

## 超高速スクリーニングのための 新型マイクロアレイシステム開発 (2010 年度分)

### Development of a Novel-Concept Micro-array for Ultra-high Speed Screening (Annual report of 2010)

西垣 功一<sup>1\*</sup>、木下 保則<sup>2</sup>、Shamim Ahmed<sup>1</sup>、内田 秀和<sup>1</sup>、王 保珍<sup>1</sup>、武居 修<sup>3</sup>、  
澁谷 昌樹<sup>3</sup>、久木崎 重成<sup>3</sup>、高松 祥太<sup>4</sup>、渡邊 強<sup>4</sup>、北村 幸一郎<sup>5</sup>、澤田 瑞穂<sup>5</sup>  
Koichi Nishigaki<sup>1\*</sup>, Yasunori Kinoshita<sup>2</sup>, Shamim Ahmed<sup>1</sup>, Hidekazu Uchida<sup>1</sup>, Wang Baozhen<sup>1</sup>,  
Osamu Takei<sup>3</sup>, Masaki Shibuya<sup>3</sup>, Shigenari Kukizaki<sup>3</sup>, Shota Takamatsu<sup>4</sup>, Tsuyoshi Watanabe<sup>4</sup>,  
Koichiro Kitamura<sup>5</sup>, Mizuho Sawada<sup>5</sup>

1 埼玉大学理工学研究科Graduate School of Science and Technology, Saitama University

2 埼玉大学総合研究機構Research Management Bureau, Saitama University,

3(株)ライフテックLifeTech Corporation, 4(株)エンプラスEnplas Corporation,

5 ジェナシス(株)Janusys Corporation

#### Abstract

This reports the advance during the second year of 4 years project termed as Development of Systems and Technology for Advanced Measurement and Analysis (SENTAN KEISOKU) Sponsored by JST. The most prominent progress is the completion and mass-fabrication of the chip and cassette system of MMV. The robotic manipulation system was drawn of their blue-print and partly constructed by overcoming the shortcomings found in the former version.

**Keywords: Microarray, screening, MMV, multistep-parallel reaction**

#### 1. はじめに

本研究開発は平成 21 年度から開始した JST 「先端計測分析・機器開発事業」 一 4 年(実質 3 年半：  
(注) 昨年度の報告の記載に 4 年半とあったのは誤記)計画の 2 年目であり、本年度終盤に中間評価を受け、一応継続が決まった段階である。

既に謳っているように、本事業が完遂したときには、創薬におけるスクリーニング過程を従来よ

\* 〒338-8570 さいたま市桜区下大久保 2 5 5

電話 : 048-858-3533 FAX : 048-858-3533

Email : koichi@fms.saitama-u.ac.jp

(原稿受付日 : 平成 23 年 6 月 30 日)

り 2 桁以上高速化し、コストを 2 桁以上、下げることが期待されている。また、これとは別に、微生物生態学や疫学に有用な研究方法である、微生物群全体を解析する「マイクロバイオーム解析」を実現する可能性があり、成果が期待されている。

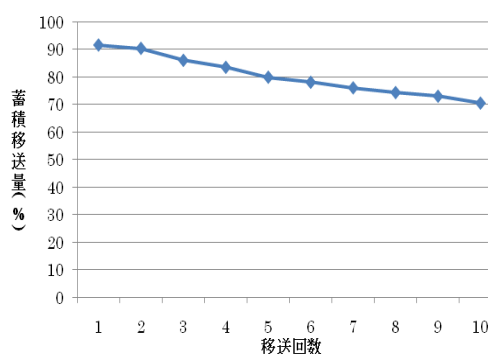
#### 2. 本年度の経過と成果

事業 2 年目の本年度は、昨年度に引き続き新型マイクロアレイ MMV (microarray with manageable volumes) の実用化を踏まえた検討を重ね、昨年度の検討で決まった素材・形状を元にして、金型を起こし、工法上の不具合を逐次解消

しながら、大量に作成した(ポリカーボネート製)。  
また、関係する基本論文を出版した<sup>1)</sup>。

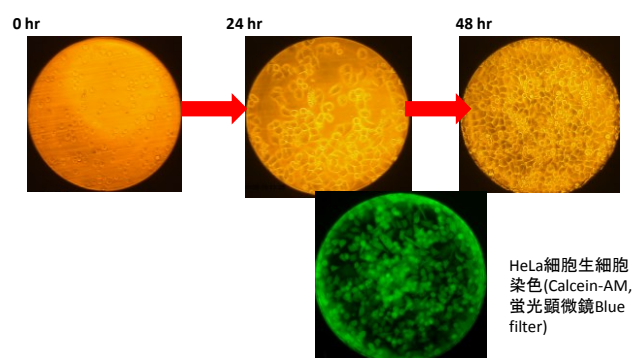
この間の代表的検討事項を箇条書きすれば以下の通りになる。

- ① MMV から MMV への一斉輸送 (aperture-to-aperture) を高い輸送効率 (平均 95%以上) で多段階的 (10 段以上) に実現できることを確認した (Fig. 1)。
- ② CHO 細胞のみならず、HeLa 細胞や PC12 などの動物細胞に関しても培養および操作可能であることが確認された。特に、培地交換のための操作方法として遠心法が細胞に損傷を与え使用できないことが判明し、解決策として“剣山吸い取り法”といえる約 1 mm ピッチで並列に並んだ微細管を用いて吸い取る方式が有効であることが実験的に確認され、そのためのガジットを作製するなどの対応をとった。
- ③ MMV のウェル中での細胞刺激反応とその応答 (形態変化、染色性変化、蛍光変化) を顕微鏡視野で観察・記録する基本的操作法を確立した (Fig. 2)。今後は、高感度系への移植や操作の主要部分をロボット化する検討を始める。
- ④ 操作系については、ナノリットル移送ロボットとして従来のアーム固定方式からアーム可動方式に変更するとともに、顕微鏡モニターを装着し、全体として、操作時間・精度を向上させたものにした。同時に、周辺装置として、PCR 装置を製作した段階である。
- ⑤ 検出系については、MMV ウェル ( $0.6 \mu\text{l}$ ) 中に  $10^6$  GFP 分子存在するとき (数  $10^4$  M) の蛍光を容易に検出する段階にいたり、一方、電気化学的検出については素子の作製プロセスに問題があることが判明したので、プロセスの変更を行うことで素子特性の改善を実現すると共に MMV 化しても素子が壊れない耐久性が得られた。



**Fig. 1 MMV-to-MMV transfer efficiency.**

After 10 times transfer using PC (polycarbonate)-made MMVs, the final recovery was 70 %, meaning that each single transfer efficiency is around 97 %, which is sufficient for the current purpose.



**Fig. 2. View of mammalian cells (HeLa) cultured in a well of MMV.**

The growth of HeLa cells in an MMV well (0.6mm in diameter) is monitored for 48 h (magnification:  $\times 200$ ; above). Below is the fluorescence image of those cells stained with calcein AM.

## 参考文献

- 1) Y. Kinoshita, T. Tayama, K. Kitamura, M. Salimullah, H. Uchida, M. Suzuki, Y. Husimi, and K. Nishigaki Novel concept microarray enabling PCR and multistep reactions through pipette-free aperture-to-aperture parallel transfer. *BMC Biotechnology* **10**, 71 (2010)