

大型細胞塊（100 μ mサイズのスフェロイド） ソーティングを可能にするOn-chip Sort

共同研究：SCIVAXライフサイエンス株式会社

概要

On-chip Sortは、これまでのセルソーターとは異なる特徴を特化させようとしている。元々ダメージフリーを謳い文句にしてきたOn-chip Sortであったが150 μ m幅の専用マイクロ流路チップを使用することで直径100 μ mサイズのスフェロイドの形状を変えることなくソーティングすることに成功した。我々は更にほぼ同一サイズのスフェロイドをソーティングすることにも成功している。

方法

スフェロイドの培養 今回HT29(ヒト結腸腺癌)細胞株をSCIVAXライフサイエンス株式会社の3次元培養技術NanoCulture Plate(NCP-LH96)を用いて5日間培養した。

ソーティング On-chip Sortを用いて、大きさに基づく(FSCとSSC)情報を元にソーティングを実施した。シース液には培養液を使用し目的細胞をソーティングした。ソーティングチップは150 μ m流路幅チップ(On-chip biotechnologies Co., Ltd.)を用いた。

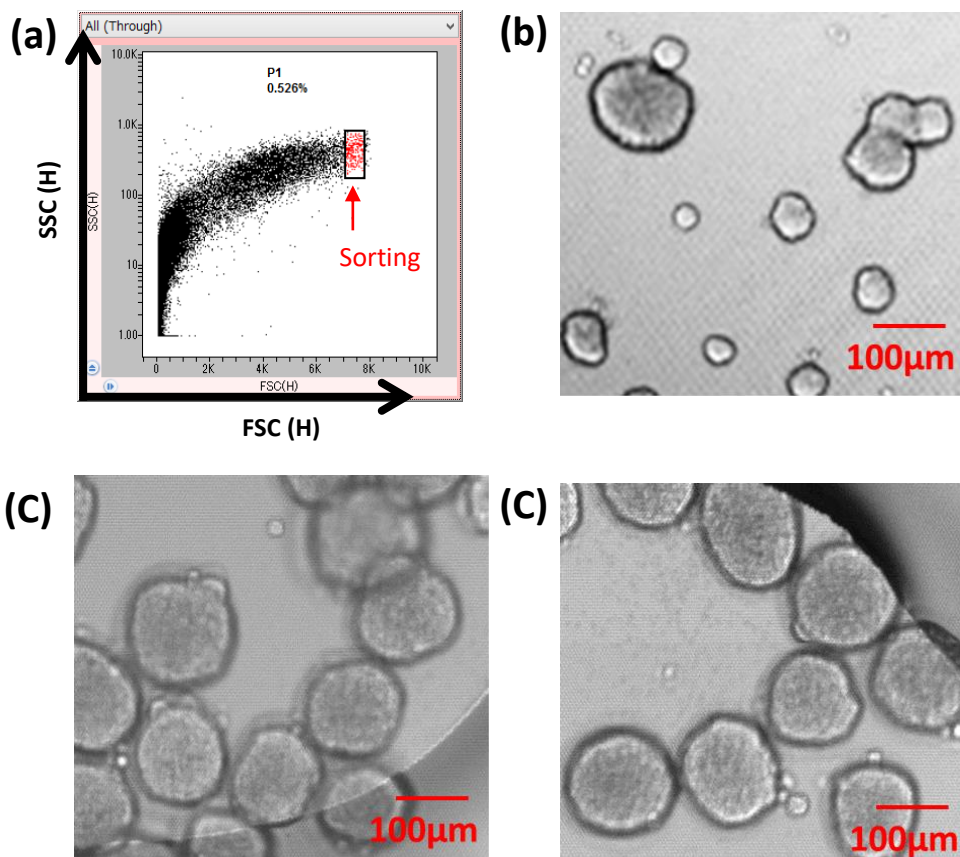


図1 培養後のスフェロイドサイズ不均一性とOn-chip Sortにおけるソーティング後の均一性 (a)培養したHT29細胞株をOn-chip SortのFSC(H)とSSC(H)の2Dプロットで解析し、最大サイズと思われる100 μ mサイズ付近(矢印の赤の部分)をソーティングした。(b)ソーティング前のスフェロイドの写真。(c)On-chip Sortによるソーティング直後のスフェロイドの写真。

On-chip Sortを用いたソーティングにより100 μ mクラスのスフェロイドをそのままの形状で回収する

5日間培養し最大約100 μ mサイズの細胞塊(スフェロイド)を作製した(図1 b)。しかし、単に培養しただけでは目的と異なるサイズのスフェロイドも多く含まれる(図1 a,b)。そのため、On-chip Sortを用いて100 μ mサイズ付近のスフェロイドのみ回収することを試みた。FSCの強度は細胞サイズと正比例する。そこで今回顕微鏡で確認した最大サイズ(=ほぼ100 μ mであろう)集団をソーティングした。その結果、ほぼ100 μ m前後の同サイズのスフェロイドが回収できることがわかった(図1 c)。現150 μ m流路幅のチップでは100 μ mサイズのソーティングが限界かと思われる。しかし前回45 μ mを回収し100 μ mまで再培養することで同サイズの培養に成功している。本方法を用いることで今回100 μ mサイズをソーティング後に再培養することで200~300 μ mの均一スフェロイドをも作製できる可能性が高いことが示唆された。