

2020年度 川西記念新明和教育財団 研究助成 成果報告書

マイクロウェルを有した一括電気回転を用いた高免疫活性なT細胞の識別法の開発

研究代表者

兵庫県立大学 大学院理学研究科

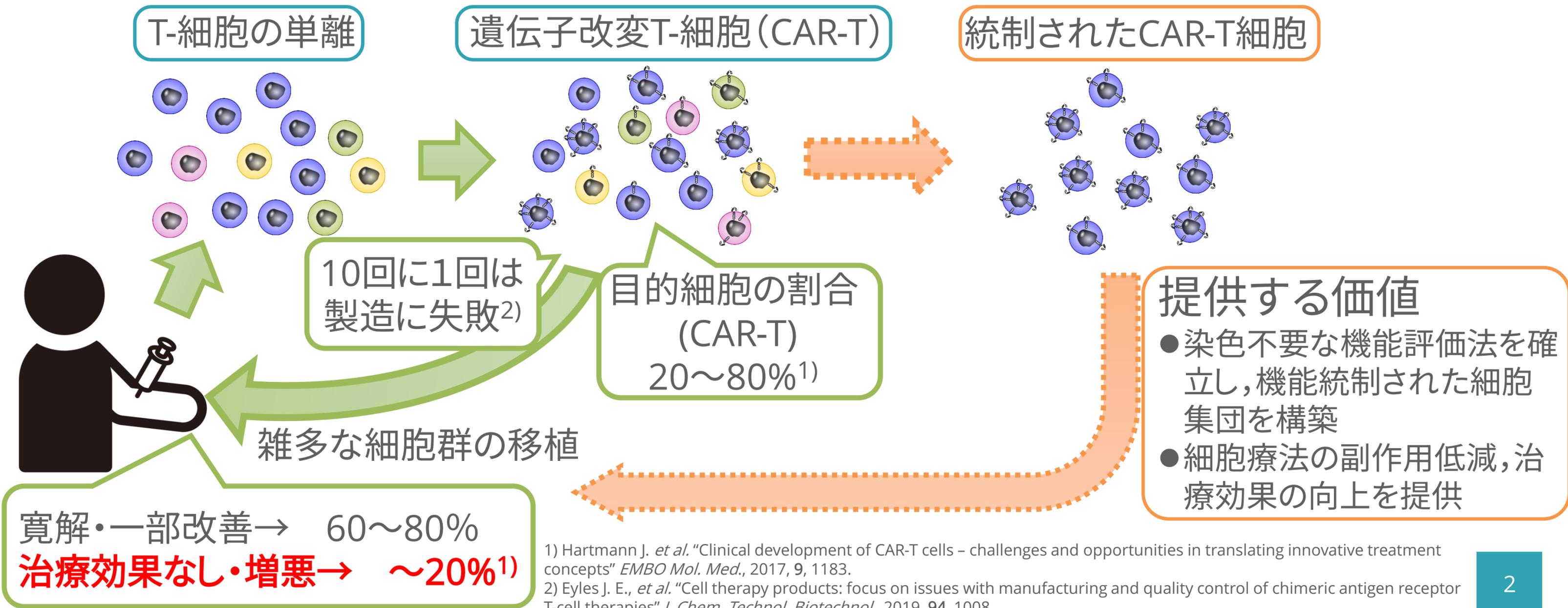
鈴木 雅登

suzuki@sci.u-hyogo.ac.jp

社会背景・課題

CAR-T細胞療法*の広がり,細胞の不均一性に起因した重篤な副作用が発生 個々の単一細胞を染色せずに,細胞“機能”の評価法が未確立

*CAR-T細胞療法:患者血液からT細胞を単離し,生体外で遺伝子改変を行いがん細胞への結合能と傷害性を付与した細胞(CAR-T細胞)を作製し,その細胞を移植する治療法.主にB細胞を由来とした白血病の治療に用いられる.白血病の高い寛解率を示し,次世代のがん治療薬として注目されている.



1) Hartmann J. et al. "Clinical development of CAR-T cells - challenges and opportunities in translating innovative treatment concepts" *EMBO Mol. Med.*, 2017, 9, 1183.

