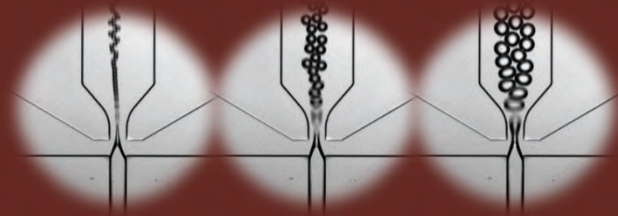
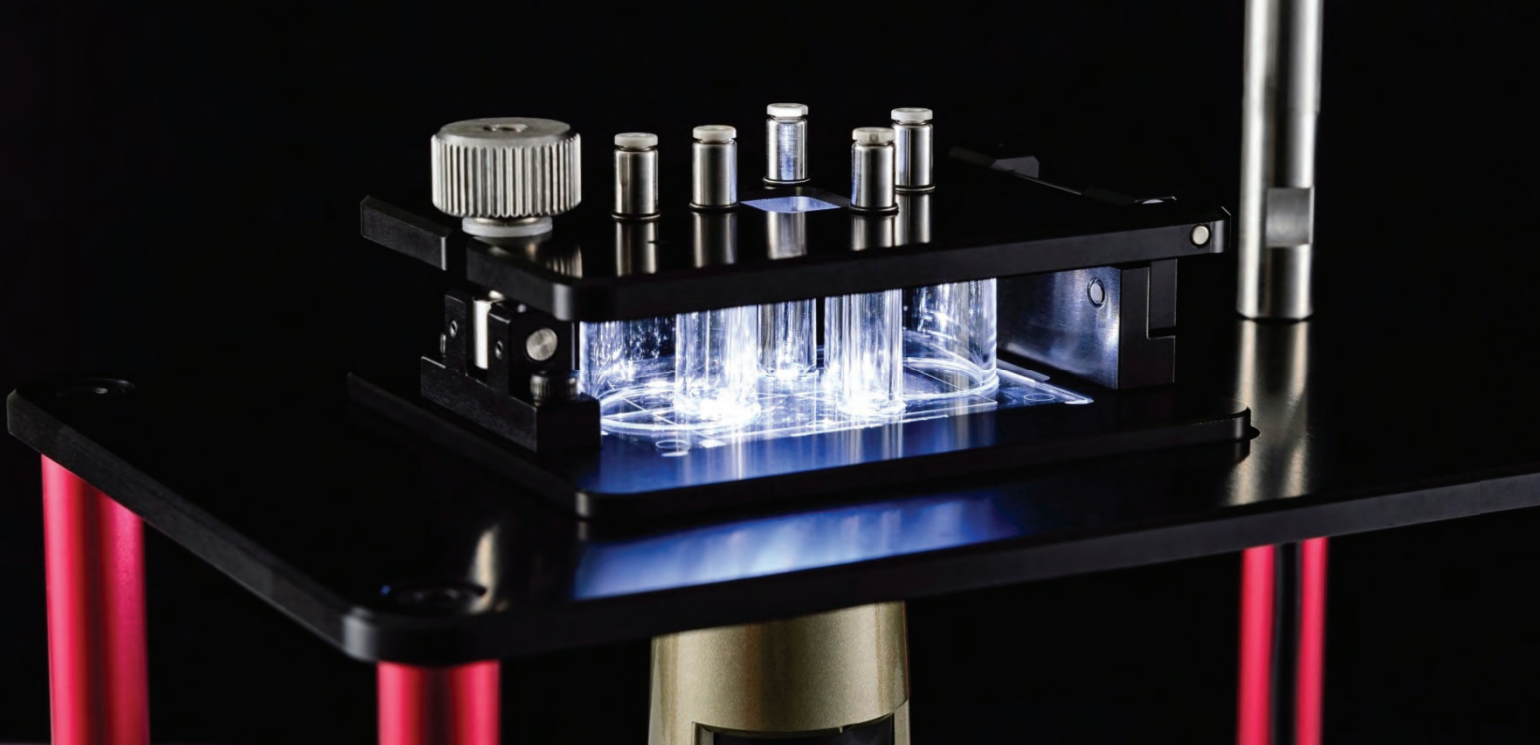




