



# On-chip® Droplet Generator

安定・均一なドロップレットを簡単作製



株式会社オンチップ・バイオテクノロジーズ

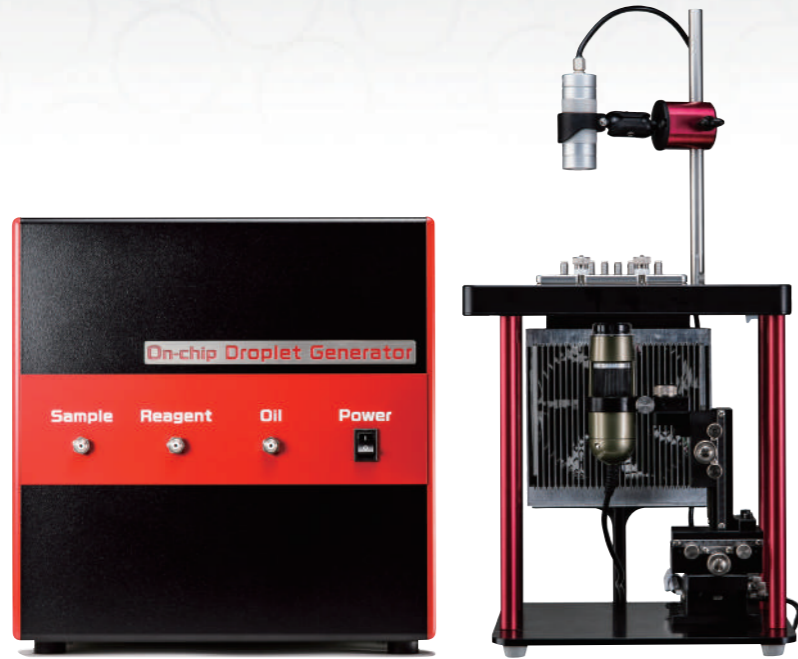
〒184-0012 東京都小金井市中町2丁目16-17

TEL.042-385-0461 FAX.042-385-0462

ONCHIP-02B-J005



# 微小な水滴が作り出す培養環境 On-chip® Droplet Generator



On-chip® Droplet Generator は独自のマイクロ流路チップを用いて、油中に直径数十μmの水滴“ドロップレット”を簡単に大量作製できる装置です。油中水滴などのドロップレットは、その1つ1つが小さな反応系として微生物・細胞の培養、遺伝子解析分野において活用されています。

ドロップレット技術は、シングルセル解析や100万サンプルを超える同時並行アッセイが容易に実現可能なことからハイスループットスクリーニング (HTS) 手法として注目されています。

## On-chip® Droplet Generatorで広がる研究分野

- 環境中から新規微生物の探索  
土壌、腸内フローラ、海洋に存在する多様な微生物を封入・培養・単離
- 高生産株を迅速に樹立  
ドロップレット内に分泌される酵素や代謝物の検出・分離
- 抗体産生細胞のスクリーニング  
安定かつ生産性の高い抗体産生細胞株を取得

## On-chip® Droplet Generatorの特徴

■ シンプルな操作で安定したドロップレットを作製  
各リザーバーに試薬を入れて加圧するだけで、安定かつ均一サイズのドロップレットを大量に作製することができます。

■ 作製したいサイズに応じて3種類のチップを選択

- 2D Chip-800DG : 直径20-40 μm
- 2D Chip-1060DG: 直径60-120 μm
- 2D Chip-1100DG: 直径90-220 μm

※作製圧力やサンプルの組成で作製可能サイズは変動します。

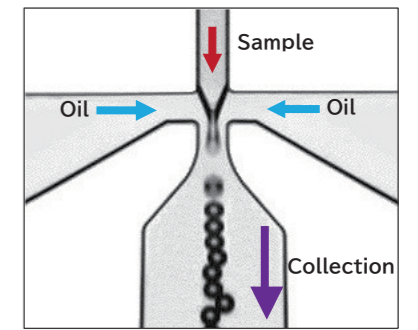
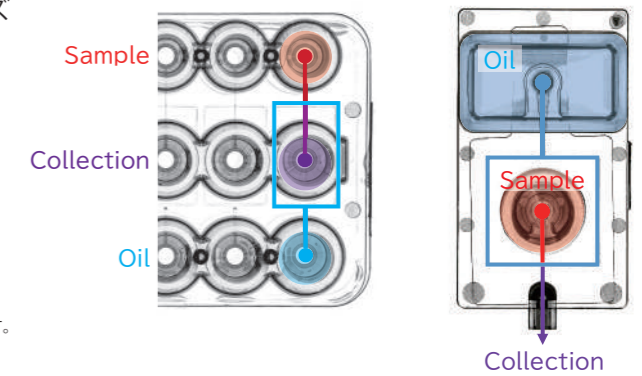
■ 容易な圧力制御でサイズ調整

