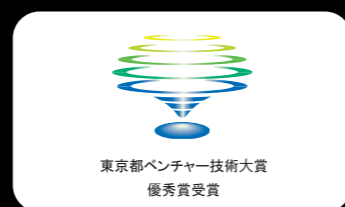




**M**icrofluidic chip-based cell sorter

## On-chip<sup>®</sup> Sort

世界初のマイクロ流路型セルソーター  
～ドロップレット・細胞を分離～



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-01B-J005



## 研究から産業まで、イノベーションの実現に貢献 On-chip® Sort



On-chip® Sortは、世界初の交換型マイクロ流路チップ・セルソーターです。  
マイクロ流路技術の活用により、最先端の生命科学研究に留まらず、  
様々な産業へ価値を提供し続けます。

オンチップ・バイオテクノロジーはその普及を通じて、  
以下の分野でのイノベーションと、持続的可能な社会の実現に取り組んでいます。



当社の製品群を用いて：



2 飢餓をゼロに  
低環境負荷の農業、土壌改良等の開発が行われています。



6 安全な水とトイレを世界中に  
微生物による環境浄化の開発が行われています。

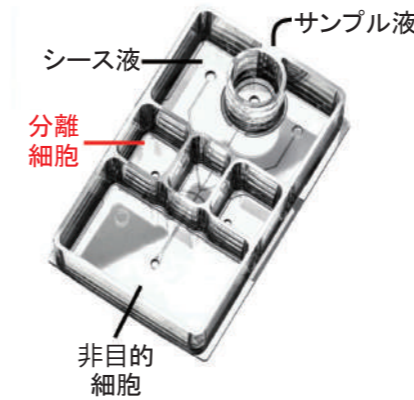


7 再生可能エネルギーを普及させる  
バイオ燃料の開発が行われています。



9 産業と技術革新の基盤をつくろう  
最先端の診断技術開発および細胞研究が行われています。

### On-chip® Sortのマイクロ流路チップ技術がセルソーターの常識を覆す



マイクロ流路チップに、サンプルの検出、分離、回収の工程を集約したことで小型化・簡便操作を実現しました。本システムは、細菌から比較的巨大的な細胞塊に加え、ドロプレット(オイル中の微小液滴)など幅広いサンプルの解析に貢献します。

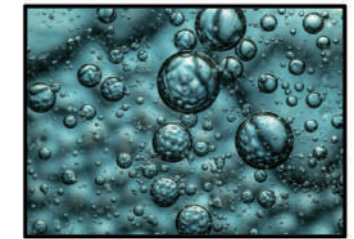
特に、ドロプレットはピコリットアスケールにて膨大な数の微生物を培養・スクリーニングできる注目の技術です。従来のセルソーターでは不可能だったドロプレットの分離を我々のマイクロ流路技術により可能にしました。

これまでのセルソーターとは全く異なる原理で動作するOn-chip® Sortはサンプル解析の幅を広げ、研究・産業分野で活躍する皆様に貢献していきます。

#### マイクロ流路チップ

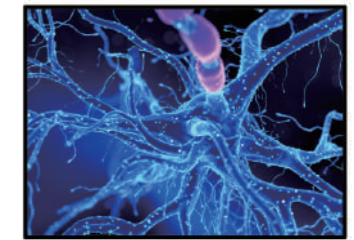
- 微生物/細胞の探索エンジンとして

ドロプレットを用いた環境微生物・抗体産生細胞・変異株のスクリーニング



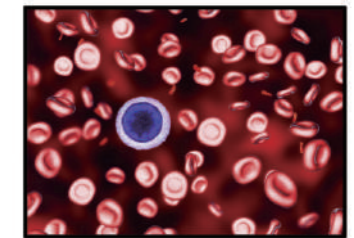
- 広がる細胞解析の領域

ストレスや物理的衝撃に弱い細胞をダメージなしで分離



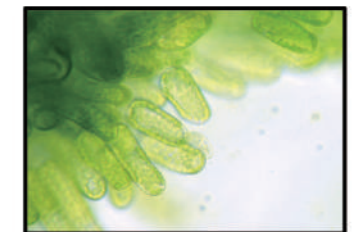
- 短時間でレア細胞を発掘

10°個に10個しか存在しないレア細胞も確実に濃縮



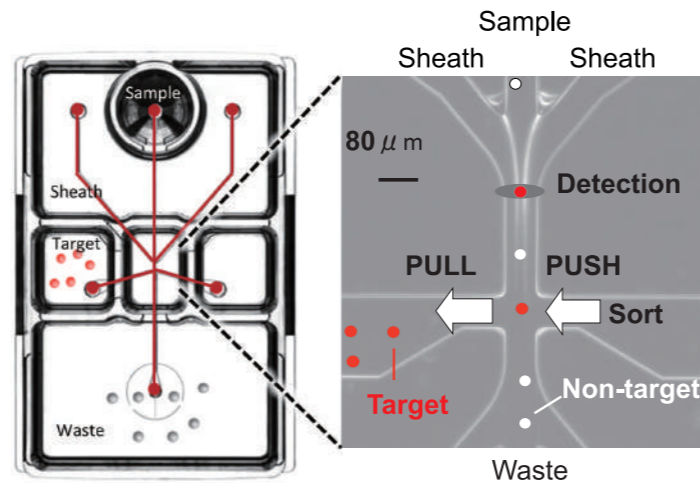
- サンプルサイズ・指定シース液の縛りから開放

100 μm超の細胞の解析/  
サンプルに合わせた自由なシース液の選択



## 解析・ソーティングをマイクロ流路チップでオールインワン処理

- On-chip Sortシステムは、5.5 cm×4.0 cmの小型マイクロ流路チップに、サンプルの解析から分離までの全工程を集約
- 従来のセルソーターとの原理と全く異なりOn-chip® SortのFlowshift方式では、サンプルを空気圧制御によりマイクロ流路中を移動せることで目的サンプルをソーティング  
(特許5857357, 特許6031178)