# On-chip Droplet Generator

20 $\mu$ m~100 $\mu$ mサイズのドロップレットを簡単作製





## Single Cell Compartmentalization by *On-chip Droplet Generator*

近年、water-in-oil(油中水滴型、w/o)の液滴は、その1つ1つが小さな反応系としてデジタルPCR(ddPCR)や次世代シーケンス(NGS)などの遺伝子解析分野に於いて実用化されています。創薬の基礎・応用研究では細胞ベースのハイスループットスクリーニング(HTS)や、多くの生物活性や毒性を同時にアッセイするハイコンテツスクリーニングの需要が高まり、アッセイ系のダウンサイジングが求められているなか、マルチウェルプレートのウェルに替えて注目を浴び始めたのがin vitro compartmentalization(IVC)法と呼ばれるw/oのエマルジョン内にて酵素反応や細胞内伝達を蛍光を標識にしてアッセイする方法です。

10<sup>6</sup>の反応系 = 384ウェルプレートが2,600枚



従来的方法 (マイクロタイタープレート)	
1 well	100µl
長時間	
高コスト	
特定サンプルの回収が困難	

10<sup>6</sup>の反応系 = 1チューブに10<sup>6</sup>個のエマルジョン



エマルジョン法 (小さい反応系)	
1 エマルジョン	0.03nl
短時間	
低コスト	
特定サンプル (エマルジョン) を回収可能	

## *On-chip Droplet Generator* の原理

### ☆安定かつ均一な液滴 (ドロップレット) を作製

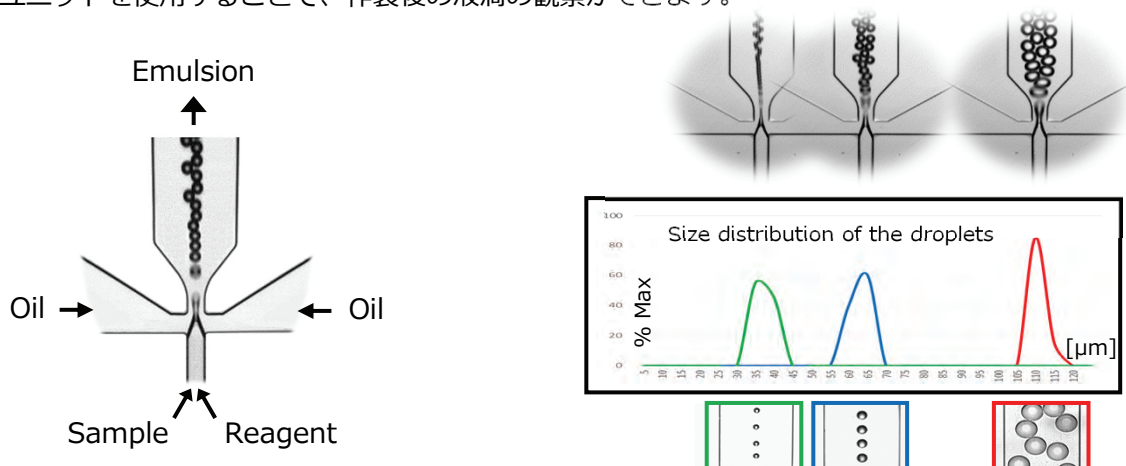
弊社独自の使い捨てマイクロ流路チップを使用することで、安定かつ均一な液滴を作製することができます。

