胞の物理的および化学的特性を検出し、それに続いて、目的とする細胞の物理的分取を行う。各細胞の特性検出は蛍光あるいは散乱光などの光学的技術を用い、物理的分取は静電気などの物理的技術を用いる。

細胞分取を行うためには、細胞が1つずつ順に流れる状態を作る必要がある。この状態は、流体力学に基づいて設計されたサンプル液流とシース（sheath：鞘）液流の層流によって形成される。

細胞を含むサンプル液およびシース液はコンプレッサなどの圧力により Quartz 製キュベットへ押し出される。この際、サンプル液をシース液の中央に、且つシース液側の圧力よりわずかに低い状態で注入すると、流体力学的絞り込みが生じ、シース流に包まれたサンプル流が形成される（図1）。シース液とサンプル液の圧力差を調整することにより、サンプル流の径を絞り込み、個々の細胞が1個ずつ順に流れる状態を形成することができる（図2）。

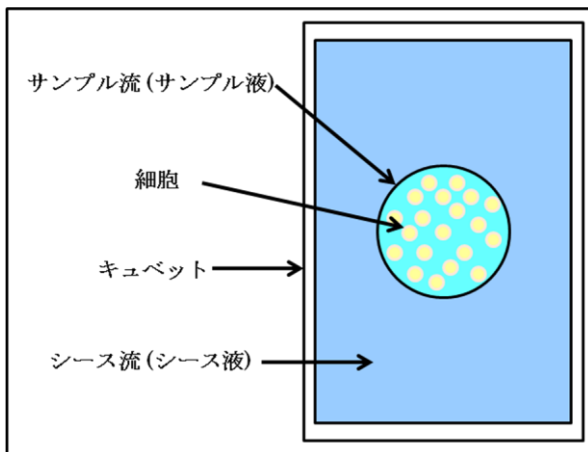


図 1

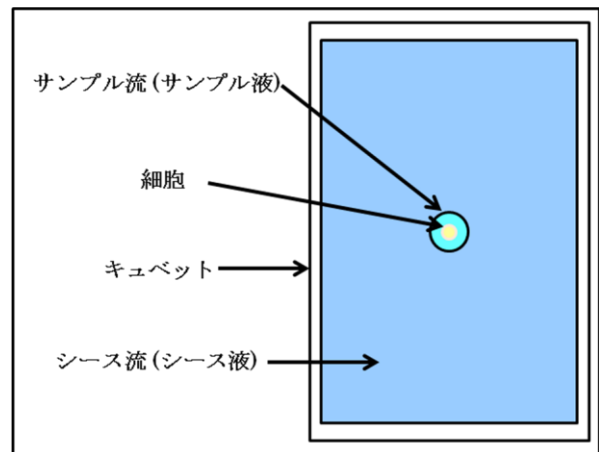


図 2

次いで、細胞検出および分取の方法は、Sense in Quartz 方式と Jet in Air 方式とに分けられる（図3）。

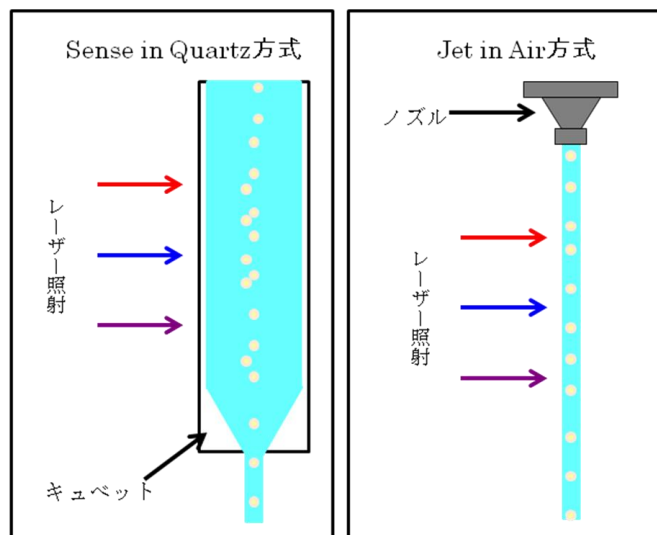


図 3

Sense in Quartz 方式は、キュベットの側方からレーザーを照射し、キュベット内でサンプル液中の細胞を検出する。

Jet in Air 方式は、キュベットを通過し、ノズルから噴射された液流にレーザーを照射し、細胞を検出する。

ノズルから液流が噴射される際、ノズル部に特定の機械的振動を与えることにより、明確に分離した液滴を形成することができる。液滴形成の直前に、液流を－あるいは＋に荷電すると、－あるいは＋に荷電した液滴が形成され、その電荷により、例えば、分取すべき細胞（例えば－に荷電）は＋極側に、分取すべきでない細胞（例えば＋に荷電）は－極側に引き寄せられ、各極の下にある回収容器に入ることになる。

