

無標識で血球をソーティングする 光学カクロマトグラフィー

アメリカ海軍研究所 (NRL) は、DNA シーケンス属性の予備知識または抗体や蛍光標識付けを必要としない、レーザーベースのオプトフルイデックス法で体液中粒子をソートすることを目指している⁽¹⁾。NRL の研究は、レーザー光が顕微鏡レベルの微粒子と相互作用する時に生じる光学力を利用する。力は、粒子分離を実行する粒子のサイズ、形状、屈折率、あるいはモルフロジーに起因する光圧または光学力の本質的な差異によって変化する。マイクロフルイデックスチップとレーザービームに対向する流体流を利用する無標識の光クロマトグラフィーシステムは、さまざまな血球タイプを識別し、それらのソーティングパラメータを決定するこ

とに成功した。

光クロマトグラフィー

フローサイトメトリーと違って、粒子タイプの光学力分離に基づく光クロマトグラフィーは蛍光または抗体標識を必要としないが、マイクロチャンネル中の粒子に作用する光の力と流体の力のバランスに依存している。レーザーまたは光ビームの運動量の一部を散乱、屈折、または他の粒子相互作用を通して粒子に対して使用するという光学力の概念は、光ピンセット／トラッピングや光リフトなどの技術によって生物医学分野でよく知られている。

フローセルは各々が25.4mmの側長と1mmの厚みを持つ3枚の正方形の

溶融石英プレートから成る。中心プレートはその両側にそれぞれ直径250 μ mのキャピラリースルーホールで接続された250 μ m幅×200 μ m深さの構造を備えている。これらのスルーホールチャンネルが、粒子や細胞をトラップして分析する領域である。チャンネル入口の1mm直径、200 μ m厚みの円形プレートは流体の流れを収束させ、そして350 μ mのポートがフローセルの入口、出口、試料導入の3つの位置に穴あけされている。

3Wの連続波1064nmファイバレーザーは0.5インチ直径、100mm焦点距離のレンズを使って流体流と逆の方向に集光させた。フローセルを5軸ポジションに搭載し、市販の光ファイバ照明

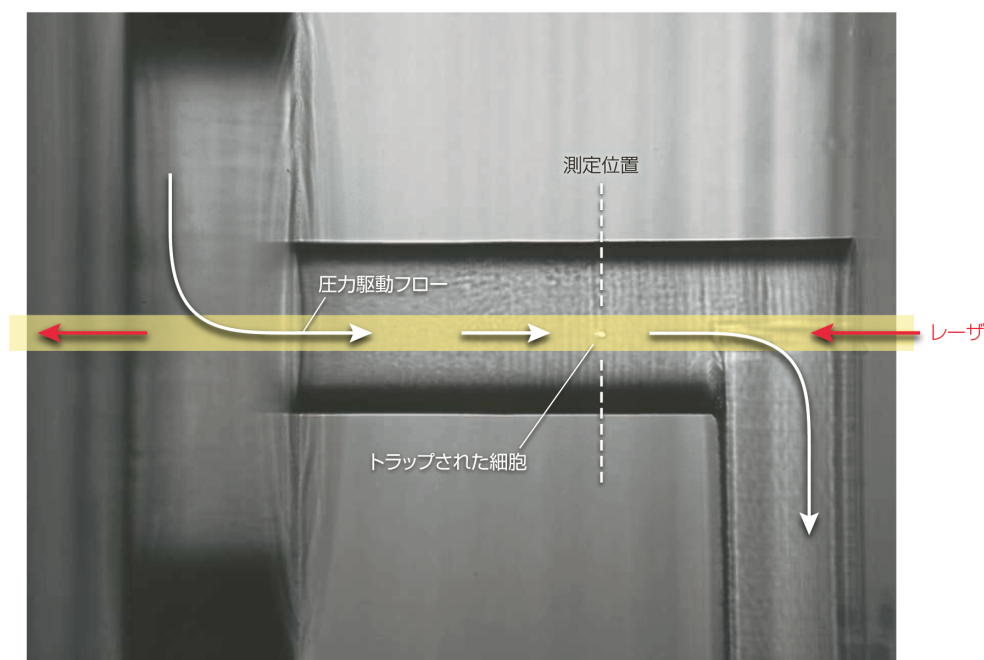


図1 顕微鏡画像は光クロマトグラフィー装置内にトラップされた細胞を示す。細胞は画像の左上から右下へと走る圧力駆動流体流によってチャンネル内に入る。レーザー光を逆方向から入射し、光学力と流体力が釣り合うように流速を調節することによって細胞を測定位置に静止させる。(資料提供:アメリカ海軍研究所)

器で照明し、10X対物鏡によって拡大してからCCDカメラで撮像した。

異なる血球タイプの流体力学と粒子選別動力学を理解するために、10万細胞/mLの濃度に希釈されたリンパ球、単球、顆粒球、赤血球などの純化された画分が、マイクロフルイディックシステムに流入された(図1)。

ソーティングパラメータ

個々の細胞がビーム経路内にトラップされた状態になった時に、それらの細胞が静止するようにシステムの流速を調整する。その結果、流体力と光学力がこの位置で等しくなることにより、各種粒子のトラッピング流速を測定することができる。分析されて、ヒスト

グラムにプロットされた血球成分のトラッピング流速は、公称直径 $8.4\mu\text{m}$ のリンパ球で $196 \pm 34\text{nL}/\text{min}$ 、公称直径 $12.2\mu\text{m}$ の赤血球で $754 \pm 65\text{nL}/\text{min}$ と低かった。しかし、流速は細胞サイズだけによって変化するわけではない。その細胞の屈折率や他のモルフォロジーパラメータも流速差に関与している。

NRLの研究の次のステップは、血球ソーティングパラメータを使って、それらの異なるトラッピング流速に基づいてさまざまな血球タイプの選別を自動的に行える、完全に機能的なオプトフルイディックシステムを設計することだ。NRLの化学研究者であるショーン・J・ハート氏は、「生体細胞タイプ間の光学

力差の鋭敏さは非常に見事であり、このことが試料評価とソーティングに無標識システムを利用する素晴らしい機会を提供する。予備知識(抗体またはDNAプライマー)の必要性を取り除くことで、より高速で、費用効果が高いシステムの開発が可能になるだろう。さらに、新しく、おそらく未知の細胞タイプを識別し、関連母集団からそれをソートすることが可能な機器は、ある意味で現在のシステムでは不可能な科学的発見に大いに役立つだろう」と語っている。(Gail Overton)

参考文献

- (1) S.J. Hart, OSA Frontiers in Optics conference paper FMA1, San Jose, CA (Oct. 17, 2011).

LFWJ

BioOpto Japan 2012 Conference + Exhibition

光+バイオ・医療の専門展
www.optojapan.jp/bio

早期出展申込割引実施中!

締切

2012年 3月30日(金)

*1小間目から10%割引を適用いたします。

Sep. 25 火 - 27 木 10:00-17:00

パシフィコ横浜 Pacifico Yokohama

主催: 株式会社 ICS コンベンションデザイン
Organized by: ICS Convention Design, Inc.

[同時開催]

INTERNATIONAL OPTOELECTRONICS EXHIBITION 2012
InterOpto 2012

LaserTech 2012

LED JAPAN Conference & Expo
Strategies in Light.

展示会についての
お問い合わせ・お申し込み

BioOpto Japan事務局: 株式会社ICSコンベンションデザイン
〒101-8449 東京都千代田区猿樂町1-5-18 千代田ビル
TEL: 03-3219-3643 FAX: 03-3219-3628 e-mail: bioopto@ics-inc.co.jp