### ☆容易な圧力制御により液滴 (ドロップレット) サイズを調節可能

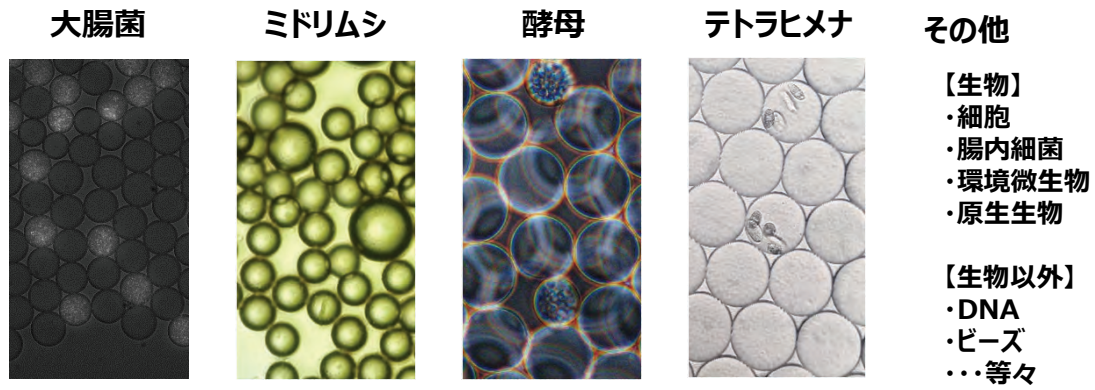
サンプルやオイルにかかる圧力を制御することにより、作製する液滴のサイズを調整することが可能です。

### ☆観察ユニットで作製中の液滴 (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、作製後の液滴の観察ができます。



# On-chip Droplet Generator によるエマルジョン封入例



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

On-chip Droplet GeneratorとOn-chip Sortで広がる研究領域

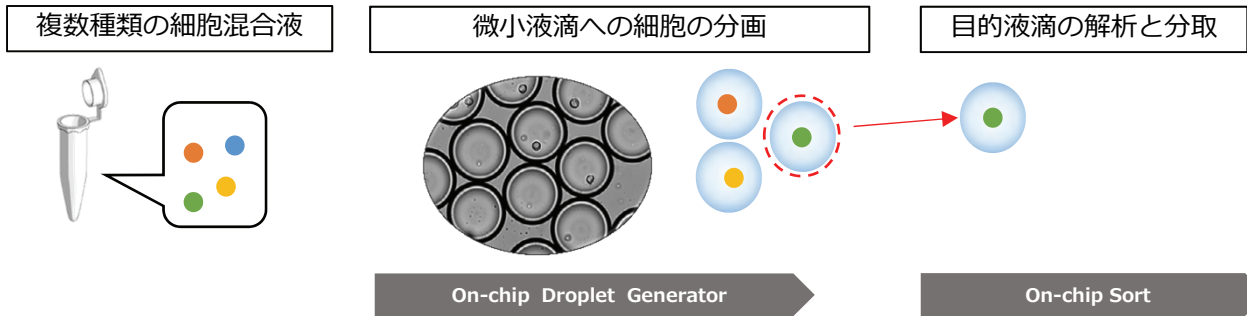
- 細胞・細胞構造体・菌体粒子等のカプセル化と目的細胞のソーティング
- cDNA/ペプチド/化合物ライブラリーのカプセル化及びスクリーニング
- ddPCRと目的の遺伝子配列の検出など(エマルジョン内PCR)



