

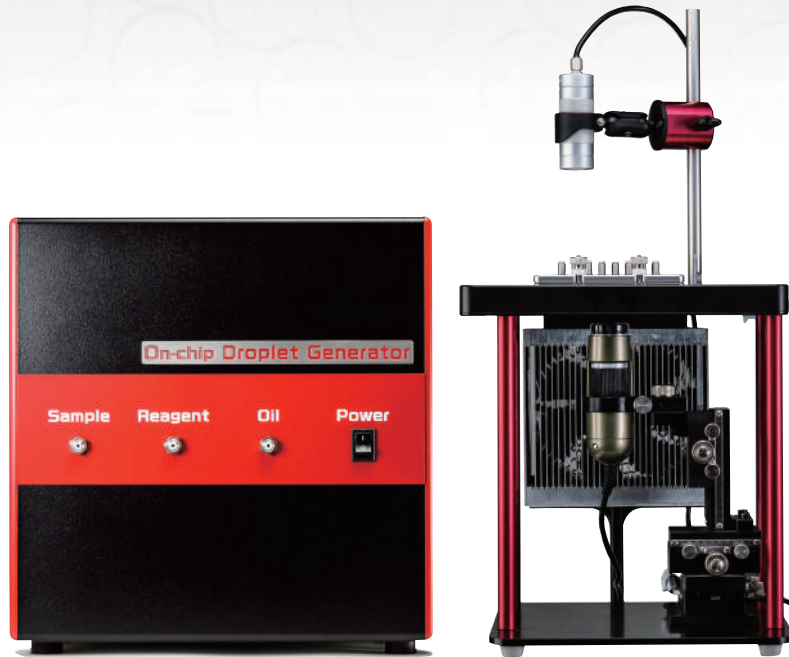


On-chip® Droplet Generator

安定・均一なドロップレットを簡単作製



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

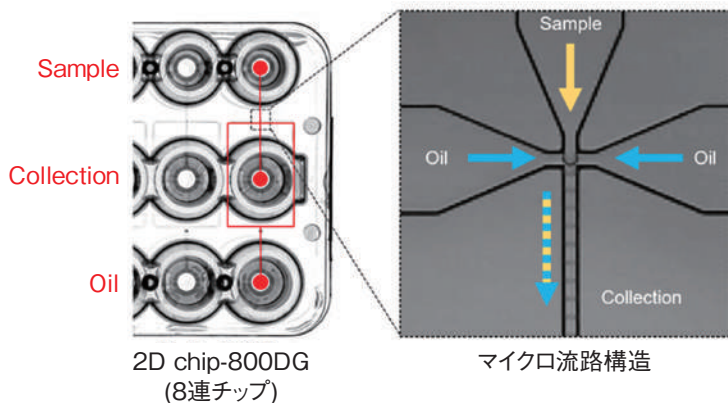
各リザーバーに試薬を入れて加圧するだけで、安定かつ均一サイズのドロップレットを大量に作製することができます。

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直径20-40 μmの範囲で調整可能です。

8種類のサンプルを同時作製

1種類を大量に、または8種類のドロップレットを同時に作製することが可能です。

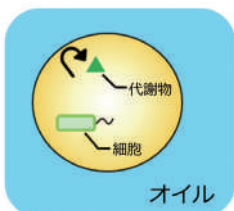


作製ドロップレットの種類を選択

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

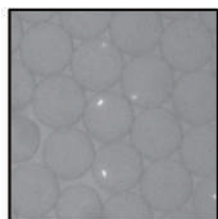
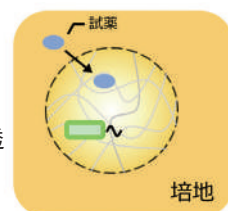


～1,000万ドロップレット ◀ 作製数 ▶ ～1,000万ドロップレット

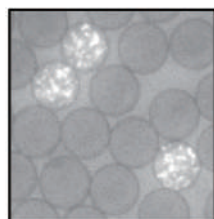
液体(培地等) ◀ 内部の状態 ▶ 固体(アガロース、ゼラチン等)