【解決しようとする技術課題】

いずれの方式を用いたセル・ソーターも、開放流体系液滴形成法を用いているため、細菌などによる汚染の可能性を伴い、臨床応用上での問題となっている。

3. 解決方法（＝発明）

本発明で述べるセル・ソーターの全容は、図 4 に示されるような分取開閉機構、光学検出系および流体微小経路を備えている。

【分取開閉機構】

図 4 は、磁歪開閉機構を示している。磁歪ロッド 1 は、セラミック製または類似した材質の流路切り替え部 2 に接続されている。流路切り替え部 2 には流出口 3 がある。流出口 3 は、磁歪ロッド 1 が磁場によって励起されているか、または励起されていないかに応じて、2 つ以上の流出口 3 のうちの 1 つを開放する。どちらの（複数であればいずれの）流出口も固有の吸入路へつながっている。また、細胞流は、微細流入路 5 を介してこの開閉機構へと流れてくる。

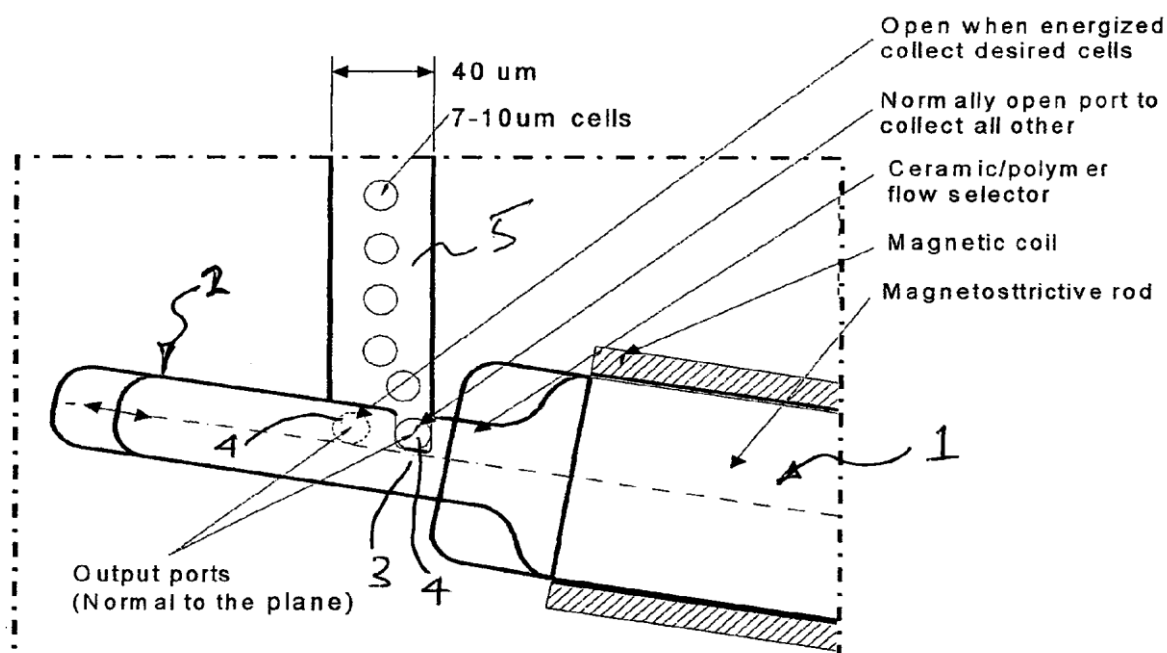


図 4

磁歪ロッド 1 に磁場が与えられていない時は、不要な細胞流を排出するための流出口 3 が開いており、排出用の吸入路へと細胞流を流している（ここでは定常状態と呼ぶ）。

磁歪ロッド 1 に磁場が与えられると、その磁歪特性に基づいて物理的に膨張する。その結果、排出用流出口が閉じられ、一方で、他の特定の流出口 3 が開く。

分取すべき細胞 4 が微細流入路 5 より上流にある蛍光または光散乱検出器のいずれか（あるいは両方）によって検出されると、流速制御用電子回路が必要なタイム・シフトを追跡する。細胞 4 が流出口 3 へ到達する際に、磁歪ロッドに磁場を与えることにより、特定の流出口を開き、細胞 4 を特定の吸入路へと移動させることができる。細胞 4 が吸入路へ移動すると、磁場の印加が停止され、定常状態へと戻る。