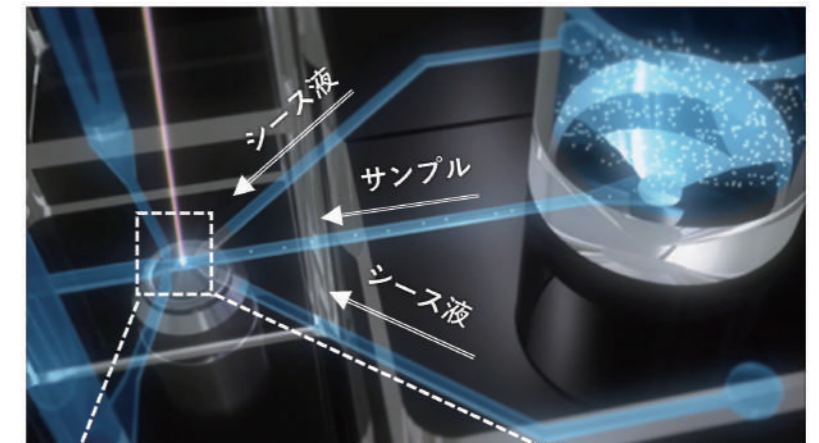


## 精密な流体制御・サンプルとシース液の幅広い選択

- 空気圧により、マイクロ流路の流れを制御した分離方法を採用
- 培養液やオイル等をシース液に選択することで幅広いサンプルの解析が可能

サンプルの例  
 ・動物細胞  
 ・植物細胞  
 ・原生生物  
 ・細菌／真菌  
 ・ドロップレット

シース液の例  
 ・培養液  
 ・等張液  
 ・海水／淡水  
 ・オイル  
 ・粘性の高い培地



## 簡単操作・メンテナンスフリー

- 待ち時間不要で簡便な操作性を追求したワークフローを提供
- 煩雑な装置の洗浄を必要としないメンテナンスフリーを実現



チップを用意 →ホルダーにセット → 試薬を充填 → 装置に設置 → ソーティング・アッセイ → **5分で完了**

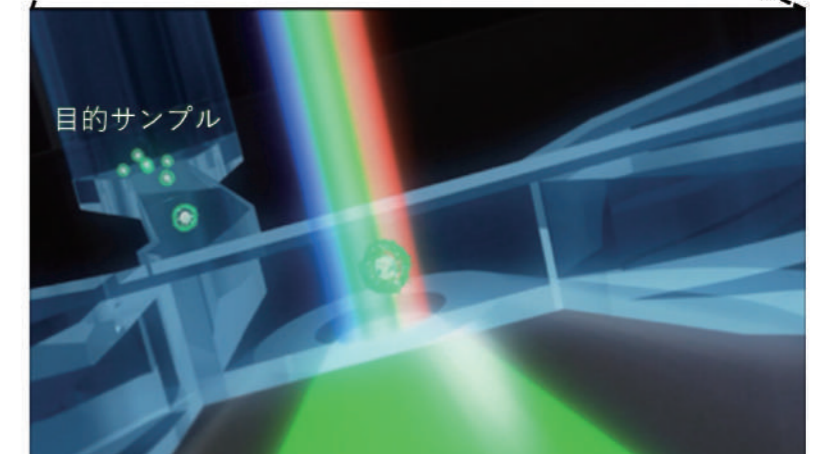
## 小型化・コンタミネーションフリー

- 装置の小型化により、安全キャビネット内に設置することが可能
- 使い捨てのマイクロ流路チップの使用により、コンタミネーションの心配なし

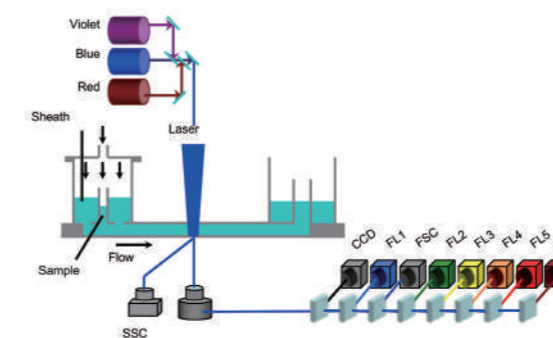
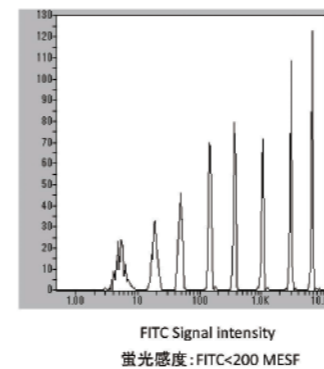


## 光学系技術

- マイクロ流路チップの上部から最大3波長のレーザーが、マイクロ流路を流れるサンプルに照射
- 蛍光は、最大6種類の検出器 (FL) により広範囲・高感度の検出
- 散乱光は、サンプル粒子の大きさの指標である前方散乱光 (FSC) と内部構造の複雑さの指標である側方散乱光 (SSC) を取得。マイクロ流路チップでのSSC取得は当社の独自技術 (特許5382852)



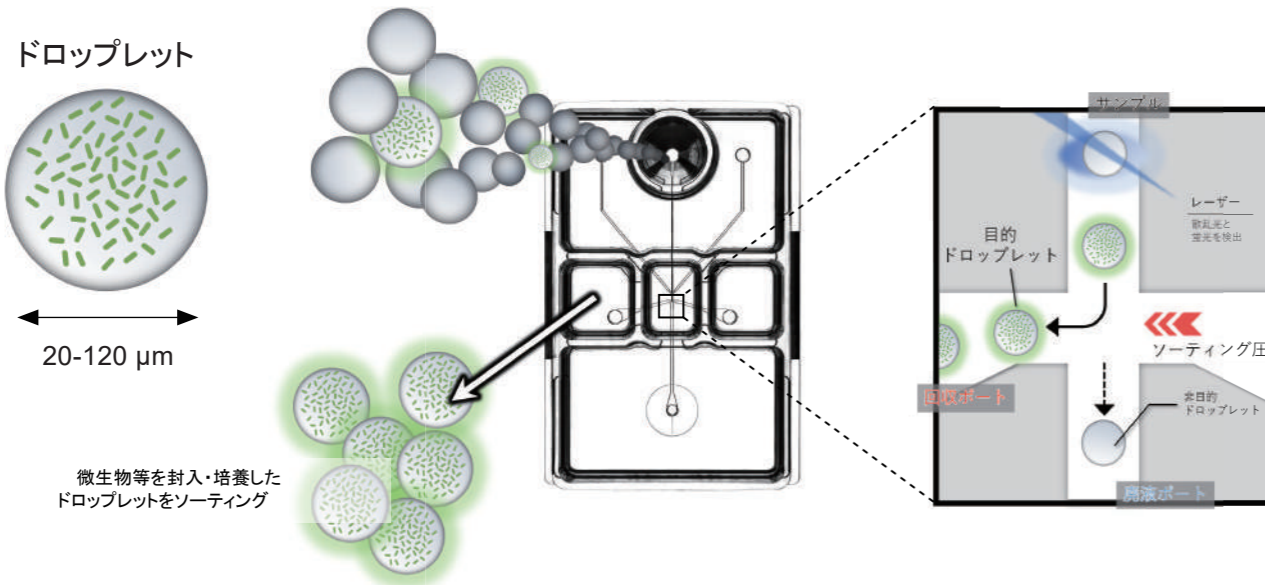
Sample : Rainbow calibration particles (8 peaks)