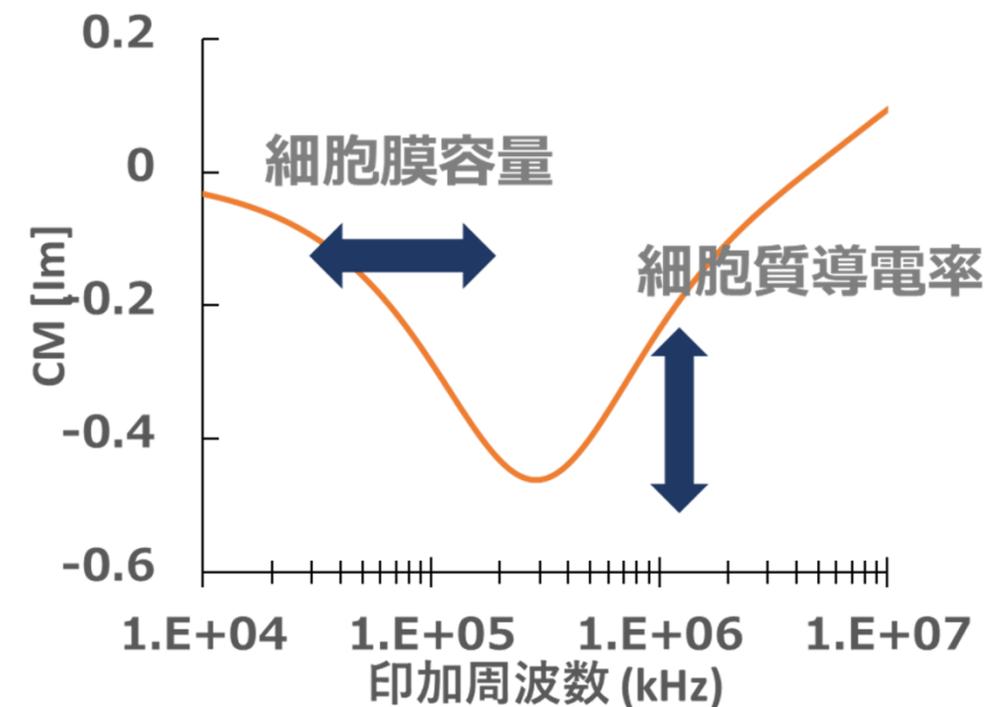
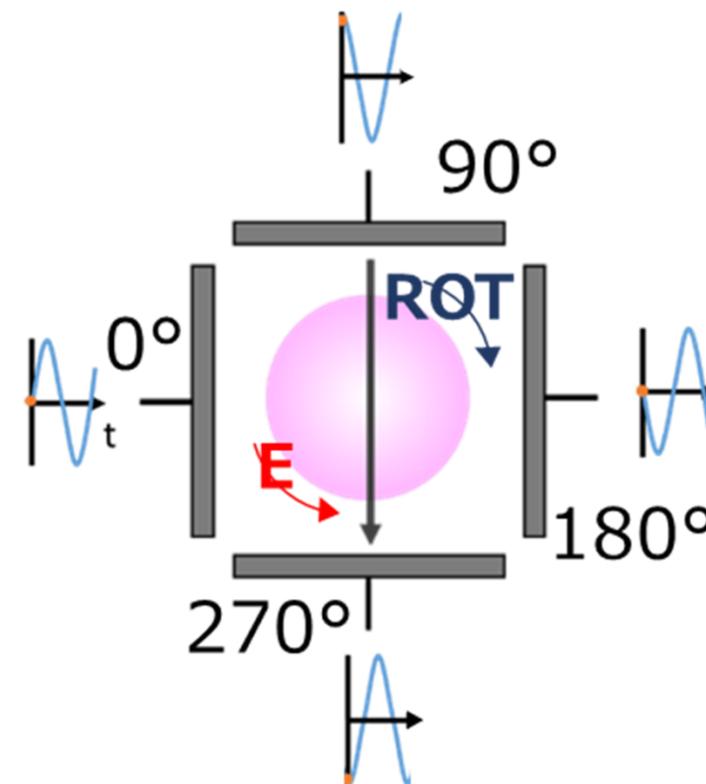
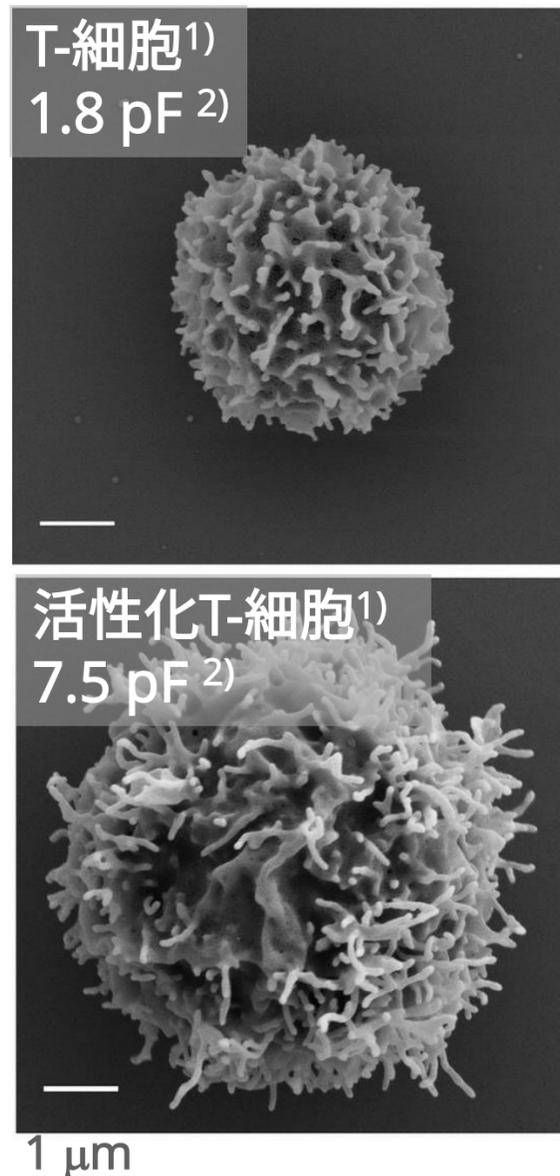
2) Eyles J. E., et al. "Cell therapy products: focus on issues with manufacturing and quality control of chimeric antigen receptor T-cell therapies" *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 2019, 94, 1008.