典型的な磁歪ロッドの寸法変化は、1 ミリメートルあたり約 1 ミクロンであるため、25~30 ミクロンの動きを得るためには、この発明に使用する磁歪ロッドは、約 25~30 mm の長さが必要となる。

ロッドの材料は膨張することができる材料であれば使用可能である。図 4 の開閉機構は、最大 10,000 Hz の速度まで動作可能である。

微細流入路 5 は、直径約 40 マイクロメートルのものでよい。

多経路（2 経路以上）構造も可能であるため、1 度の操作において、さまざまな細胞を、特性に応じて分取することができる。

### 【光学検出系】

図 5 は、本発明と共に使用できる光学検出系の実施形態である。

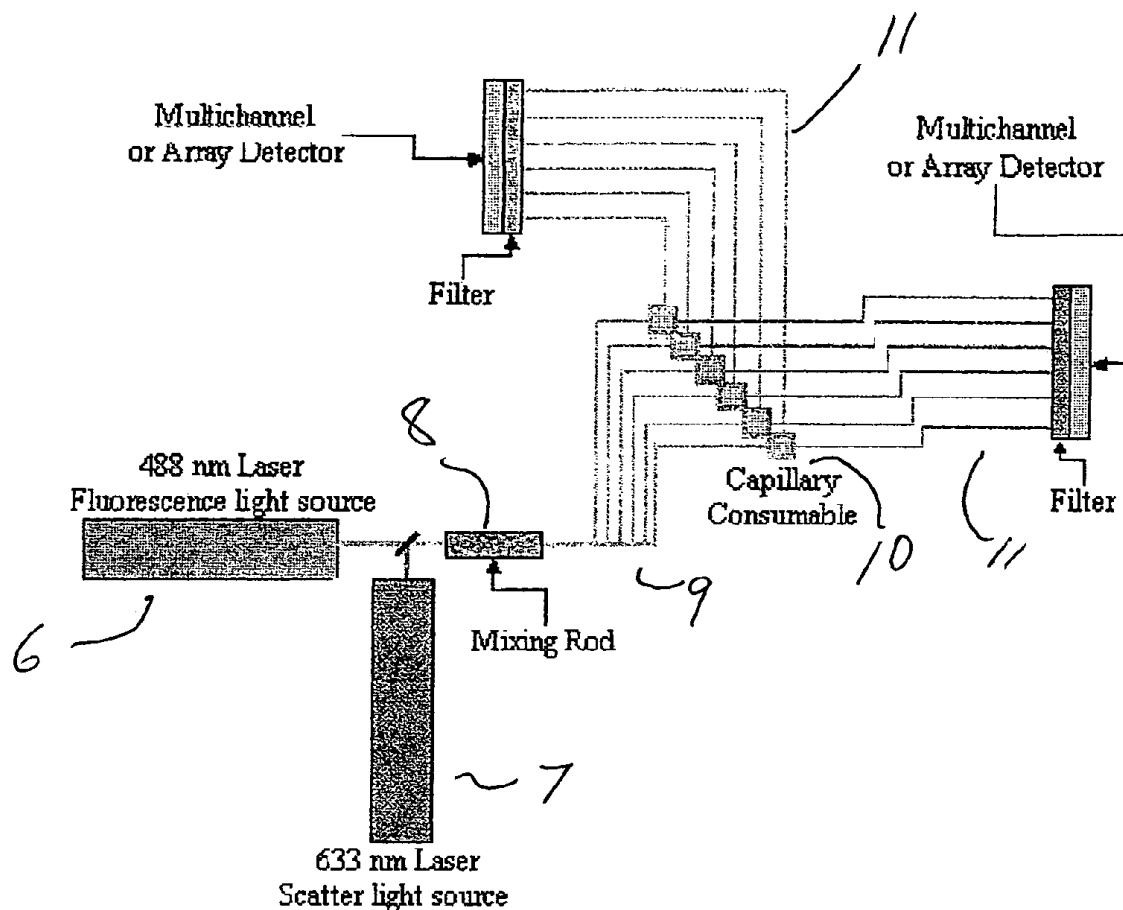


図 5

488 nm のアルゴン・レーザ 6 は蛍光の光源として働き、633 nm のヘリウムネオン・レーザ 7 は光散乱の光源として働く。2 種のレーザは、混合ロッド 8 へとつながれる。混合ロッド 8 は、光源波長を組み合わせ、それらの光を光ファイバ 9 へ効率的につなぐ。光ファイバ 9 は、光をキャピラリーセル 10 へ運ぶ。光ファイバ 11 は、各キャピラリーセルからの蛍光および散乱光をマルチチャンネル配列型検出器 12 へつなぐ。マルチチャンネル配列型検出器 12 は、光増幅器もしくはダイオード・アレイ、または他の光検出装置を備えることができる。