- 検出系
- ・FL1 : 445/20 nm
  - ・FL2 : 543/22 nm
  - ・FL3 : 591.5/43 nm (緑レーザー使用時607/36 nm)
  - ・FL4 : 676/37 nm
  - ・FL5 : 716/40 nm
  - ・FL6 : 775/46 nm
  - ・FSC : 前方散乱光
  - ・SSC : 側方散乱光

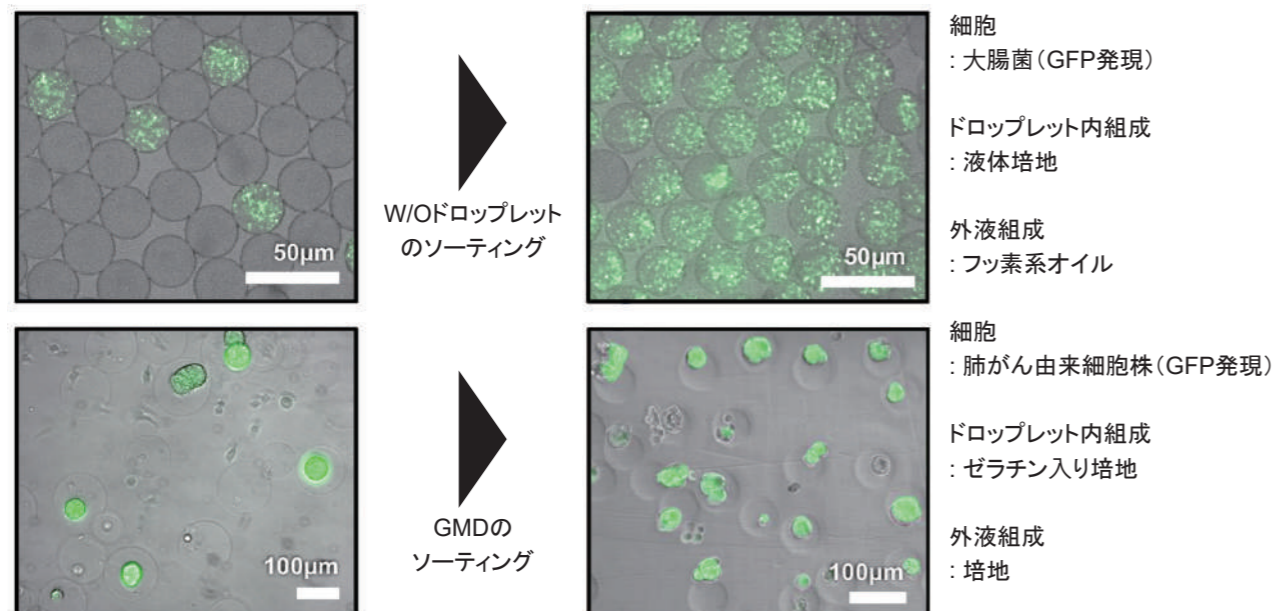
# アプリケーション1 / 細胞を封入したドロプレットのソーティング

- On-chip® Sortは、オイル中に分散した液滴である”ドロプレット”のソーティングを世界で初めて実現
- ドロプレットとは直径数十μmの微小な液滴であり、W/Oドロプレット(Water-in-Oil : 油中液滴)や、液滴がゲルで固まったGMD (Gel Micro Drop : ゲルマイクロドロップ)を指す。当社開発のOn-chip® Droplet Generatorで作製可能であり、微生物のシングルセル解析や培養などに利用



## ドロプレットのソーティング例

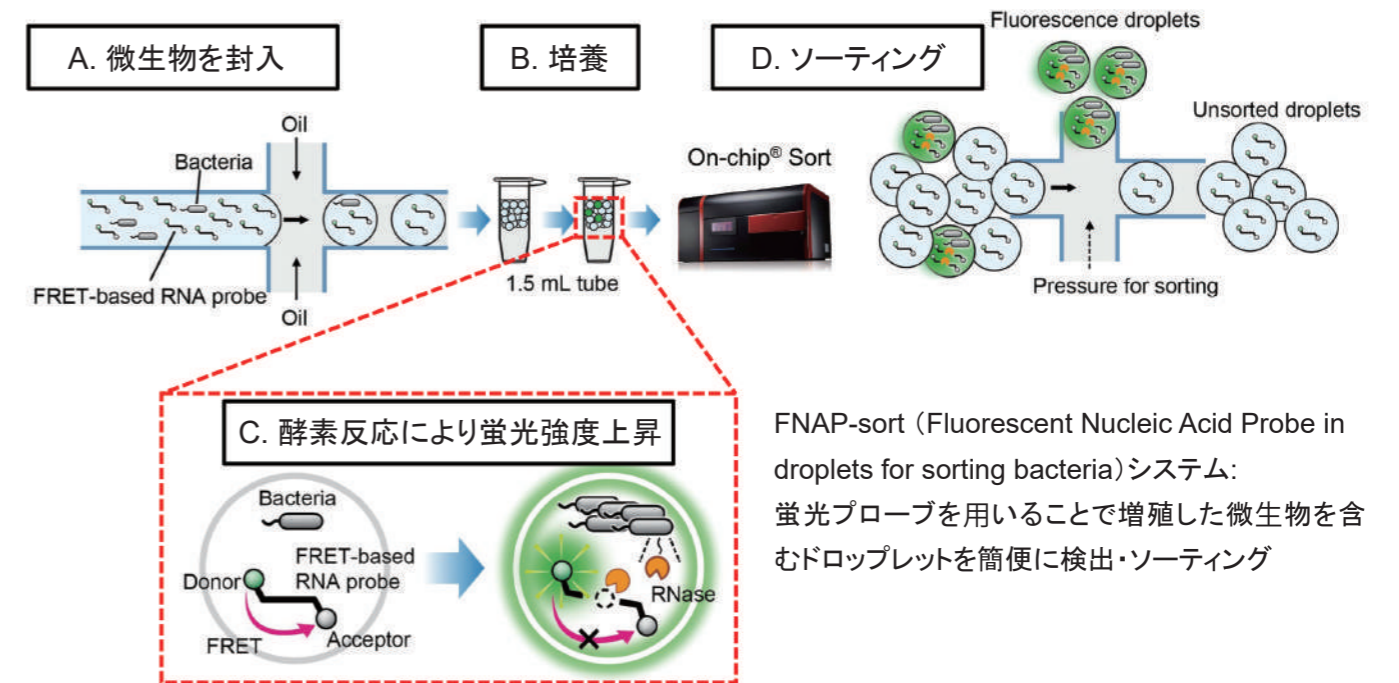
ドロプレット内部に封入された単一細胞を培養後、蛍光強度に基づきソーティングすることで、細胞が増殖したドロプレットのみを選択的にソーティングできる。



