

PRESS RELEASE

平成23年 6月21日
公益財団法人
ちゅうごく産業創造センター

iPS細胞等を分離回収する高性能「細胞回収自動化システム」を開発

公益財団法人ちゅうごく産業創造センター（会長：松井三生）では、経済産業省から受託した「地域イノベーション創出研究開発事業」において、大学（近畿大学、鳥取大学）や企業（エステック株、トーヨーエイテック株、株クロモセンター、広島和光株）と共同して、新型万能細胞(iPS細胞)⁽¹⁾等の有用細胞を分離・回収できる新規・高性能な「細胞回収自動化システム」を開発し、この度、試作品が完成しましたので、お知らせします。

本開発システムは、独自の技術により専用に開発したマイクロアレイ⁽²⁾を用いて、自動的に細胞診断と回収を行うため、従来の装置と比べてコンパクトで低価格であり、万能細胞等の有用細胞にダメージを与えることなく、効率よく短時間に回収することが可能となることから、将来の再生医療の実現に貢献するものです。

なお、本開発システムは、本年6月29日～7月1日に東京ビッグサイトで開催される「第10回国際バイオEXPO」に出展する予定です。

記

1. 高性能「細胞回収自動化システム」の開発について

(1) 目的

将来の再生医療や遺伝子治療などに必須な技術として、新型万能細胞(iPS細胞)等の開発が進められていますが、これら有用細胞を得るためには、有用細胞と不用細胞の分離・回収が必要となります。

このため、有用細胞(iPS細胞等)に分化⁽³⁾できなかった細胞やフィーダー細胞⁽⁴⁾等の不用な細胞を分離・除去し、有用細胞だけを回収する「細胞分離回収装置」の開発が進められていますが、現状の装置では次の課題があります。

- ① 大型の装置で、高価(数千万円/台、海外製品)である。
- ② 操作に時間がかかり、熟練を要する。(約5時間/回)
- ③ 1工程で1回しか診断できないため、診断情報が限定的で純化が難しい。

④ 磁性粒子等への接着・はく離、水圧の影響等で、回収した細胞へのダメージが大きい。
そこで、iPS細胞等の有用細胞にダメージを与えず、安価、簡便かつ高純度に分離・回収するため、マイクロアレイを活用した高性能「細胞回収自動化システム」を開発しました。

- ① マイクロアレイに個細胞を固定化する機能性ポリマー素材と固定化技術の開発
- ② 細胞のはく離・回収技術、細胞診断・回収用マイクロアレイおよび細胞回収自動化装置の開発

我々の開発した技術は、将来の再生医療に不可欠な新型万能細胞 (iPS 細胞) や胚性幹細胞 (ES 細胞)⁽⁶⁾等を用いて、拒絶反応のない組織や臓器を再生し、移植する技術の確立に大きく寄与すると考えています。

(2) 開発システムの概要

開発した「細胞回収自動化システム」は、これまでにない全く新しい技術であり、次のような特長があります。

① 「細胞診断・回収用マイクロアレイ」

ガラス面 (10mm×10mm) に細胞サイズ ($\phi 10\sim 100\mu\text{m}$) の金スポット (4,900 個) を作製し、金スポット以外のガラス面は、細胞の接着を高度に抑制する人工リン脂質ポリマー⁽⁶⁾で修飾します。また、金スポットには温度応答性ポリマー⁽⁷⁾を固定化します。金スポットに細胞を接着した後、細胞回収自動化装置にセットし、細胞の診断・回収を行います。

なお、ガラスの表面への金スポット作製は、プラズマ表面処理技術⁽⁸⁾を活用して製作することで低コスト化を図っています。マイクロアレイ表面は人工リン脂質ポリマーと温度応答性ポリマーの固定化により細胞の接着が高度に制御でき、細胞にはダメージを与えることなく、はく離・回収が可能となります。

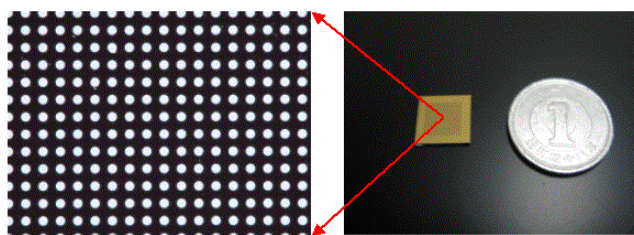


写真1 マイクロアレイ

スポット(セル)数:4900
(ガラスサイズ 10 mm×10 mm)