図 6A および 6B は、キャピラリー10 の上面図 (図 6A) および側面図 (図 6B) である。

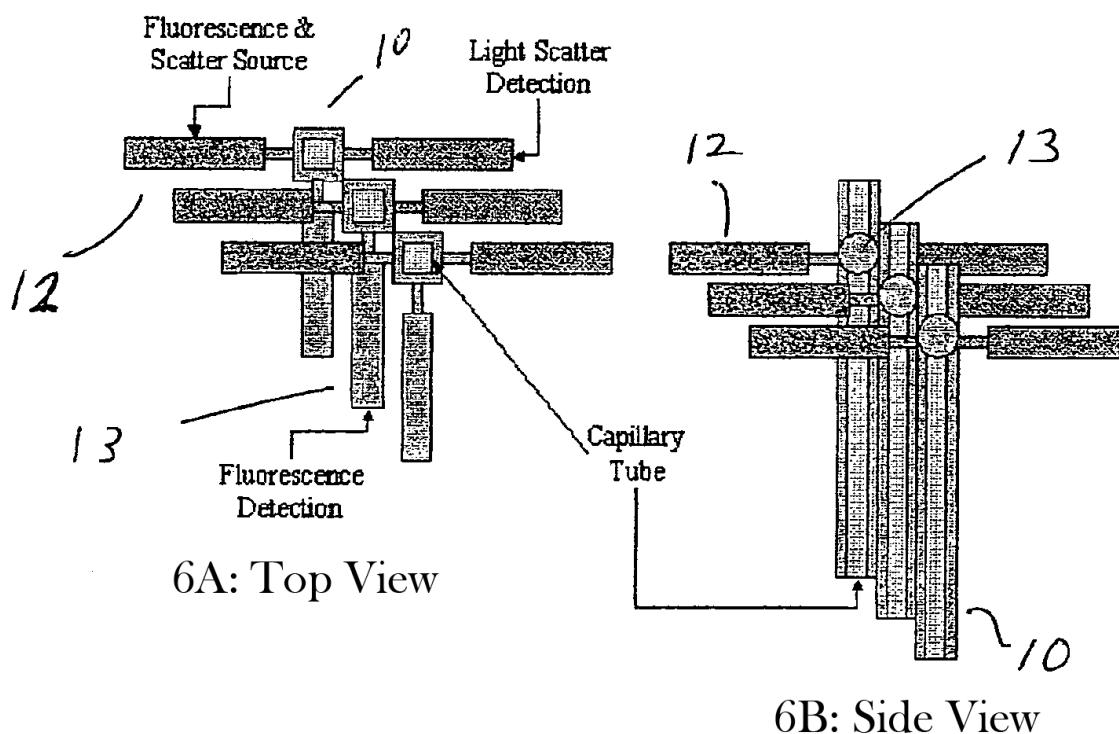


図 6

光学検出系は、図 6 に示す通りに配置することができる。各キャピラリーは、光源と検出器が水平に並ぶように配置されている (図 6B)。各構成部は、円形でも正方形でもよい。蛍光および光散乱の光源 12 は、2 種の異なった波長の光をキャピラリー10 へと送り込む。蛍光検出器 13 および光散乱検出器は 90 度離して設置している。

**【流体微小経路】**

図 7 は、セラミックまたは重合体 (あるいは他の任意な適した材料) 基板上にエキシマ・レーザを用いてレーザ加工された流体微小経路構成図である。流体流入口 14 は蛍光および散乱光経路 16 を通過し、さらに流路切り換え部 17 へ通じ、細胞収集口 18 と廃棄口 19 へと至る。磁歪ロッド 20 は、流路切り換え器 17 に取り付けられている。磁歪ロッドは磁場に応じて、廃棄口 19 と細胞収集口 18 の間で流路を切り替える。細胞位置の検出は、図 7 に示す構成図の外部にある蛍光検出器または散乱光検出器を使用しうる。