サンプルやオイルにかかる圧力の制御により、ドロップレットサイズを調整可能です。

■ 観察ユニットで作製中のドロップレットの観察可能

付属の観察ユニットを使用することで、作製後のドロップレットの観察ができます。

小スケール作製用 8 連チップ 2D chip-800DG  
大スケール作製用 1 連チップ 2D chip-1060DG & 1100DG



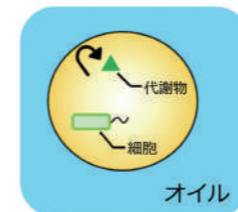
マイクロ流路構造

## 作製ドロップレットの種類を選択

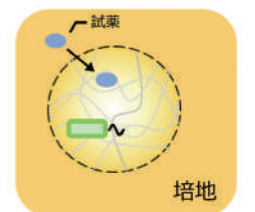
On-chip® Droplet Generatorは”W/Oドロップレット”と“GMD”の二種類のドロップレットを作製可能

### 【W/Oドロップレット】

オイル中に水溶液のドロップレットが分散した  
Water-in-Oil型 (W/O) のエマルジョン

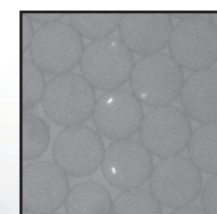


- ~1,000万ドロップレット ◀ 作製数 ▶ ~1,000万ドロップレット
- 液体 (培地等) ◀ 内部の状態 ▶ 固体 (アガロース、ゼラチン等)
- 内部に保持 (極性に依存) ◀ 内外の物質移動 ▶ 外液の試薬等は、内部に浸透
- 環境微生物スクリーニングなど ◀ 用途 ▶ 変異株スクリーニングなど