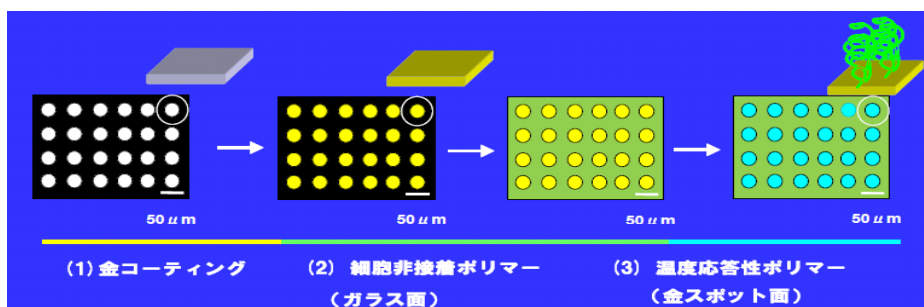


図1 細胞マイクロアレイの作製方法

② 「細胞回収自動化装置」(本体)

マイクロ/ナノスライダー付顕微鏡ステージ⁽⁹⁾、診断・照射用の固体レーザー、CCDカメラとモニター、細胞供給・回収チャンバ等から構成されるコンパクトサイズの装置で、細胞回収は自動的に行います。

マイクロおよびナノ高速移動できるステージ上に細胞を付けたマイクロアレイをセットします。不要な細胞だけに反応する抗体を用いてアレイ上の細胞の診断情報を一度に取り込み、コンピュータ解析を行い、不要な細胞を迅速に判別して、高出力可視光レーザー⁽¹⁰⁾をスポットで照射します。これで必要な細胞にダメージを与えることなく細胞死を誘導して除去します。残った有用細胞は温度刺激(細胞の培養温度 37°Cから室温 25°C付近に冷却)により、ダメージを与えることなく回収できます。

また、熟練した技能も必要なく、細胞に接触する容器内部だけで装置全体を滅菌する必要がないため、簡単な操作性と安全な万能細胞の回収を実現します。

さらに、マイクロアレイの各スポットに固定化された細胞は、診断薬の反応効率が
 高いため、診断精度および万能細胞作製に必要なDNA導入効率の向上が図れます。
 マイクロアレイを含む「細胞回収自動化システム」の技術性能は、次のとおりです。

項目	技術性能
スペース	従来品の1/2以下
コスト	従来品の1/2以下
細胞回収時間(細胞播種後)	1～2時間
細胞診断	同一アレイ上で繰り返し診断が可能
細胞純化率	純化操作の繰り返しにより100%まで可能
細胞ダメージ	回収細胞のダメージが小さい

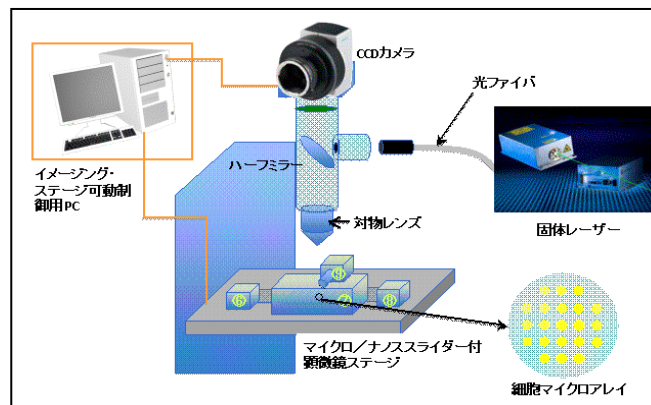


図2 細胞回収自動化装置概念図



写真2 細胞回収自動化装置全景



写真3 細胞回収自動化装置本体
 (黒ケース内収納)

