

マイクロメカニカルデバイスの細胞操作への応用

日立製作所 中央研究所 河村喜雄

植物を育種するためのバイオ技術分野では、1930年代に組織培養、1950年代に化学的細胞融合、1980年代に電気的細胞融合や遺伝子導入の各基礎技術が確立し、バイオ商品が出現してきた。

新品種を得るために有力な方法の一つである細胞融合では、所望の組合せで融合した雑種細胞を大量に生成することが要求されている。電気的細胞融合法は1982年に実証され、細胞融合装置として育種分野の発展に貢献してきている。これらの装置では、プロトプラスト（以下細胞と略す）A、Bを融合する場合に、大量の細胞A、Bを一つの容器の中で懸濁し、誘電泳動により細胞同士を接触させ、数kV/cmの電界強度の電気パルスを加えて融合処理を行っている。細胞を集団として扱っているため、融合処理後の細胞懸濁液の中には、AA、AB、BB、AAB、ABB、……、A、Bというように、所望のAB以外の組合せや未融合の細胞が混在している。所望の組合せで融合した雑種細胞の存在する確率は全体の1%以下といわれる。したがって、細胞の懸濁液の中から所望の組合せで融合した雑種細胞を数千個以上集める選抜作業が必要である。顕微鏡下でのピックアップ作業は、熟練者でも1時間あたり数十個程度しか選抜できないと言われる。また、所望の雑種細胞のみが生き残る選択培地を用いる方法もあるが、最適な培地の開発に多大な労力と時間が必要とされている。

これに対して、大量の植物細胞から1対1のペアを多数作り融合させるというコンセプトの1対1細胞融合装置が1989年に開発された。¹⁻³⁾ マイクロチャンバ（微細な融合容器）の中にあらかじめAとBの細胞を1個ずつ入れて電気的融合を行うものである。この方法によれば、所望のABの組合せの雑種細胞となる確率が飛躍的に高まることが期待される。

マイクロチャンバプレートは半導体集積回路の加工技術を応用する微細加工技術（マイクロマシニング⁴⁾で単結晶シリコン基板に形成したマイクロメカニカルデバイスである。寸法 $10 \times 80 \mu\text{m}$ の吸引用のスリットを有した微細な隔壁であるマイクロチャンバをピッチ $770 \mu\text{m}$ で $36 \times 44 = 1584$ のマトリクス状に配列してある。さらに、寸法 $15 \mu\text{m}$ 角の吸着座をマイクロチャンバと同じ配列で形成したキャリアプレート（細胞搬送器）を用いて、大量の細胞を1個ずつ一括してマイクロチャンバに注入する操作を実現している。狭い流路に細胞懸濁液を流し、キャリアプレートの背面から数十Paほどの微小な圧力差で吸引して吸着座に細胞を1個ずつ吸着する。マトリクス状に細胞を吸着したキャリアプレートをマイクロチャンバ上に正確に位置合わせして加圧することにより、たくさんの細胞を個別に一括して注入させる。この細胞の搬送操作を2種類の細胞に対してそれぞれ行うことにより、10分弱程度で1対1のペア細胞を形成して電気的に融合処理できる。

所望の組合せで融合する雑種細胞の生成率は、細胞1個の注入率約50%と1個の細胞の入った所へ再度細胞を注入する再現率約70%、ペアの細胞の融合率約50%との積で表わすことができ、15%程度と推定される。この値は前者の集団的な細胞融合方法に比べて一桁以上大きいとはいえ、さらに改善の余地がある。

マイクロメカニカルデバイスを用いて細胞を搬送操作するバイオ機器では、機械的に扱われる細胞の耐久力に細胞の単離処理などの条件が影響して、雑種細胞の生成率を左右する。⁵⁾したがって、バイオ研究者の培った細胞の精製技術のノウハウや細胞の分級技術⁶⁾を取り入れて、より良い条件で細胞を処理できれば、生成率のさらなる向上が期待できる。

また、マイクロチャンバは、配列の規則性を利用して細胞の履歴管理に利用できるもので、細胞の活性度の評価⁷⁾や遺伝子導入などの細胞操作装置としての展開が期待される。

- 1) 河村ら：精密工学会誌，56，86（1990）。
- 2) 下柘棚編：マンガバイオテクノロジー入門，p. 45，日本機械学会，丸善（1991）。
- 3) 三輪編：生命機械工学，p. 60，裳華房（1992）。
- 4) 河村ら：精密工学会誌，58，1753（1992）。
- 5) 藤田：マイクロマシンの世界，p. 106，工業調査会（1992）。
- 6) 河村ら：育種学雑誌，43，91（1993）。