

粒子分離システムの分化細胞製造への利用検討

生活資材開発課 高田耕児 日本ゼオン株式会社 橋岡真義 学校法人加計学園岡山理科大学 松浦宏治

1. 緒言

分化細胞と未分化細胞とを分離する技術は、再生医療や薬剤の治療効果を検証するモデルの作製等に利用できると考えられる。しかし、多数の患者それぞれに合わせて分化細胞を生産する場合、セルソーターのような高価な細胞分離装置は台数が限られ、分離工程を割り当てるには限界がある。また、ラベル、蛍光標識などが細胞の機能に影響を与える可能性がある。分化によってサイズ変化がある場合、Deterministic Lateral Displacement (DLD)法¹⁾であればマイクロ流路チップに流すだけで分離ができるので、装置を大幅に小型化・低価格化でき、多数の装置を準備して並列処理できる。本研究では、これまで開発してきたDLD粒子分離システムが分化細胞の製造に利用できるかを検討した。

2. 実験

これまでの研究で、DLD法を利用したマイクロ流路チップ²⁾、チップと液だめを一体化したカートリッジ³⁾、カートリッジを取り付けてサイズ分離する電動デバイス⁴⁾を開発した。また、これを利用して、マウス筋芽細胞と分化誘導後の筋管細胞の分離⁵⁾など、分化によってサイズが大きくなる細胞について研究を進めた。本研究では、別の分化細胞において検討している他、マウス筋芽細胞においてはサイズ分離後の再培養について検討を行ったので、その結果を以下に示す。

マウス筋芽細胞(C2C12: ATCC CRL-1772)を、10%ウシ胎児血清を含むDMEM培地で培養した後、2%ウマ血清を含むDMEM培地中で分化誘導を行った。Fig. 1は分化誘導開始4日後の顕微鏡画像である。分化誘導によりサイズが大きくなった細胞を観察することができた。次に、分化誘導によって得られた筋管細胞を含む細胞を、トリプシンを用いて培養皿から剥離し、剥離した細胞を分散させた粒子懸濁液を調製した。この粒子懸濁液を20 μm の分離閾値を有するDLDマイクロ流路チップによってサイズ分離した。分離閾値より大きい細胞は分化(この場合は細胞融合)が進んだ細胞であり、分離閾値より小さい細胞は分化が進んでいない細胞である。分離閾値より小さい細胞を回収し、再培養したところ、Fig. 2に示すように培養皿上で培養できることを確認した。これは、分化が進んでいない細胞を回収し再利用することにより、分化細胞の製造を効率的に進めることにつながる。

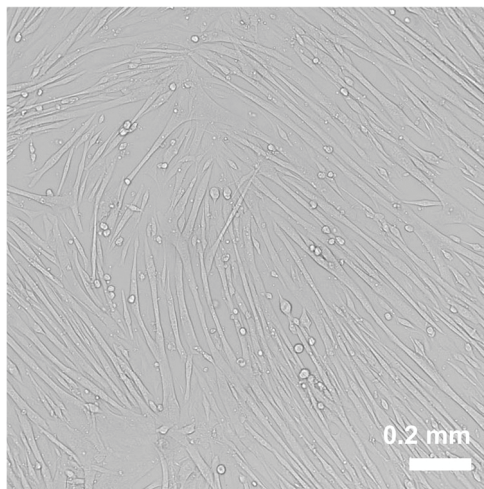


Fig. 1 Microscopic image of C2C12 cells cultured for 4 days after differentiation induction.

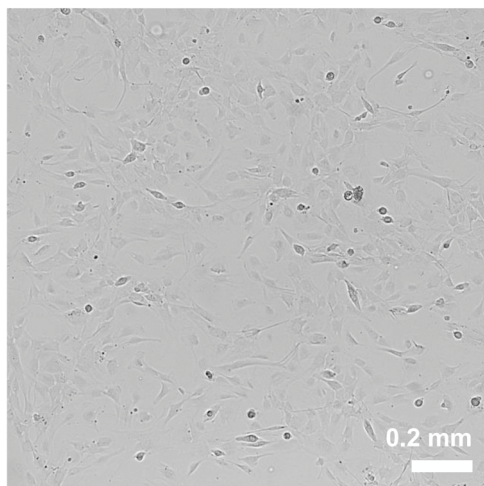


Fig. 2 Microscopic image of cells recovered as particles with sizes below the separation threshold and cultured for 2 days.

3. 結言

分化によってサイズが大きくなる細胞をDLD粒子分離システムで分離できること、分離した細胞を再培養できることを示した。

参考文献

- 1) L. R. Huang *et al.*: *Science*, **304** (2004) 987-990
- 2) 富山県工業技術センター研究報告, **31** (2017) 112
- 3) 富山県産業技術研究開発センター研究報告, **34** (2020) 69
- 4) 富山県産業技術研究開発センター研究報告, **36** (2022) 52
- 5) K. Matsuura, S. Hashioka and K. Takata: *Anal. Sci.*, **40** (2024) 1801-1807