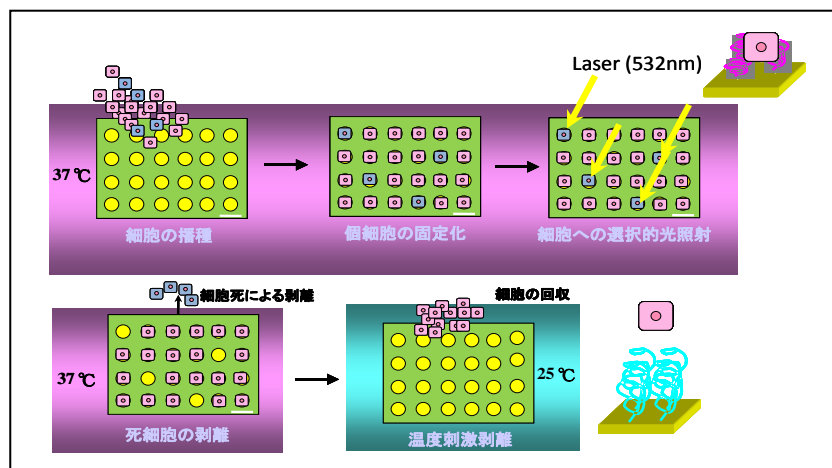


図3 細胞分離回収イメージ図

2. 研究開発体制および事業化について

(1) 研究開発体制

本研究開発は、経済産業省からの受託事業「地域イノベーション創出研究開発事業」として、以下の研究開発体制にて実施しています。

【管理法人(統括管理):(公財)ちゅうごく産業創造センター】(広島市中区)

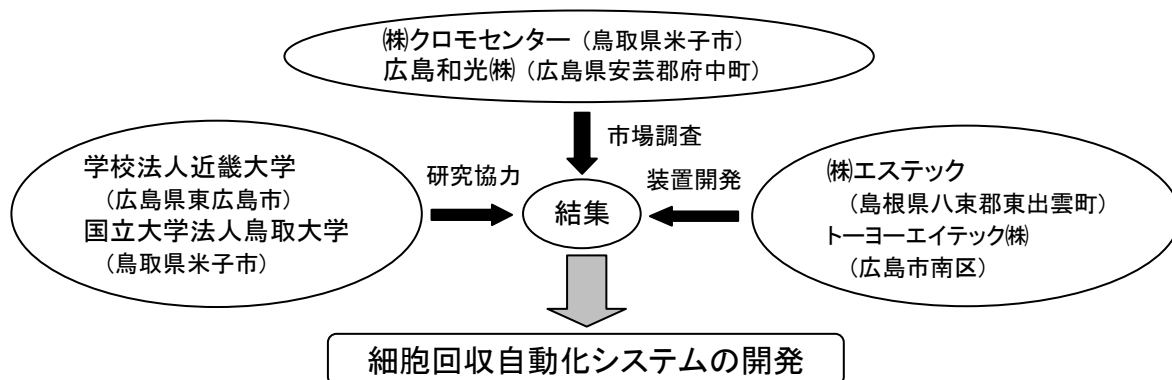


図3 研究開発体制

(2) 事業化計画

平成23年度以降の「地域イノベーション創出研究開発事業」での研究開発により、今回試作したシステムの更なる高性能化、スペックの絞込みによるコストダウン等を行い、3年後には、実用化システムを開発し販売する予定です。

