

課題番号 : F-15-UT-0083
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : 超高速蛍光画像識別型セルソーターの開発
Program Title (English) : Ultrafast fluorescence imaging for image-activated flow cytometry
利用者名(日本語) : 板橋踊子, 太田禎生
Username (English) : Y. Itahashi, S. Ota
所属名(日本語) : 東京大学大学院工学研究科
Affiliation (English) : School of Engineering, The University of Tokyo

1. 概要(Summary)

セルサイトメトリーは、短時間で定量・網羅的な大量1細胞解析を行うことにより、細胞集団の統計的な理解や目標1細胞の選択的回収と、細胞培養・遺伝子解析を可能とし、幅広い生命科学研究に欠かせない技術である。今後、セルサイトメトリーには、短時間に高速測定・解析が出来る細胞数(量)と、1細胞から取得できる情報数(質)が同時に求められるが、両者の追及は、イメージング技術の速度・感度の限界により歯止めがかかっている。現在、最も広く利用されている Fluorescence-activated Cell Sorter 等のフローサイトメーターでは、高速解析を得意とするが、画像撮影できないために、取得可能な細胞情報は制限されている。一方で、画像に基づいて細胞情報を取得・解析するイメージングサイトメーター技術は、近年著しく進歩しているが、そのスループットは、カメラの撮影速度に制限されている。本研究では、従来の技術より遥かに高速に蛍光画像を撮影するイメージング技術の開発を行い、マイクロ流体技術や細胞ソーティングのための誘電泳動機構や高速画像処理技術などとの融合により、高速蛍光画像識別型セルソーターの開発を行っている。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

- ・ クリーンドラフト潤沢超純水付
- ・ 4 インチ高真空 EB 蒸着装置
- ・ 形状・膜厚・電気評価装置群
- ・ 光リソグラフィ装置 PEM800

【実験方法】

本研究開発のうち、ナノプラットフォームの実験装置を用いて、マイクロ流体デバイスの開発を行った。使用するガラス基板は、すべて RCA 洗浄を施した(クリーンドラフト潤沢超純水付)。高真空 EB 蒸着装置を用いて、電極となる金薄膜をガラス基板上に 100 nm 成膜した。成膜した金

薄膜の厚みを DektakXT-S を用いて計測した。光リソグラフィ装置を利用して、マイクロ流体デバイスのパターンをシリコン基板上にネガティブレジスト(SU8)を用いて作製した。作製したパターン(鋳型)に、ポリジメチルシロキサン(ポリマー)を流し込み、熱をかけて硬化させた。型から外したあとポリマー構造を、金薄膜電極を成膜したガラス基板平面と接着することで、電圧で動作するマイクロ流体デバイスを完成させた。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

蛍光ビーズや蛍光標識をした細胞を作製した流体デバイスの流路内に流し、本研究で開発しているイメージング技術に用いられる光学系でカメラを用いて撮影した。作製した流体デバイス中において、正常に流れる蛍光ビーズや細胞を確認している(Fig. 1)。

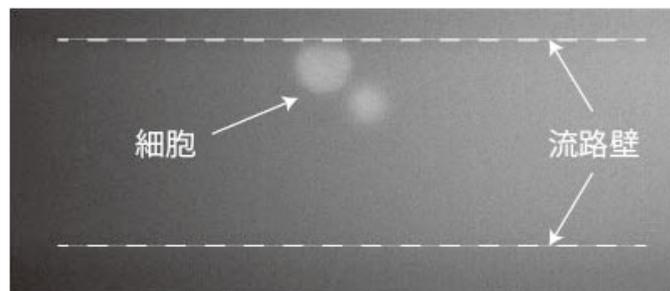


Fig.1 Fluorescent beads and cells flowing through fabricated device

4. その他・特記事項(Others)

【競争的資金】 JST さきがけ

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

なし

6. 関連特許(Patent)

本イメージング法に関する特許、2件出願済み