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



封入直後

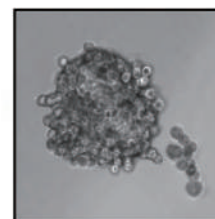


培養後

大腸菌



封入直後



培養後

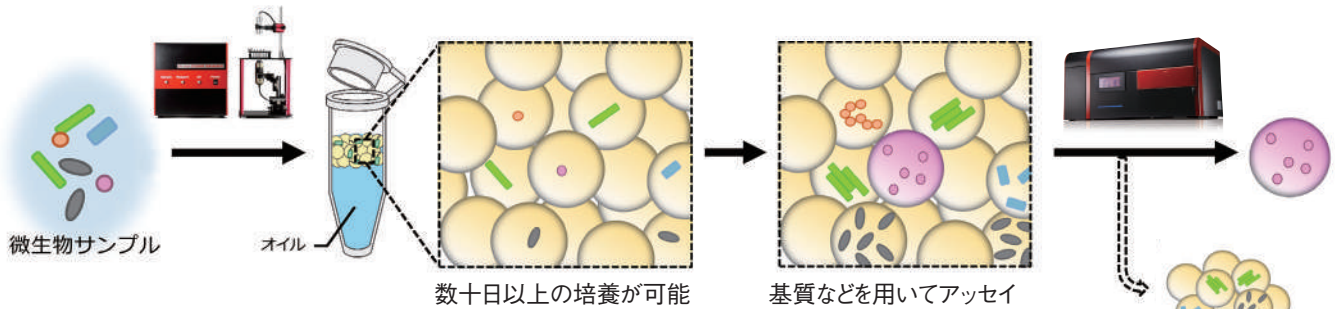
肺がん由来細胞株

On-chip® Droplet Generator と On-chip® Sort の活用

On-chip® Droplet Generator で微生物を 1 細胞ずつドロップレットに封入

チューブ内にドロップレットを保存し、静置培養

On-chip® Sort で目的微生物のスクリーニング



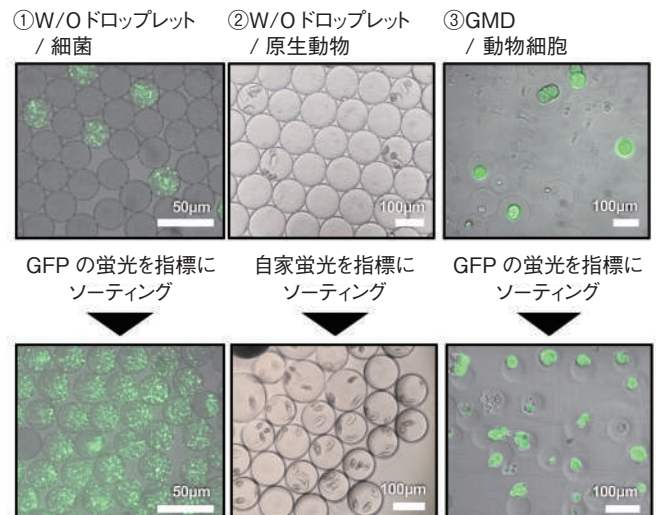
マイクロ流路チップ技術を用いた

On-chip® Sortはシース液にオイルを使用でき、微生物等が増殖したW/Oドロップレットの選抜が可能

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® 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



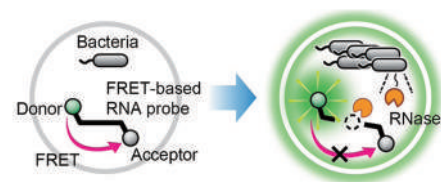
W/Oドロップレットで増殖した微生物の検出

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。

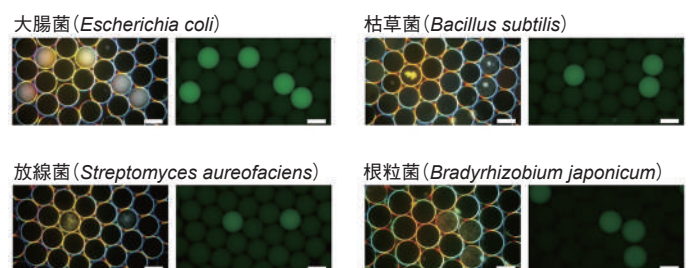
モデル微生物として大腸菌、枯草菌、放線菌、根粒菌を培養した例では、増殖したドロップレット内部での蛍光強度の上昇が確認された。