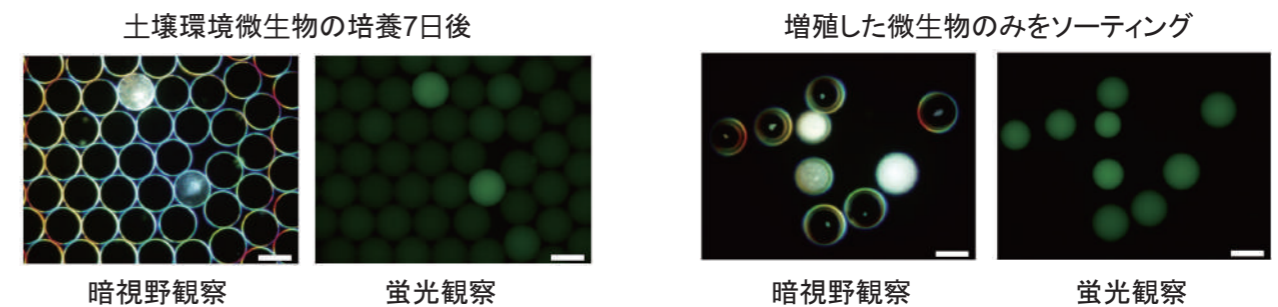
## 蛍光核酸プローブを用いた環境微生物のスクリーニング

On-chip® Sortを用いたドロプレットの高速解析・ソーティングにより、環境中の目的酵素を生産する微生物や未培養微生物、人工的に変異導入した株などのスクリーニング系が構築できる。

W/O ドロプレットに蛍光プローブと環境微生物を1細胞ずつ封入し、培養する。大量のドロプレットにシングルセルで区画化することで増殖速度の異なる多様な微生物が淘汰されることなく長期間培養および蛍光プローブを指標にスクリーニングできる。

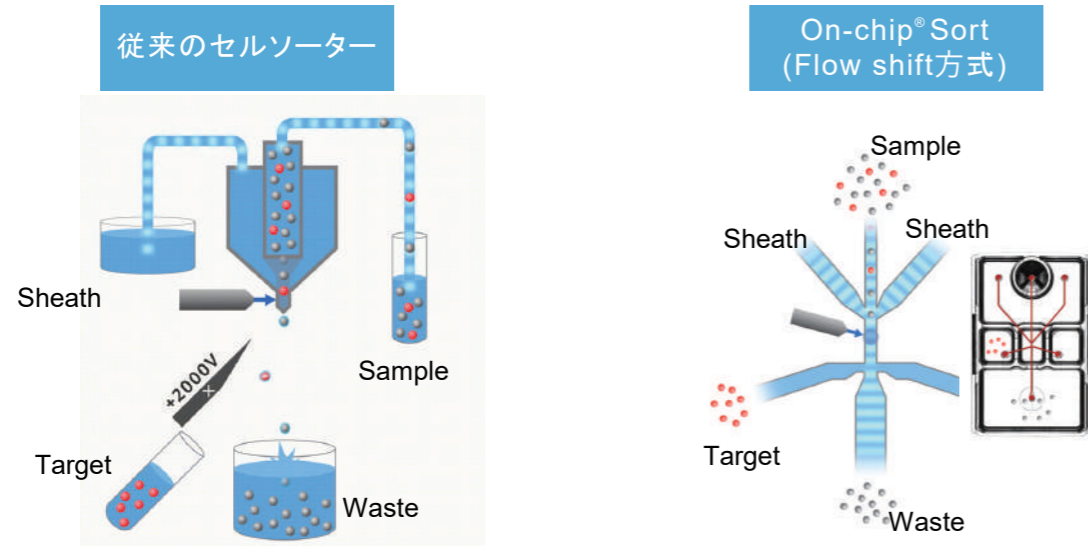


FNAP-sort (Fluorescent Nucleic Acid Probe in droplets for sorting bacteria)システム:  
蛍光プローブを用いることで増殖した微生物を含むドロプレットを簡単に検出・ソーティング



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/>).

- On-chip® Sortによるソーティングは、細胞増殖能や形態変化、遺伝子発現への影響が少ないことから、細胞へのダメージが少ないことが実証されている
- マイクロ流路を用いたソーティング原理が、従来のセルソーターで発生していた高い圧力差や浸透圧などの細胞ダメージを大きく軽減



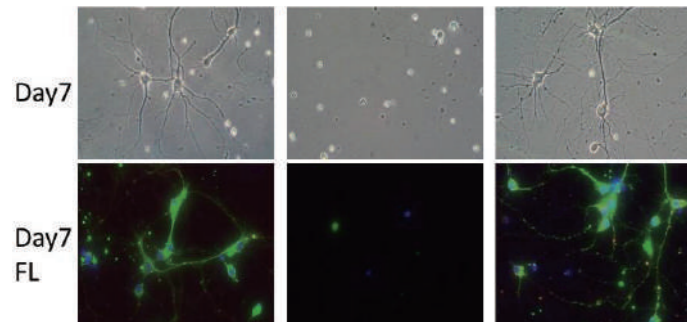
### ダメージ要素

指定 ×	シース液	○ 自由
高い(5 - 100 PSI) ×	圧力	○ 低い(1.3 PSI)
液滴作製時に発生 ×	超音波	○ なし
高電圧(細胞に電荷) ×	電荷	○ なし
回収ポートに衝突(時速40km/h) ×	衝突	○ なし