研究の目的

染色や標識することなくT細胞の“活性化”を評価
活性化に伴う,細胞膜形状の変化をリアルタイムに検出する方法を構築

【仮説】

細胞膜形状,細胞膜電気特性を非侵襲的に評価
可能な電気回転によって,T細胞の活性化を検出



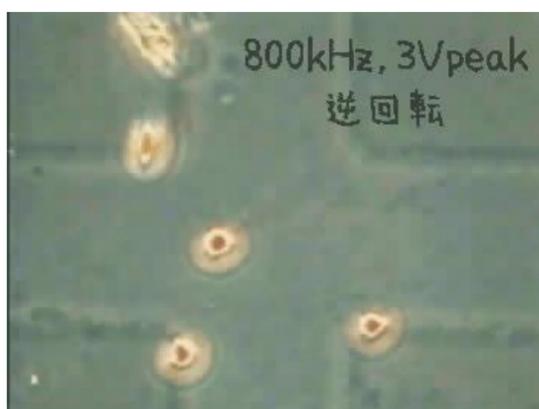
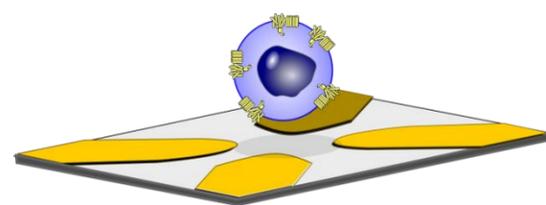
1) Jung Y. *et al. Proc. Natl Acad. Sci.*, 2016, 113, E5916-E5924.