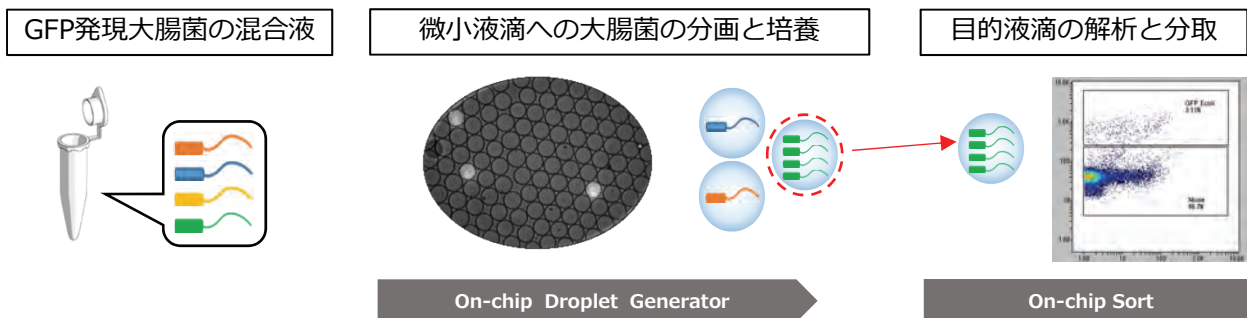
On-chip Sort

シース液にオイルを使用出来るので、water-in-oil(油中水滴型、w/o)の液滴を解析・ソーティングが可能

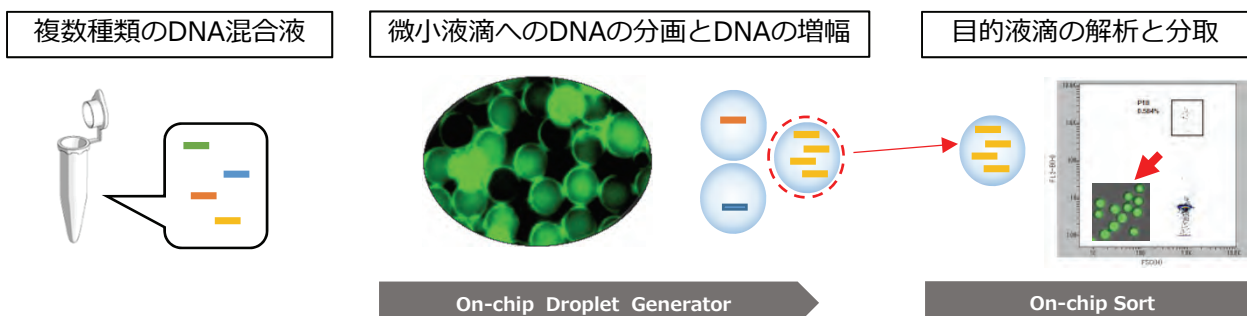
### ◎エマルジョンを利用した目的細胞の分離



### ◎エマルジョンを利用した細菌の分離



### ◎エマルジョンを利用したデジタルドロップレットPCR(ddPCR)



## On-chip Droplet Generatorで作製した液滴内でddPCRを行い、On-chip Sortで回収する

### 装置と試薬

- On-chip Droplet Generator
- ジェネレーターオイル(ミネラルオイルベース)
  - Mineral Oil (Light Oil, Sigma, M8410)
  - Sun Soft No. 818SK (Taiyo Kagaku)
  - Span 80 (Sigma, S6760)
- PCR用試薬
  - DNA template
  - Primer
  - SsoFast™ EvaGreen® Supermix (Biorad)

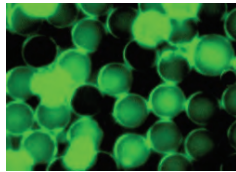
### 液滴の生成手順

- ジェネレーターオイルとサンプル(PCR用試薬)を専用のマイクロ流路チップにいれ、チップをOn-chip Droplet Generatorにセットする。
- 専用ソフトを使い、オイルとサンプルを加圧することにより、チップ上でドロップレットが生成される。
- 生成されるドロップレットの大きさは、圧力を変化させることにより調整(20~100 $\mu$ m) できる。

### 使用機器

- PCRサーマルサイクラー
- On-chip Sort

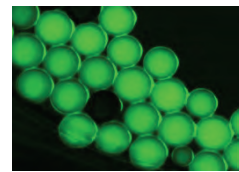
On-chip Droplet Generatorで液滴作製 (液滴サイズ40 $\mu$ m)



Target 2.4%  
(Sample reservoir)



On-chip Sortで液滴をソーティング



Target 94% : Yield 94%  
(Collection reservoir)

## w/oエマルジョンを使った微生物の分離・同定

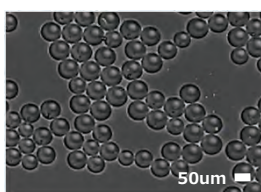
w/oエマルジョン中に細菌や細胞の育成環境を再現出来れば、環境微生物の探索や目的細胞の分離・同定に有効な手段となる。

### 1) BFP発現大腸菌の封入と培養 (On-chip Droplet Generator) 及びソーティング (On-chip Sort)

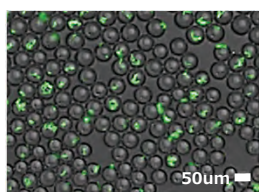
#### 装置と試薬

E.Coli expressing GFP in PBS + Km(approx. 1 cell in 1 droplet)  
大腸菌濃度は $1 \times 10^6$ 個/mlに調整  
Mineral oil; Span80 4.5%, Triton X-100 0.4%  
Droplet Generator; sample/7.3kPa, sheath/9.5kPa → about 40 $\mu$ m