### ソーティング方法の違いによる表現型への影響

#### 【生育への影響】

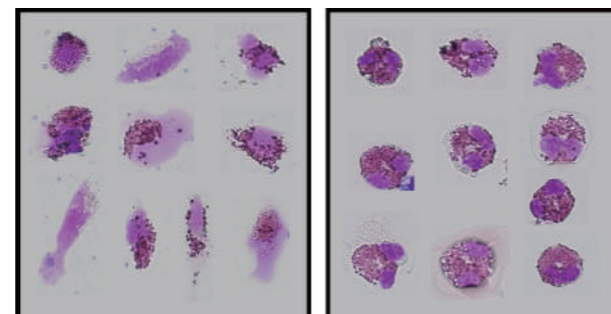
ストレスに弱い海馬神経細胞をソーティング・培養



Day7  
Day7 FL  
ソーティングなし 従来のセルソーター On-chip® Sort  
× 死滅 ○ 生育

#### 【形態への影響】

末梢血中の好酸球細胞のソーティング後の様子を観察



従来のセルソーター On-chip® Sort  
× 破裂 ○ 形態を保持

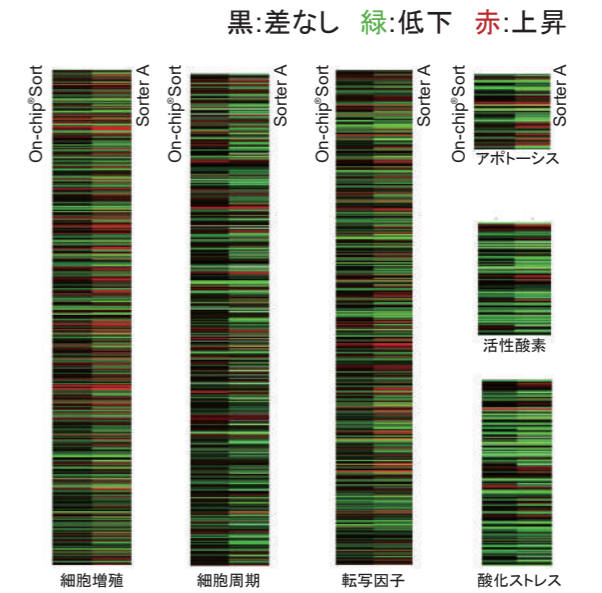
### ソーティングによる遺伝子変化の評価

On-chip® Sortおよび従来方式のセルソーターを用いて細胞をソーティング後、遺伝子発現量の変化を調査。

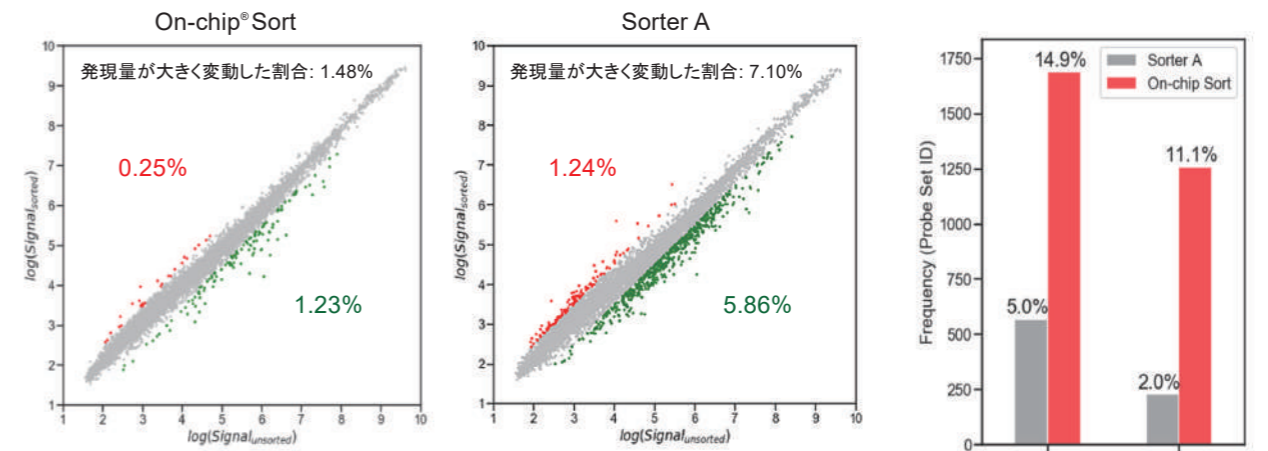
生育に影響する「細胞増殖」や「アポトーシス」などの遺伝子について、On-chip® Sortでソーティングしたほうが遺伝子変化量が小さいことが明らかになった。