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



FNAP-sortの原理：微生物が生産したRNaseがプローブを切断することで蛍光強度が上昇

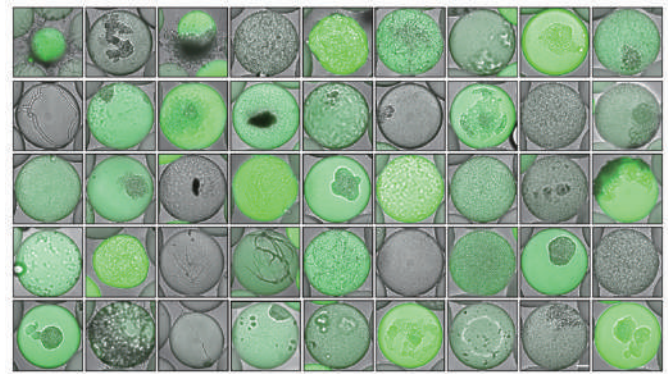


増殖した微生物の検出(*左が明視野画像、右が蛍光画像)

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® 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® Droplet GeneratorとOn-chip® 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

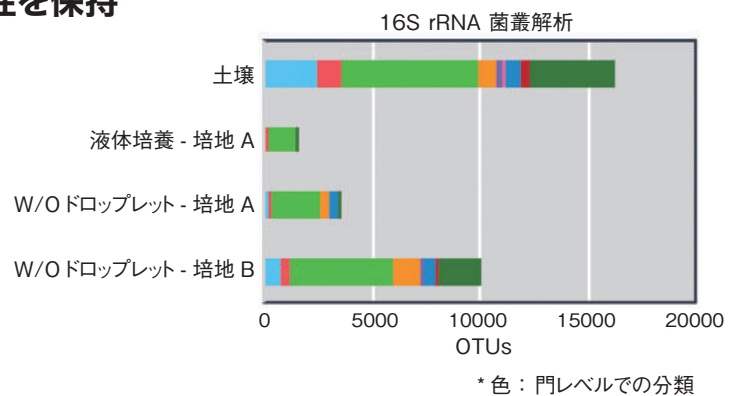
- ▶ W/Oドロップレットを用いることで、数時間で100万検体の環境微生物スクリーニングが可能
- ▶ 微生物の多様な増殖形態と酵素活性を評価可能

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

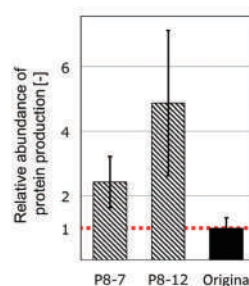
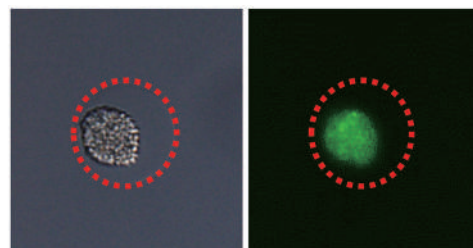
Collaboration with Assoc. Prof. Tashiro, Kyusyu University

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® 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。