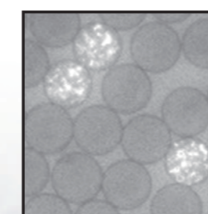


### 【ゲルマイクロドロップ: GMD】

ゲルで固めたドロップレットが  
水溶液中に分散



封入直後

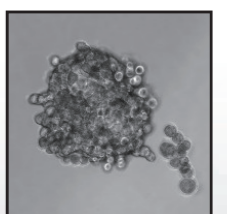


培養後

大腸菌



封入直後

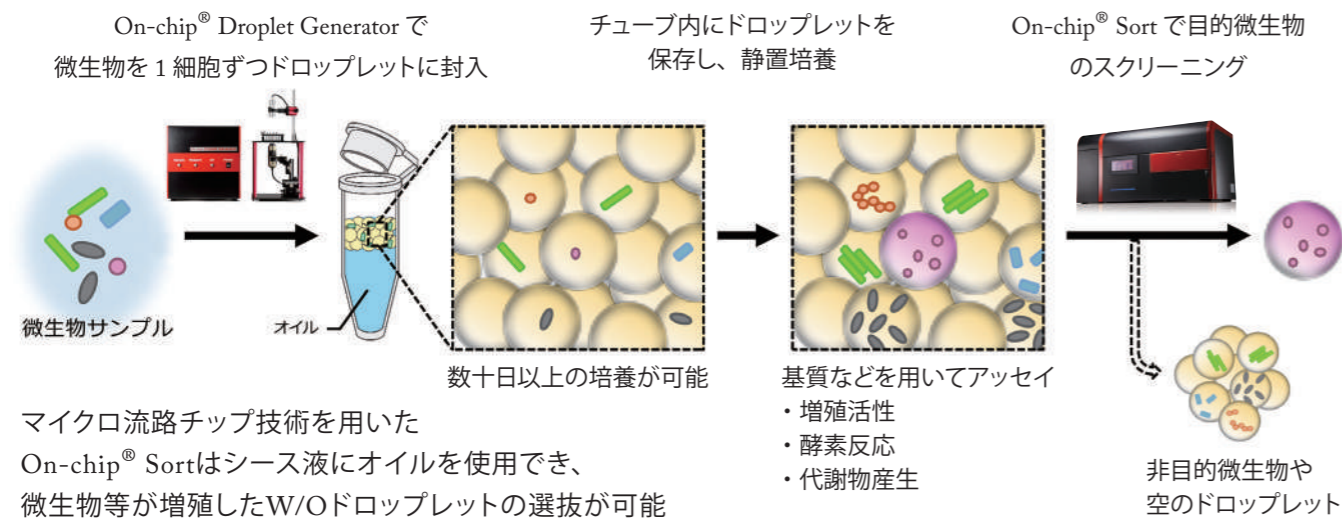


培養後

肺がん由来細胞株

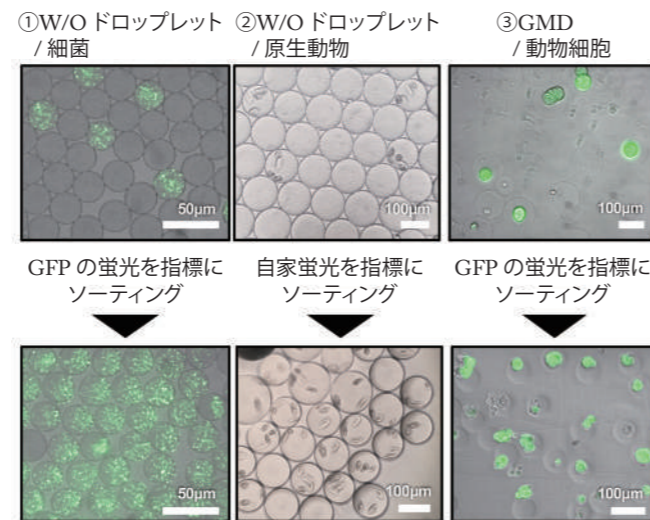


## On-chip<sup>®</sup> Droplet Generator と On-chip<sup>®</sup> Sort の活用



## 細胞増殖ドロップレットのソーティング

- ① W/O ドロップレットに封入・培養した大腸菌を、GFP (菌体内発現) の蛍光を指標にソーティング
- ② W/O ドロップレットに封入・培養したテトラヒメナを、自家蛍光を指標にソーティング
- ③ GMD に封入・培養した A549 細胞株を、GFP (細胞内発現) の蛍光を指標にソーティング



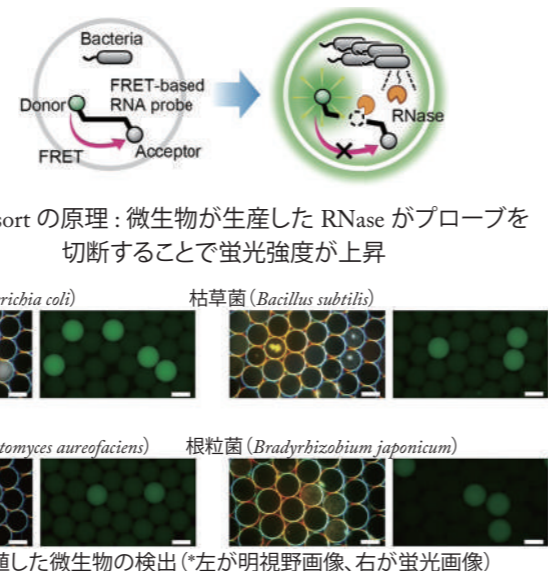
- ▶ On-chip<sup>®</sup> Sort で W/O ドロップレットを用いたスクリーニングが可能
- ▶ 100 μm 級の GMD もソーティング可能

## W/O ドロップレットで増殖した微生物の検出

ドロップレットで増殖した微生物を検出・ソーティングする FNAP-sort (Fluorescent Nucleic Acid Probe in droplets for sorting bacteria) システムを (国研) 産業技術総合研究所と共同開発した。