また、解析した全データに対して、発現パターンが大きく変わった遺伝子数は、従来のセルソーターに比較して1/5程度であった。

以上のことからソーティング方法の違いが、ストレスとして細胞に影響を与える可能性が示唆された。



生育に関わる遺伝子発現量変化は On-chip® Sortの方が少ない



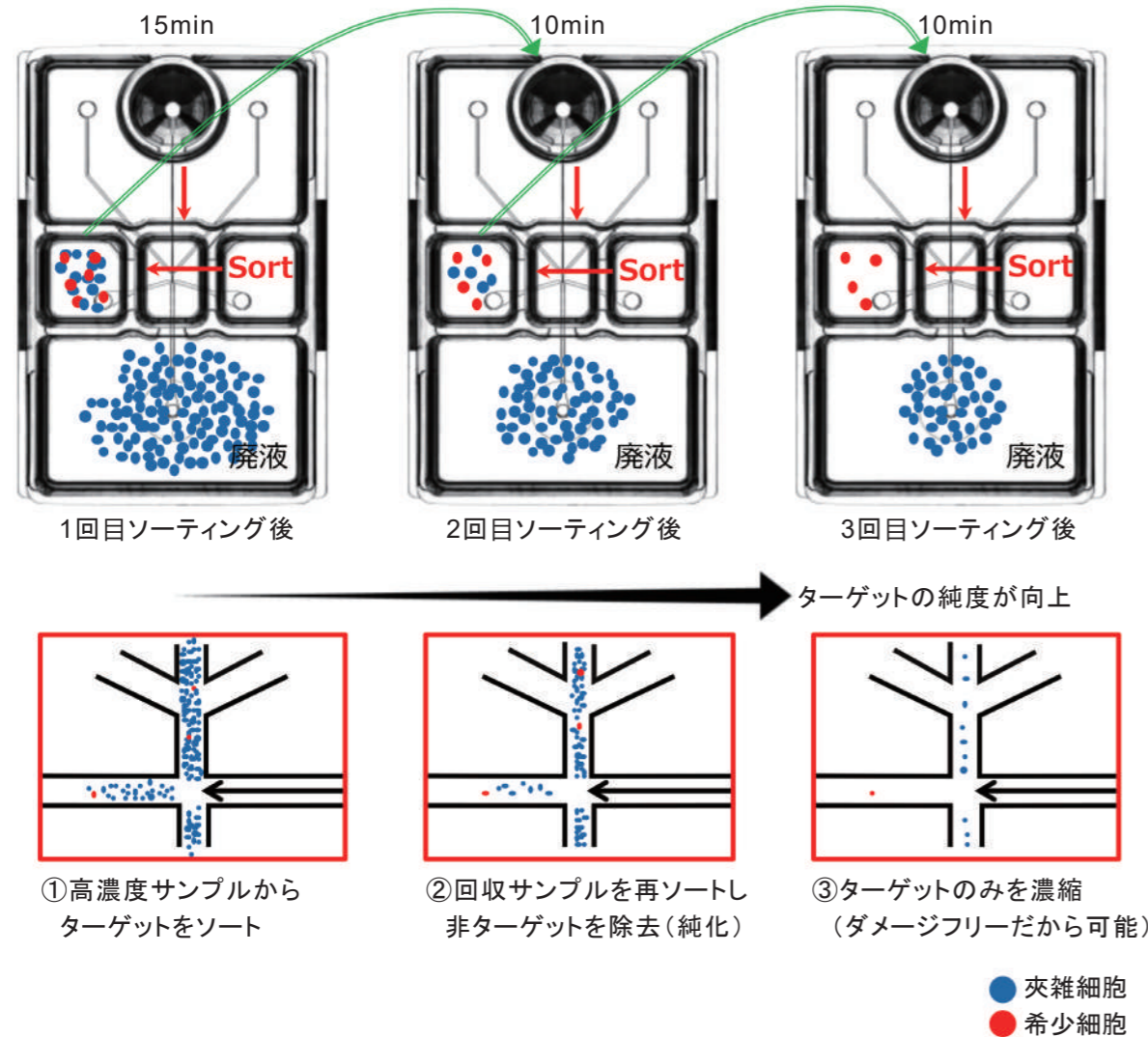
全データに対して、ソーティング無しと比較したときの遺伝子発現変化量の比較

発現量が変化しなかった遺伝子の割合

- On-chip Sortはサンプルの”繰り返しソーティング”により希少細胞を短時間で正確に回収可能
- 繰り返しソーティングは、従来方式のセルソーターでは細胞へのダメージや少量サンプル解析ができない等の理由から困難であったが、マイクロ流路技術によりこれを解決

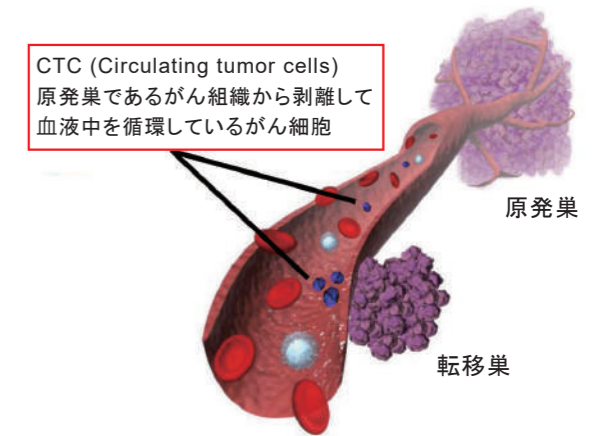
繰り返しソーティング技術

これまでのフローサイトメーターの概念を覆す方法であり、マイクロ流路技術を用いたダメージフリーソーティングにより実現。1回のソーティングに約10分-15分必要とし、3回の繰り返しソーティングを60分未満で実施。

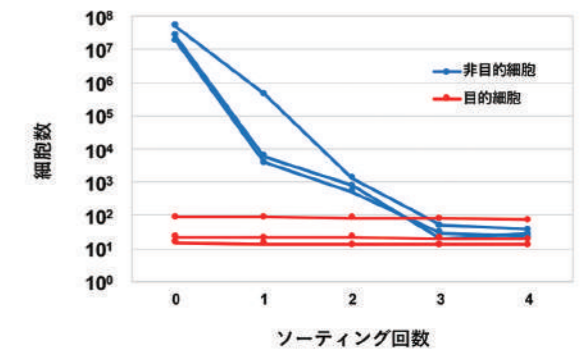


繰り返しソーティングによるCTCの高純度回収

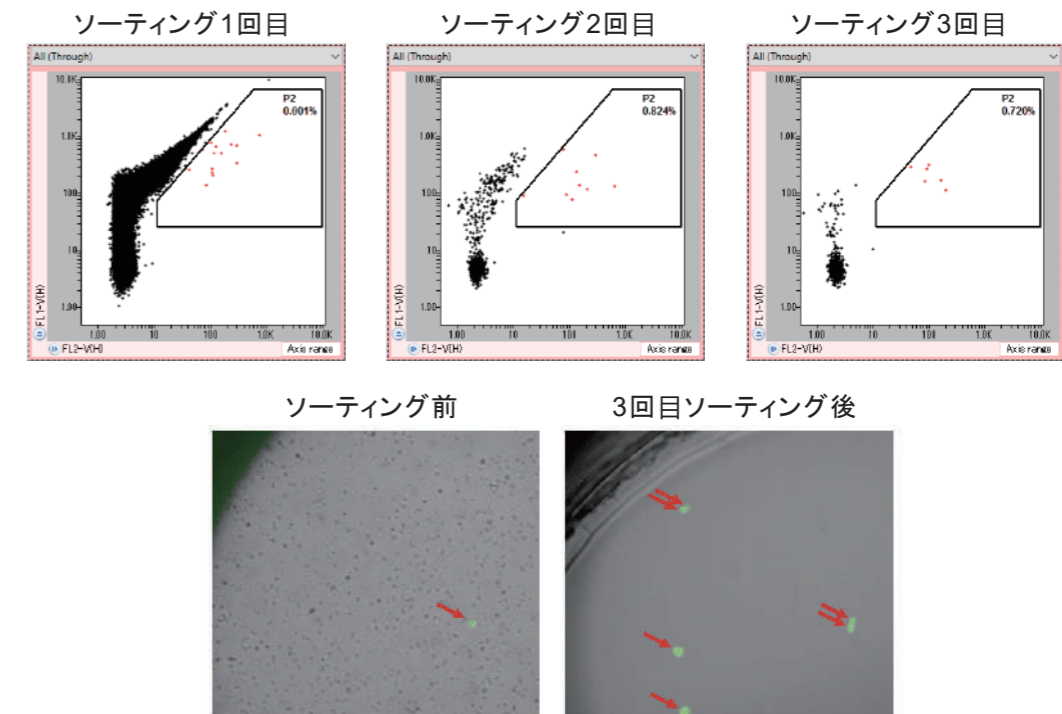
- 血中循環腫瘍細胞(CTC)などのサンプル中に極微量しか存在しない細胞もOn-chip Sortシステムを用いることで短時間で純度良く回収
- 高純度のCTCの解析により、癌の診断などの臨床試験に利用が期待される