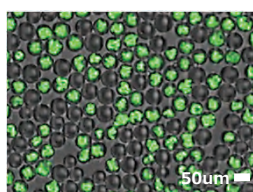
20時間、チップ内・室温で静置培養



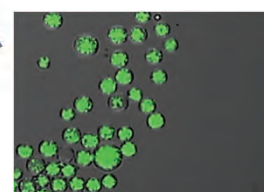
0時間



4時間



20時間

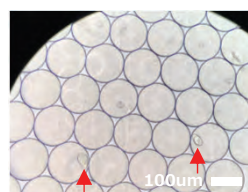


20時間後、FL2強度高い領域をソーティング

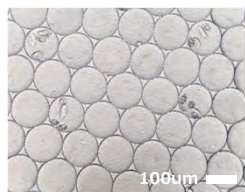
### 2) テトラヒメナの封入と培養

#### 装置と試薬

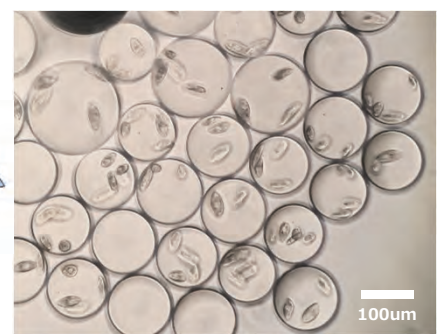
Tetrahymena in AB + penicillin (approximately 1 cell in 1 droplet)  
原生生物濃度は $1 \times 10^5$ /mLに調整  
Pico-Surf(tm) 1 (2% (w/w) in Novec(tm) 7500)  
Droplet Generator; sample/7.0kPa, sheath/11.0kPa → about 120 $\mu$ m



0時間



2日間培養



自家蛍光の強度高い領域をソーティング

# On-chip Droplet Generator *A Water-in-Oil Emulsion Droplet Generator with Full Potential*

◆ 8連チップを用いて、安定なエマルジョンをシンプルに大量作製

仕様：

サンプルリザーバー容量：20～100μL  
 オイルリザーバー容量：20～200μL  
 エマルジョンリザーバー容量：最大200μL

適用サンプル：水溶液、培養液

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：30μm x 30μm（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

オイルの消費比率：

サンプルとオイルの組成、生成時の圧力により消費比率は変化します。

20 μl サンプルあたりのドロップレット数：

最大100万個（直径30μmエマルジョン生成時）



製品番号	製品名	製品概要	包装単位
40005	DG8 Chip Holder (8 lane)	8連ホルダー観察ユニット	1個
1003002	2D chip-800DG (8連チップ)	ドロップレット作製用8連チップ (COP)	10 chips/箱

## On-chip Droplet generatorの主な仕様

本体サイズ	270 x 270 x 280 mm (W x D x H)
チップ	使い捨てマイクロ流路チップ
チップ素材	樹脂
サンプル量	10～100 μL
オイル量	100～200 μL
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）
オイル	ミネラルオイル、フッ素系オイル
作製液滴サイズ	直径20～100 μm（任意で調整可能）
生成速度	毎分25,000個（40 μm液滴作成時）
制御	ノートPC（Windows8）



製品番号	製品名	仕様概要	送液系統	使用オイル	液滴サイズ	生成速度
60001	On-chip Droplet Generator	本体、チップホルダー観察ユニット	3系統（サンプル、オイル、試薬）	ミネラルオイル フッ素系オイル	直径20～100μm	毎分25,000個 (40μm作製時)
60001-A	On-chip Droplet Generator (本体のみ)	本体、チップホルダー	3系統（サンプル、オイル、試薬）	ミネラルオイル フッ素系オイル	直径20～100μm	毎分25,000個 (40μm作製時)

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

http://www.on-chip.co.jp

A decorative graphic in the bottom-left corner of the page. It features a cluster of golden, irregularly shaped particles and thin, radiating lines, resembling a molecular or biological structure. Below this cluster are several golden, swirling lines that curve upwards and to the right, creating a sense of movement and depth. The overall aesthetic is clean and modern, with a focus on organic and technological motifs.

**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 204号室  
TEL.042-385-0461 FAX.042-385-0462