

高効率ハイスループット抗原特異的抗体産生細胞 スクリーニングチップの研究開発

加工技術課 小幡勤

1. 緒言

ヒトの血液の中には、およそ 60 兆個程度の細胞が含まれているといわれており、主に赤血球や白血球などで構成されている。白血球のうちリンパ球はヒトの免疫機能に深く関わっており、体外から侵入した異物を除去、中和などの役割を持っている。例えば、ウイルスなどに感染した際には、B 細胞がそれを認識することで免疫機能が起動する。しかしながら、あるウイルスに対して反応する B 細胞は数万から数十万個の一つくらいしかなく、今後中心となっていく免疫医療では、細胞のスクリーニングをいかに効率的におこなうかが鍵となっている。

本研究では、高い効率でこれらの細胞を選別可能な細胞スクリーニングチップの開発を目的としている。

2. 細胞スクリーニングチップ

2.1 構成

細胞スクリーニングチップは、ガラスを基板としてその上に磁性膜、マイクロウェルがビルドアップされている。ドーナツ形状の磁性膜は、磁束を整えることと抜けた穴から細胞を観察できるような役割をもっている。この磁性膜とマイクロウェルが 1 セットとなって、チップ上に数万～十数万セット配列されている。

2.2 試作工程

透明なチップを実現するために ITO 膜付ガラス基板を採用し、電気めっきにて十数 μm 径の磁性膜を成膜している。次に透明レジストを塗布し、磁性膜直上にフォトリソグラフィ技術でマイクロウェルを形成する。利用した透明レジストにおいては、試作工程で熱負荷をできるだけ与えないように注意し、自家蛍光の発生を最小限にするようにしている。

3. 課題と解決

試作工程において、ITO 膜上のめっき膜の密着不良と透明レジストの残留自家蛍光が課題となった。

3.1 ITO 膜上への磁性めっき膜の形成

ITO 膜上へのめっきにおいて、めっき中あるいはめっき後のマスクレジスト剥離の工程でめっきパターンが剥離するという不良が多発した。めっき条件によって傾向が変わるものの大きな改善はみられなかった。そこでめっき前の前処理におこなう薬品処理を一部変更し、ITO 膜の最表面状態を変えて効果があるかを確認した。これによりめっき浴中での剥離は大幅に改善され、ラインパ

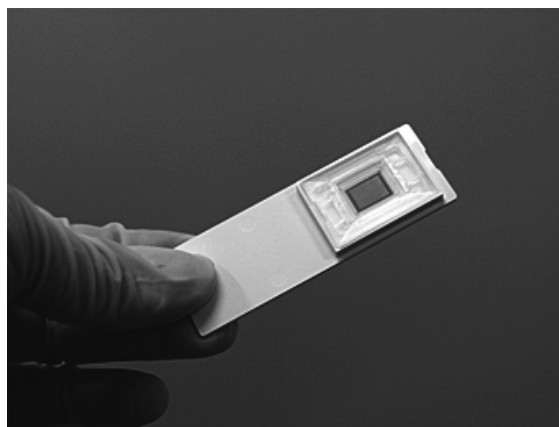


Fig.1 Transparent magnetic microwell-array chip

ターンでの応力剥離もなくなった。しかしながら、マスクレジスト剥離時に一部剥離が起こることから、さらにめっき後の処理によって改善することを試みたところ、プラズマ処理が効果的であることがわかった。これらの改善により、この後の工程に充分耐える密着度のめっき膜の形成に成功した。

3.2 自家蛍光処理

レジストからの自家蛍光は、蛍光顕微鏡でのバックグラウンドとなってしまう、微弱な信号の観察を阻害することから出来るだけ低いレベルに抑えられる必要がある。今回採用した透明レジストは熱工程に注意すればその自家蛍光は充分低いレベルに抑制される。しかしながら、スクリーニングの感度を向上させるためには、さらに低くすることが望ましい。そこで蛍光顕微鏡での観察の際、同じ場所を観察していると蛍光が徐々に消光していくという現象が見られたことに着目して、これを応用して特定の波長の LED 光をサンプルに照射することで消光する方法を考案した。試作サンプルでは安定して 30%以上の自家蛍光の低下が認められ、充分に低いレベルに抑制できることがわかった。

4. 結言

高効率で細胞を捕らえ、スクリーニング可能な細胞チップの開発をおこなった。めっき膜の密着性と自家蛍光の抑制に成功することで実用的な透明な磁気チップを製作することが可能になった。

謝辞

本研究は JSPS 科研費 22510128 の助成を受けたものです。透明レジストに関して東京応化工業株式会社のご協力に感謝します。