繰り返しソーティングにより、 $10^7$ - $10^8$ 個中のわずか数十個の目的細胞をロスなく、回収可能であることを実証した。



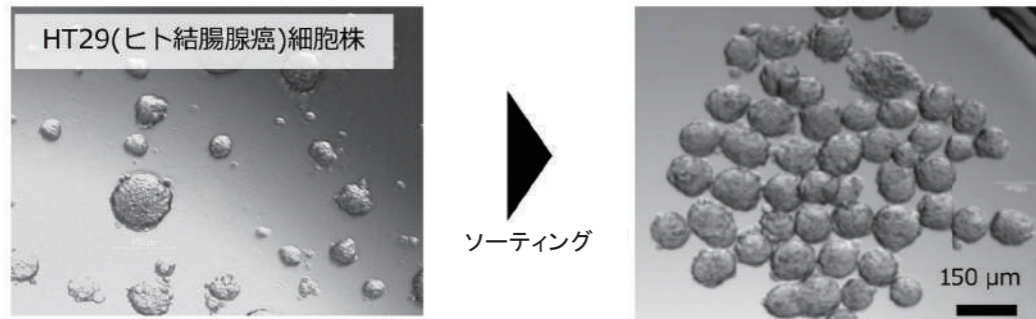
溶血した血液細胞中に存在する極僅かな目的細胞(CTC)を特異的に染色し、繰り返しソーティングを実施した。繰り返しソーティング3回後の顕微鏡観察でCTCのみが高純度で回収できたことを確認した。



- 従来のセルソーターでは困難だった100 μm級の大型細胞もソーティング可能
- シース液には、生理食塩水や培地、オイルなど細胞に適した選択が可能

【大型サンプル】スフェロイド(細胞塊)のソーティング

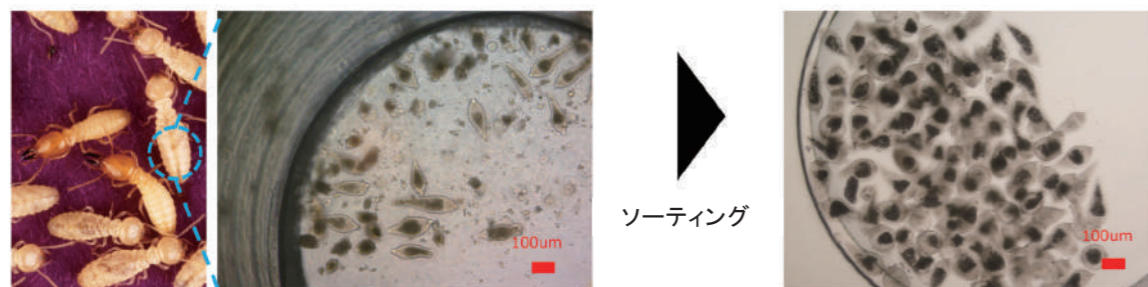
がん治療における薬効評価にはスフェロイド(細胞塊)を用いて薬剤感受性を見ることが重要である。薬剤の標的培養細胞や臨床材料からOn-chip® Sortにより一定サイズのスフェロイドをソーティングすることができる。



Collaboration with SCIVAX Life Sciences Co., Ltd.

【シース液自由】浸透圧に弱い原生物のソーティング

On-chip® Sortは細胞の破裂が起きない最適な生理的塩類溶液をシース液として選択でき、細胞ダメージも少ない分離ができるため、多種多様な動植物細胞のソーティングが実施できる。



イエシロアリ腸内原生物(約3種類)

Collaboration with Dr. Yuki and Dr. Okuma, RIKEN BRC

アプリケーション1 細胞を封入したW/Oドロプレット・GMDのソーティング

微生物 ・大腸菌 ・菌根菌 ・枯草菌 ・放線菌 ・麹菌 ・カビ ・酵母 ・オイル産生藻類 ・テトラヒメナ	環境サンプル ・土壌細菌 ・海水・湖水中微生物 ・腸内細菌 ・マイクロプランクトン スクリーニング(HTS) ・CHO細胞 ・ハイブリドーマ ・無細胞翻訳系 ・GPCR反応系	遺伝子 ・デジタルPCR 非生物 ・ビーズ ・PEG ・ゼラチン ・低融点アガロース ・アルギン酸 ・コラーゲン など
---	--	--

アプリケーション2 ダメージフリーソーティング

細胞組織 ・肝細胞 ・筋細胞 ・軟骨細胞 ・肺胞上皮細胞 ・プルキンエ細胞 ・網膜神経節細胞 ・心筋細胞 ・神経細胞 ・神経細胞核 ・小膠細胞 ・錐体細胞 ・脂肪細胞 ・歯肉上皮前駆細胞 ・線維芽細胞 ・血管内皮細胞 ・癌細胞	幹細胞 ・造血幹細胞 ・iPS細胞 ・癌幹細胞 ・歯根細胞(Muse) ・間葉系細胞 生殖細胞 ・精子 ・卵巣細胞 ・受精卵 培養株 ・クローニング細胞 ・ゲノム編集細胞 ・HeLa細胞	血中細胞 ・T細胞 ・B細胞 ・NK細胞 ・好中球 ・血小板 ・マクロファージ その他の細胞 ・ユスリカの細胞 ・ラット神経細胞 ・魚類始原生殖細胞 ・ショウジョウバエの細胞 ・マウス各組織細胞 ・マウス卵 ・ゼブラフィッシュの神経細胞 など
---	--	--

アプリケーション3 レアセルソーティング

がん細胞 ・血中循環腫瘍細胞(CTC)	幹細胞 ・iPS未分化細胞除去	など
------------------------	--------------------	----

アプリケーション4 大型サンプル・シース液自由

原生物 ・線虫(L1期) ・ミドリムシ ・シロアリ腸内原生物 ・線虫のタマゴ	細胞塊 ・スフェロイド ・オルガノイド ・癌幹細胞塊 ・骨髄細胞クラスター	植物細胞 ・花粉 ・気孔細胞 ・葉肉細胞 ・プロトプラスト など
--	---	---