モデル微生物として大腸菌、枯草菌、放線菌、根粒菌を培養した例では、増殖したドロップレット内部での蛍光強度の上昇が確認された。

本システムを用いることで環境等から増殖活性に基づくスクリーニングが可能となる。



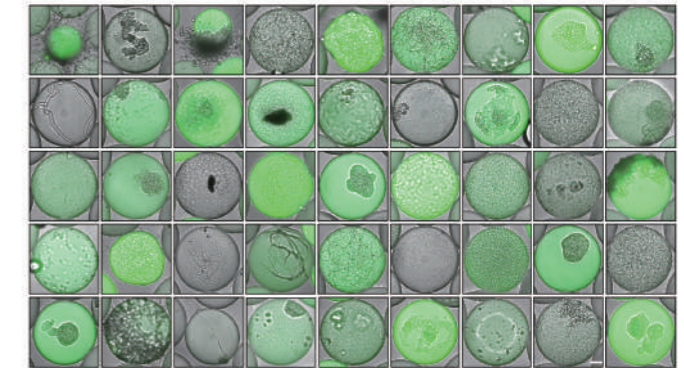
- ▶ 増殖を簡便に検出可能なシステムの開発
- ▶ 増殖が遅い難培養微生物などのスクリーニングへの応用

Collaboration with Research Group Leader Noda, AIST, Biomedical Research Institute Ota, Y., Saito, K. et al. PLoS ONE 14(4): e0214533. Under the licence of Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 土壌環境から酵素の高生産微生物をスクリーニング

土壌から採取した微生物を酵素(ペプチダーゼ)に反応する基質とともに W/O ドロップレットに封入・培養した。On-chip<sup>®</sup> Sort を用いて 100 万ドロップレットを解析し、酵素活性に基づく蛍光強度が特に高いドロップレットをソーティングし、寒天培地に単離した。形成したコロニーに対して再培養による上清のアッセイを実施した。

最終的に、On-chip<sup>®</sup> Droplet Generator と On-chip<sup>®</sup> Sort を用いて、新規のペプチダーゼ高生産微生物を単離することに成功した。



環境微生物の W/O ドロップレット培養と蛍光強度の評価

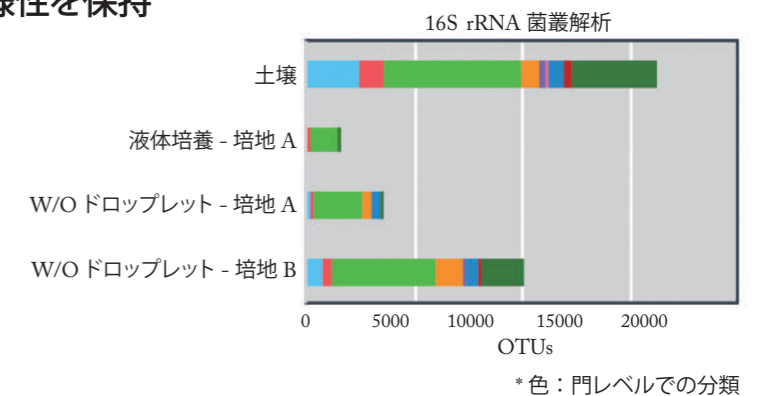
- ▶ W/O ドロップレットを用いることで、数時間で 100 万検体の環境微生物スクリーニングが可能
- ▶ 微生物の多様な増殖形態と酵素活性を評価可能

Collaboration with Prof. Ogasawara, Nagaoka University of Technology

## W/O ドロップレット培養は環境中の多様性を保持

土壌細菌を W/O ドロップレットおよび試験管を用いた液体培地により 7 日間培養した。その後、DNA を抽出し、Next Generation Sequencing (NGS) により菌叢を解析した。

W/O ドロップレット培養においては土壌の菌叢が比較的保存されていることが分かった。それぞれの OTU 数 (Operational Taxonomic Unit) を比較すると、W/O ドロップレット培養は液体培養の約 2 倍である。