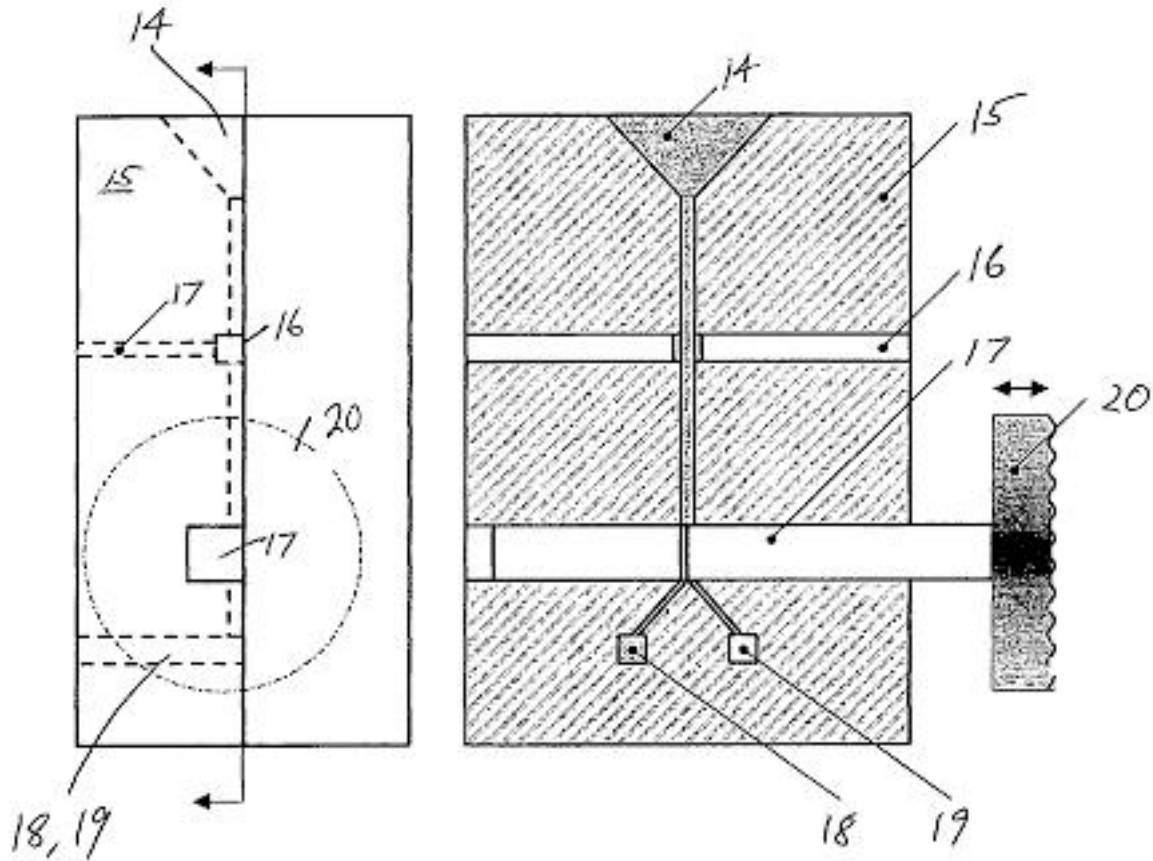


図 7

以上のように、本分取開閉機構、光学検出系および流体微小経路を用いることにより、

- 閉鎖系内において
- 光学的技術を用いて目的の細胞を検出し
- 磁歪効果を用いた機構により経路を制御し
- 目的の細胞を適切な流出口および流出口へと移動

させることができる。

以上。

#### 4. 新規性・独創性で強調すべきこと

従来のセル・ソーターは、開放流体系液滴形成法を用いているため、細菌などの汚染を受けやすい。したがって、単離された細胞の適用範囲が制限され、特に臨床での使用に関しては問題が多い。

ここに提唱するセル・ソーターは、閉鎖系流体系により無菌状態を実現しうる。また、最大 10,000 Hz で動作する複数の経路を容易に提供することができる。

#### 5. この発明の用途とそれによるメリット

費用効率のよい細胞分取装置を求める大きな需要がある。分取され、単離された細胞集団は、例えば、骨髄除去した癌患者への移植に用いる。現在、米国内では、そのような移植が年間約 10 万件行われている（2002 年）。医療施設および医療産業に加えて、研究機関からも大きな需要がある。