

フェムト秒レーザーを用いた超高速細胞分取システム

Ultrahigh-speed cell sorter utilizing femtosecond laser

奈良先端大物質¹, 東大院理², 名大院工³ ○飯野 敬矩¹, 萩原 宏規¹, 前野 貴則¹,

S. W. Lee², 笠井 宥佑³, 佐久間 臣耶³, 早川 健³, 新井 史人³, 細川 陽一郎¹

Nara Inst.¹, Univ. Tokyo², Nagoya Univ.³, °Takanori Iino¹, Hiroki Hagihara¹, Takanori Maeno¹, S. W.

Lee², Yusuke Kasai³, Shinya Sakuma³, Takeshi Hayakawa³, Fumihito Arai³, and Yoichiroh

Hosokawa¹

E-mail: i-takanori@ms.naist.jp

近年、細胞生物学分野において、1細胞ごとの個体差を判別することに関心が集まっており、生命現象を1細胞単位で計測するための技術の重要性が増してきている。さらに、膨大な数の細胞集団から産業的価値の高い希少細胞を探索する試みもなされ始めており、計測した細胞を正確かつ高速に分取する技術が求められてきている。我々のグループでは、 $\mu\text{s} \cdot \mu\text{m}$ の時空間選択性を持つフェムト秒レーザー誘起衝撃力を駆使した1細胞操作技術を開発してきており、現在、その技術をシーズに高速・精密に細胞を分取できるシステムの開発に取り組んでいる。本研究では、疑似細胞試料を用いて構築した細胞分取システムの分取性能の評価を行った。

直線状の流路を持つマイクロ流体チップを正立顕微鏡ステージ上に静置し、疑似細胞試料として蛍光及び非蛍光ポリマー微小球 (ϕ : 10 μm) を PBS 中に分散させ、シリンジポンプを用いてチップ中に 1 m/s の速度で導入した。本チップは、試料を 3 次元的に一列に整列させた状態で流路 (幅: 200 μm , 高さ: 200 μm) の中央付近を流すことができる。流路中には、半導体レーザー (488 nm, 40 mW) が、照射されており、標的 (蛍光微小球) が、照射スポットを通過した際に蛍光が発生する。この蛍光をトリガ信号に用い、繰返し周波数 1 MHz で発振されるフェムト秒レーザーパルス (1040 nm, 400 fs, 1 $\mu\text{J}/\text{pulse}$) から単パルスを抜き出し、対物レンズ (20x, NA=0.46) を通して標的近傍に集光照射した。レーザー照射前後の微小球の挙動は、高速度カメラにより観察し (撮影速度: 10 $\mu\text{s}/\text{frame}$)、その画像から微小球の整列のばらつき、蛍光微小球の変位量、標的の前後に位置する非標的微小球の変位の有無及び変位量を見積もった。

微小球列の中心から流れの直角方向に対する距離を見積り、微小球の整列のばらつきを評価した結果、そのばらつきは微小球数個分程度であった。さらに、検出された全ての蛍光微小球に対しフェムト秒レーザーが照射され、流れの直角方向に対して 30–80 μm の変位が生じた。発表では、微小球の整列の精度、標的微小球の変位量、標的の前後に位置する非標的微小球の変位量を示し、本システムに最適なチップのデザインを議論する。さらに、分取性能を Recovery、Purity、Throughput に基づいて評価した結果について述べ、既存のセルソーターを凌駕する性能を達成できることを示す。