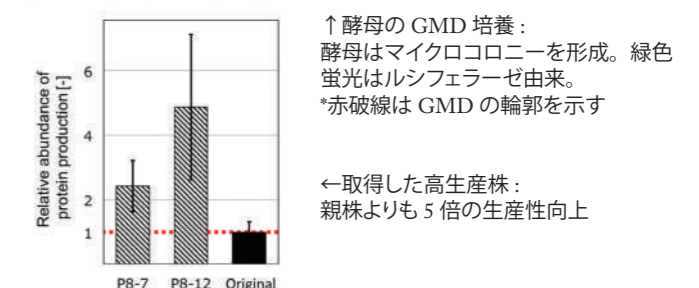
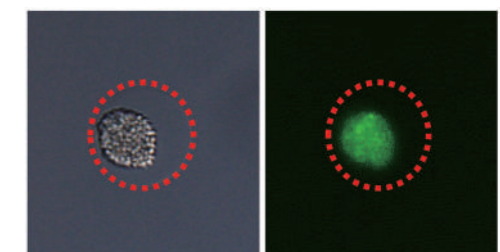
- ▶ W/O ドロップレット培養は、従来の培養手法よりも多様な土壌細菌を培養可能であることが示唆
- ▶ ドロップレット 1 つ 1 つに細菌を区画化することで、多様な微生物を培養可能

Collaboration with Assoc. Prof. Tashiro, Kyusyu University

## GMD によるタンパク質高分泌酵母のスクリーニング

分泌性ルシフェラーゼを生産する形質転換体の酵母へ UV 照射によるランダム変異を加え、GMD に封入・培養した。ルシフェラーゼ由来蛍光強度が高い GMD を On-chip<sup>®</sup> Sort を用いてソーティングし、寒天培地に単離した。形成したコロニーに対して再培養による上清のアッセイを実施した。

スクリーニングの結果、親株よりも生産能が向上した株を効率的に取得することに成功した。

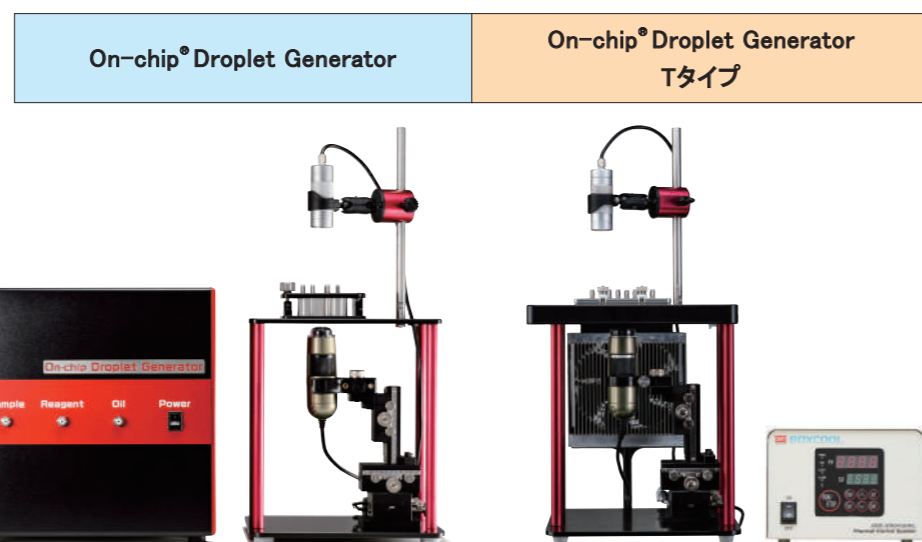


- ▶ 10<sup>5</sup> 個の UV 変異酵母から親株より最大 5 倍の生産性が向上した株を取得
- ▶ GMD を用いることで従来の手法よりも短時間 (2 日以内) ・低コストを実現

Collaboration with Prof. Machida, Kanazawa Institute of Technology Fujitani, H., et al. 2019. bioRxiv 830596; doi: <https://doi.org/10.1101/830596> Under the licence of Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



◆安定した圧力供給装置と作製の様子を観察できるユニット◆



\*GMDを作製する場合は  
温調観察ユニットが必要になります。

仕様		On-chip® Droplet Generator	On-chip® Droplet Generator Tタイプ
本体	サイズ	270 x 270 x 280 mm (W x D x H)	
	送液圧力	0.1 - 80.0 kPa	
	最大送液系統	3系統 (サンプル、オイル、他試薬)	
	制御	ノートPC (Windows10)	
	電源入力	AC 100-240V, 50/60Hz	
	消費電力	1.2A typ (ACIN 100V)	
観察ユニット	観察ユニットのサイズ	195 x 195 x 420 mm (W x D x H)	215 x 310 x 430 mm (W x D x H)
	付属品	観察用カメラ	観察用カメラ、ペルチェユニット、コントローラ
	温度設定範囲	—	-5°C - 70°C
	使用周囲環境	—	温度5°C - 40°C 湿度85%RH以下
	電源入力	—	DC24V
	消費電力	—	7.1A max