また、技術開発後は、次の事業化スキームにより取り組む予定です。

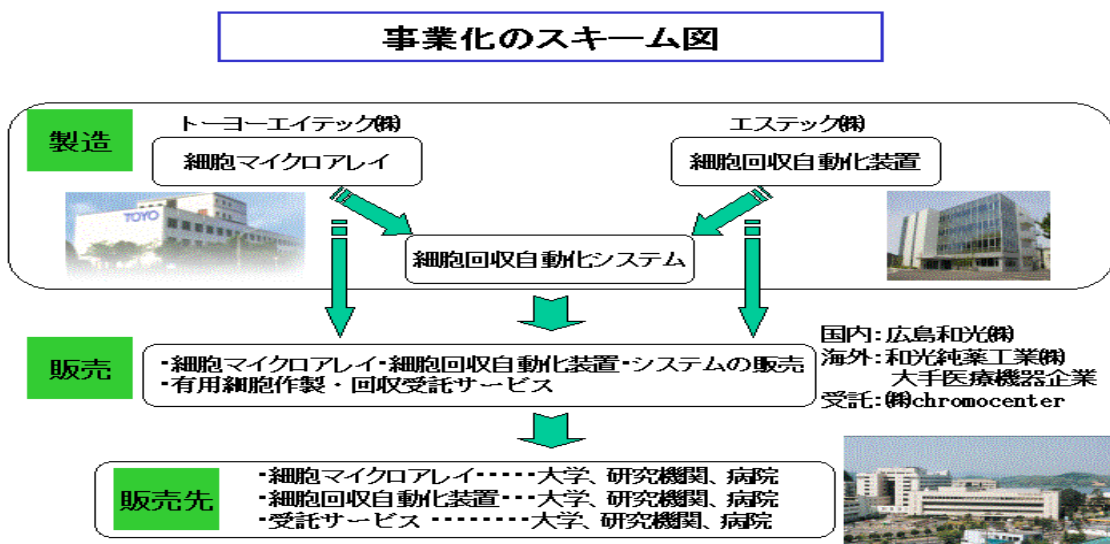


図4 事業化スキーム

なお、有用細胞作製・回収受託サービスは、鳥取大学で開発された HAC 技術⁽¹¹⁾ (世界初のヒト染色体改変技術)を活用して、HAC 万能細胞⁽¹²⁾ を作製し、再生医療への応用を図ると共に、HAC 万能細胞を含めた各種万能細胞などの販売を行う予定です。

以上

お問い合わせ先：(公財) ちゅうごく産業創造センター 産業部 平野義男
TEL 082-241-9980、FAX 082-240-2189

【参考】用語解説

- (1) 新型万能細胞 (iPS 細胞) : 京都大学再生医科学研究所の山中伸弥教授を中心とする研究グループが作り出した、さまざまな臓器・組織の細胞に成長する能力を秘めた分化多能性を持った細胞のことをいう。
- (2) マイクロアレイ : アレイとは整列・並べたものの意味であり、細胞や DNA などの検査・実験の対象物を多数固定化しておき、これらに対して一度に検査・実験を行うためのツールのこと。
- (3) 分化 : 生物学的には、特殊化していない個々の細胞が、より構造機能的に特殊化した細胞に変化するプロセスのことをいう。
- (4) フィーダー細胞 : 胚性幹細胞 (ES 細胞) などに栄養分を供給する役割で使用される細胞のことを指す。一般的には繊維芽細胞をマイトマイシン処理などで不活化して使用する。
- (5) 胚性幹細胞 (ES 細胞) : 万能細胞の一種で動物の発生初期段階である胚盤胞期の胚の一部に属する内部細胞塊より作られる幹細胞株のことをいう。
- (6) 人工リン脂質ポリマー : 理想的な生体適合性表面である生体膜 (細胞膜) を模倣した新物質のことであり、細胞膜を構成するリン脂質分子の極性基部分を有するポリマーのことをいう。
- (7) 温度応答性ポリマー : 水中で、ランダムコイル (可溶) ⇄ グロビュール (不溶) のポリマー鎖状態およびそれに同期して鎖の性質が温度によって可逆的に変化する。グロビュール温度で接着・培養した細胞は、ランダムコイルに変化する温度以下にすると、足場がなくなるため、細胞が基材から非侵襲的にはく離する。細胞培養用の機能性素材としての利用研究が進んでいる。
- (8) プラズマ表面処理技術 : プラズマは固体・液体・気体につづく物質の第四の状態の名称であって、通常は「電離した気体」の状態のことをいう。反応室内で高周波などの印加により原料ガスをプラズマ化させることで、物質の薄膜を形成したり、ドライエッチングに分類される微細加工をすることができる技術のことをいう。
- (9) マイクロ/ナノスライダー付顕微鏡ステージ : 正立顕微鏡にマイクロ/ナノスライダーが搭載された装置のことをいい、マイクロ/ナノスライダーとは X 軸および Y 軸方向に高速移動、高速停止が可能で停止位置誤差が小さい 2 軸の移動ステージのことをいう。
- (10) 高出力可視光レーザー : 電磁波のうち人間の目に見える波長の光を増幅して放射する装置のことをいう。
- (11) HAC 技術 : ヒト人工染色体を作製する技術のことをいう。人工染色体とは、細胞内で人工的に構築した極小の染色体で、染色体の維持・継承に関わる機能を持つために宿主の細胞染色体とは独立に存在できる。
- (12) HAC 万能細胞 : HAC ベクターはマウス胚性幹 (ES) 細胞への導入、マウス個体での維持継承や組織特異的な遺伝子発現が可能であることを確認済みである。