## 装置の主な仕様

	On-chip® Flow	On-chip® Sort
<b>光学系と検出感度</b>		
レーザー	最大3本 (405 nm、488 nm、561 nm、638 nm [カスタマイズ応相談])	
レーザークラス	クラス1レーザー製品 (IEC 60825-1:2014)	
測定パラメーター	前方散乱光 (FSC)、側方散乱光 (SSC)、6PMT (10パラメーターまで)	
サイズ検出感度	FSC < 0.5 μm、SSC < 1.0 μm	
蛍光感度	< 200 MESF FITC	
データ分析能	4 decades, 18 bit	
パルス解析	Height, Area, Width	
検出波長	FL1 (445/20 nm)、FL2 (543/22 nm)、FL3 (591.5/43 nm) FL4 (676/37 nm)、FL5 (716/40 nm)、FL6 (775/46 nm)	
<b>流路系統</b>		
フローセルチップ	交換型マイクロ流路チップ	
チップ素材	樹脂	
流路サイズ	80 μm × 80 μm、150 μm × 150 μm	
流速 (m/s)	500 mm/sec~	
シースバッファー	樹脂素材が溶けなければどんな液体も利用可能。応相談	
サンプル液容量	10-1000 μL	
シース液容量	1-9 mL	
<b>解析とソーティング</b>		
ソーティング手法	—	マイクロ流路内Flow shift方式
純度	—	> 95% (細胞濃度による)
収率	—	> 90% (条件による)
細胞ダメージ	なし (解析後サンプル回収可能)	なし (1個からソーティング可能)
コンタミネーションフリー	コンタミネーションなし チップ交換により全リザーバー、流路交換	
無菌・バイオハザード対応	容易	
送液圧力	0.3-3 PSI	
解析速度	4,000 events/sec	
分取速度	—	1,000 targets/sec
操作開始までの時間	1-2分	5分
シャットダウン	10秒 (クリーニング不要)	
<b>安全性</b>		
エアロゾルの発生		
<b>サイズと重量</b>		
サイズ (W×D×H, mm)	620 × 390 × 330	
重量 (kg)	40 kg	45 kg
<b>制御PCと制御速度</b>		
PC	ノートパソコン	
OS	Windows 10、64 bit	
データフォーマット	Own format and FCS3.0	
<b>電源</b>		
電源入力	AC100-240V, 50/60Hz	
消費電力	240 VA	



セルアナライザーOn-chip® Flow (ソーティング機能無し) も販売中  
On-chip® Flowの購入後、細胞分離用のモジュールを追加することでOn-chip® Sortにアップグレード可能

## 装置・消耗品 製品情報

### 装置 (On-chip® Flow)

製品番号	製品名	仕様概要	レーザー	検出器
362F2001	On-chip® Flow HS	Laser 3, FS, SS, FL(6 colors)	488 nm & 638 nm & 405 nm	FL1 FL2 FL3 FL4 FL5 FL6
362F2001G	On-chip® Flow HSG	Laser 3, FS, SS, FL(6 colors)	488 nm & 561 nm & 405 nm	FL1 FL2 FL3 FL4 FL5 FL6
362F2001GR	On-chip® Flow HSGR	Laser 3, FS, SS, FL(6 colors)	488 nm & 561 nm & 638 nm	FL1 FL2 FL3 FL4 FL5 FL6
262F2001	On-chip® Flow MS6	Laser 2, FS, SS, FL(6 colors)	488 nm & 405 nm	FL1 FL2 FL3 FL4 FL5 FL6
252F2001	On-chip® Flow MS5	Laser 2, FS, SS, FL(5 colors)	488 nm & 638 nm	FL2 FL3 FL4 FL5 FL6
252F2001G	On-chip® Flow MS5G	Laser 2, FS, SS, FL(5 colors)	488 nm & 561 nm	FL2 FL3 FL4 FL5 FL6
152F2001	On-chip® Flow LS5	Laser 1, FS, SS, FL(5 colors)	488 nm	FL2 FL3 FL4 FL5 FL6

### 装置 (On-chip® Sort)

製品番号	製品名	仕様概要	レーザー	検出器
362S3001	On-chip® Sort HS	Laser 3, FS, SS, FL(6 colors)	488 nm & 638 nm & 405 nm	FL1 FL2 FL3 FL4 FL5 FL6
362S3001G	On-chip® Sort HSG	Laser 3, FS, SS, FL(6 colors)	488 nm & 561 nm & 405 nm	FL1 FL2 FL3 FL4 FL5 FL6
362S3001GR	On-chip® Sort HSGR	Laser 3, FS, SS, FL(6 colors)	488 nm & 561 nm & 638 nm	FL1 FL2 FL3 FL4 FL5 FL6
262S3001	On-chip® Sort MS6	Laser 2, FS, SS, FL(6 colors)	488 nm & 405 nm	FL1 FL2 FL3 FL4 FL5 FL6
252S3001	On-chip® Sort MS5	Laser 2, FS, SS, FL(5 colors)	488 nm & 638 nm	FL2 FL3 FL4 FL5 FL6
252S3001G	On-chip® Sort MS5G	Laser 2, FS, SS, FL(5 colors)	488 nm & 561 nm	FL2 FL3 FL4 FL5 FL6
152S3001	On-chip® Sort LS5	Laser 1, FS, SS, FL(5 colors)	488 nm	FL2 FL3 FL4 FL5 FL6

【レーザー】Blue (488 nm)を標準に、Violet (405 nm)、Green (561 nm)、Red (638 nm)の中から2種類を選択した最大3種類を搭載 (追加搭載も可能)

【検出器】FL1からFL6の最大6種類まで選択

FL1 : 445/20 nm、FL2 : 543/22 nm、FL3 : 591.5/43 nm (緑レーザー使用時607/36 nm)、FL4 : 676/37 nm、FL5 : 716/40 nm、FL6 : 775/46 nm

### 消耗品 (マイクロ流路チップ)

製品番号	製品名	材質	用途	マイクロ流路幅	包装単位
1002002	2D Chip-Z101	PMMA	分取用	80 x 80 μm	10 chips/箱
1002002S	2D Chip-Z101S	PMMA	滅菌済み分取用	80 x 80 μm	10 chips/箱
1002004	2D Chip-Z1001	COP	大容量分取用	80 x 80 μm	10 chips/箱
1002004S	2D Chip-Z1001S	COP	滅菌済み大容量分取用	80 x 80 μm	10 chips/箱
1002005	2D Chip-Z1000-w150	COP	細胞集塊・巨細胞分取用	150 x 150 μm	10 chips/箱
1002005S	2D Chip-Z1000-w150S	COP	滅菌済み細胞集塊・巨細胞分取用	150 x 150 μm	10 chips/箱

小容量チップ  
流路幅  
80×80 μm



2D Chip-Z101

大容量チップ  
流路幅  
80×80 μm



2D Chip-Z1001

大容量チップ  
流路幅  
150×150 μm



2D Chip-Z1000-w150

お問い合わせ先

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/