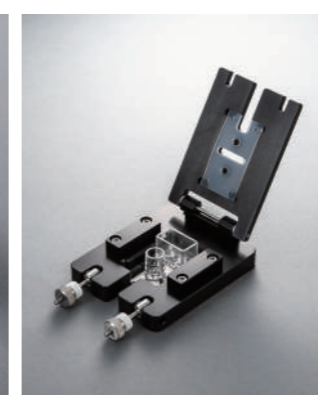
製品番号	製品名	仕様概要
60001	On-chip® Droplet Generator ホルダーAセット	本体、観察ユニット、DG8チップホルダー
60002	On-chip® Droplet Generator Tタイプ ホルダーAセット	本体、温調観察ユニット、DG8チップホルダー
60681	On-chip® Droplet Generator ホルダーABセット	本体、観察ユニット、DG8チップホルダー、DG1チップホルダー
60682	On-chip® Droplet Generator Tタイプ ホルダーABセット	本体、温調観察ユニット、DG8チップホルダー、DG1チップホルダー
61001	Droplet Generator temperature control unit	温調観察ユニット

◆マイクロ流路チップを用いて、安定なドロップレットをシンプルに大量作製◆

仕様	2D chip-800DG	2D chip-1060DG	2D chip-1100DG
適応サンプル	水溶液、培養液、ゲル溶液など		
適応オイル	フッ素系オイル		
チップ素材	樹脂 (COP)		
流路サイズ (幅x高さ)	30 μm x 30 μm	60 μm x 60 μm	100 μm x 100 μm
作製数	約 5,000,000個 (直径30 μm、5分、8連使用)	約 1,000,000個 (直径80 μm、5分)	約 400,000個 (直径120 μm、5分)
リザーバー容量	サンプル最大200 μL オイル最大200 μL	サンプル最大640 μL オイル最大2,300 μL	
作製ドロップレットの回収	回収リザーバーに溜まる	1.5 mLチューブに直接回収	
適応チップホルダー	DG8 Chip Holder	DG1 Chip Holder	



DG8 Chip Holder  
800DGチップ対応



DG1 Chip Holder  
1060DG & 1100DGチップ対応

製品番号	製品名	製品概要	包装単位
63005	DG8 Chip Holder	専用8連チップホルダー	1個
63007	DG1 Chip Holder	専用1連チップホルダー、バイアル瓶、チューブラック	1個
1003002	2D chip-800DG	ドロップレット作製用チップ (流路幅 30 μm)	10 chips/箱
1003003	2D chip-1060DG	ドロップレット作製用チップ (流路幅 60 μm)	10 chips/箱
1003004	2D chip-1100DG	ドロップレット作製用チップ (流路幅 100 μm)	10 chips/箱

お客様の用途に応じたカスタマイズチップをご用意することも可能です。

Reagent

◆安定なドロップレットの作製に優れたフッ素系オイル◆

New!



オンチップ・バイオテクノロジーズの  
オリジナルドロップレット作製オイル  
(製品番号 2003003, 2003004)

製品番号	製品名	製品概要	容量
2003001	008-FluoroSurfactant-5wtH-10mL	5%の界面活性剤を含むフッ素系オイル	10 mL
2003002	008-FluoroSurfactant-0.1wtH-100mL	0.1%の界面活性剤を含むフッ素系オイル	100 mL
2003003	On-chip® FluoroSurfactant-5wtH Oil	5%の界面活性剤を含むフッ素系オイル	10 mL
2003004	On-chip® FluoroSurfactant-0.1wtH Oil	0.1%の界面活性剤を含むフッ素系オイル	100 mL

お問い合わせ

株式会社 オンチップ・バイオテクノロジーズ

Phone: 042-385-0461 Fax: 042-385-0462

E-mail: info@on-chip.co.jp Home page: https://on-chip.co.jp/