- ▶ 10^5 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



↑酵母のGMD培養：
酵母はマイクロコロニーを形成。緑色蛍光はルシフェラーゼ由来。
*赤破線はGMDの輪郭を示す

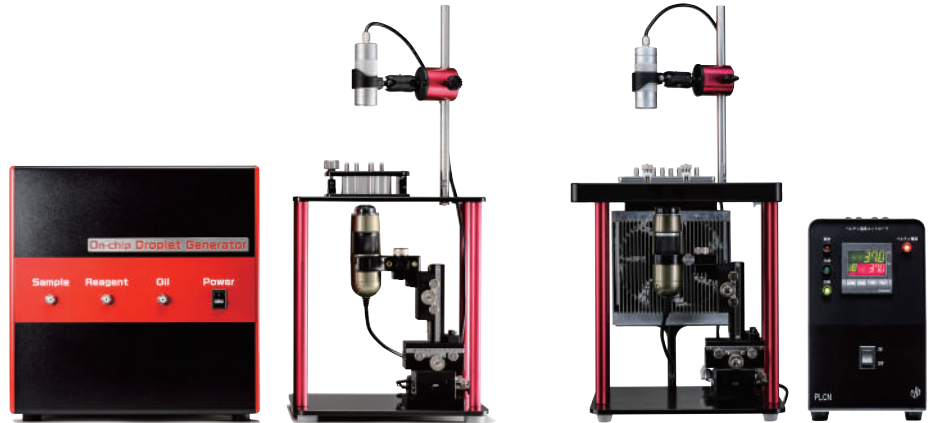
←取得した高生産株：
親株よりも5倍の生産性向上

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◆

On-chip® Droplet Generator
(製品番号 60001)

On-chip® Droplet Generator
温調観察ユニット(製品番号 60002)



*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。

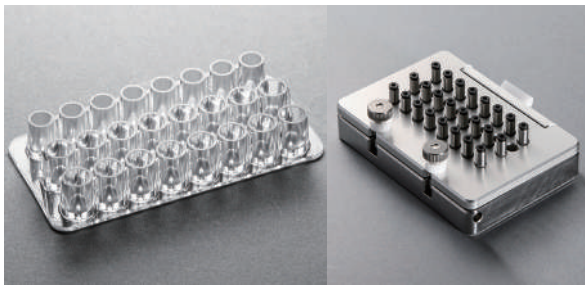
| 仕様 | | On-chip® Droplet Generator | On-chip® Droplet Generator 温調観察ユニット |
|------|------------|--------------------------------|--|
| 本体 | サイズ | 270 x 270 x 280 mm (W x D x H) | |
| | 送液圧力 | 7 - 80 kPa | |
| | 最大送液系統 | 3系統(サンプル、オイル、他試薬) | |
| | 作製液滴サイズ | 直径20 - 40 μm(任意で調整可能) | |
| | 生成速度 | 約100,000個/分(30 μmドロップレット作製時) | |
| | 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) | |
| 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 | — | 6.5A max |

| 製品番号 | 製品名 | 仕様概要 |
|-------|--|---------------------|
| 60001 | On-chip® Droplet Generator | 本体、チップホルダー、観察ユニット |
| 60002 | On-chip® Droplet Generator(温調観察ユニット) | 本体、チップホルダー、温調観察ユニット |
| 62001 | Droplet Generator temperature control unit | 温調観察ユニット |

◆8連チップを用いて、安定なドロップレットをシンプルに大量作製◆

仕様：

- 適用サンプル：水溶液、培養液、ゲル溶液など
- 適用オイル：フッ素系オイル
- チップ素材：樹脂(COP)
- 流路サイズ：30 μm x 30 μm (レーン1~8まで全て同じ)
- 生成時間：サンプル、オイルの組成及び生成時の圧力による。
- リザーバー容量：サンプル20 - 100 μL 、オイル20 - 200 μL
回収リザーバー最大200 μL
- 作製数：約10,000,000個
(直径30 μm 、15分程度、8連使用時)



| 製品番号 | 製品名 | 製品概要 | 包装単位 |
|---------|-----------------|--------------------------|------------|
| 40005 | DG8 Chip Holder | 専用8連チップホルダー | 1個 |
| 1003002 | 2D chip-800DG | ドロップレット作製用 8連チップ(COP) | 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◆



| 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 |

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/>





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2-24-16
農工大・多摩小金井ベンチャーポート 203号室
TEL.042-385-0461 FAX.042-385-0462

ONCHIP-01B-001