2) Thakur P. *et al., Channels*, 2011, 5, 510

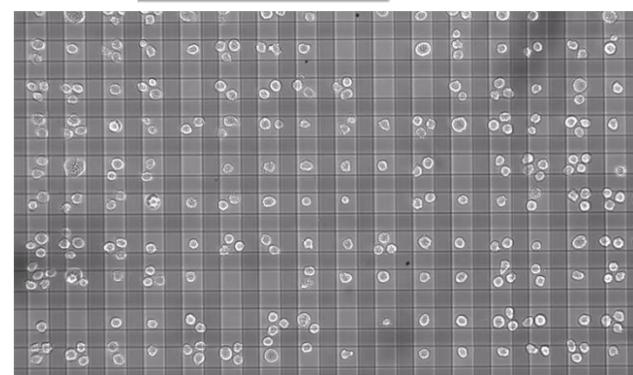
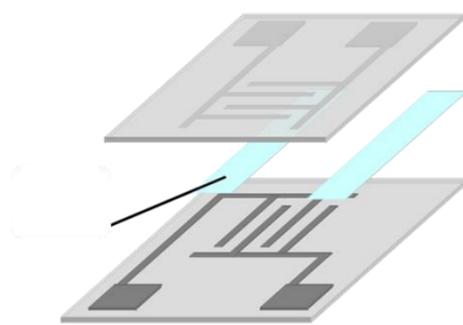
我々の電気回転デバイスの特徴

マイクロウェルと電極の立体配線により, 刺激をしながら複数細胞の電気回転計測を実現

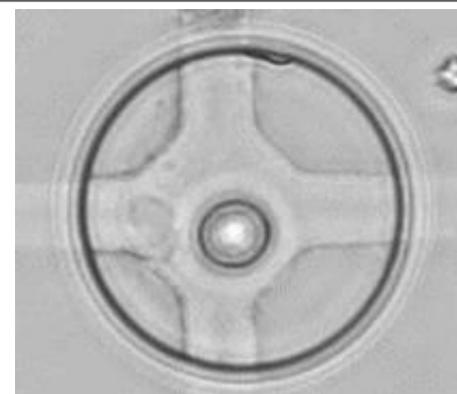
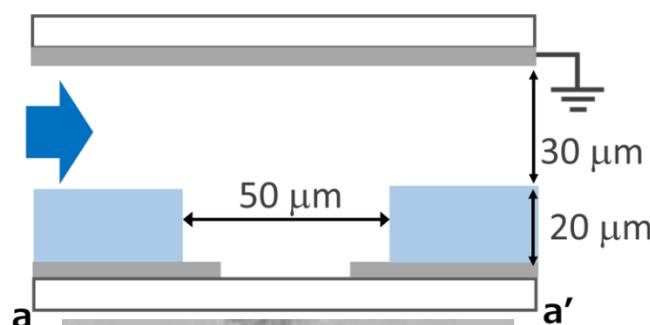
4重極電極型構造



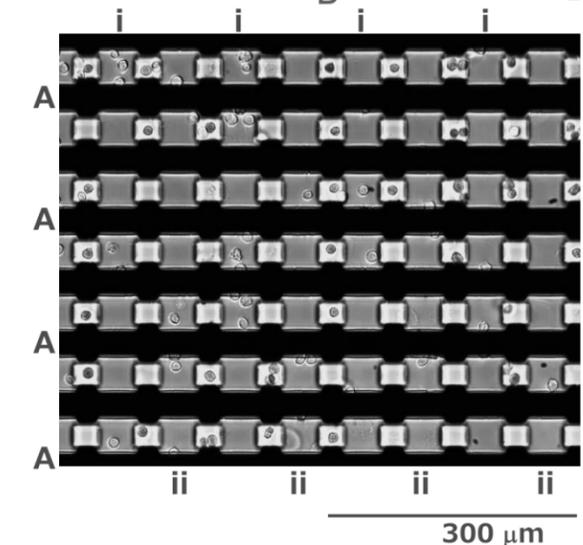
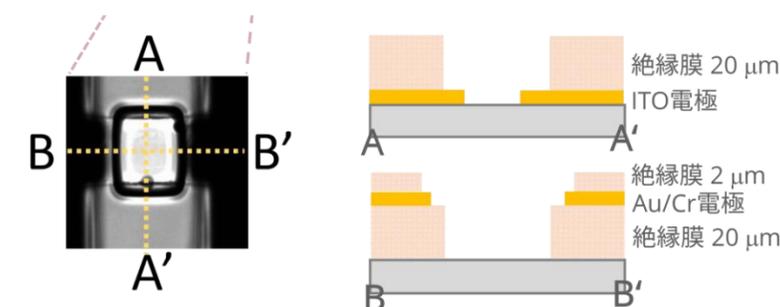
3次元グリッド電極



マイクロウェル型構造



本提案



評価細胞数

×(1)

○(500~1000)

×(1)

○(500~1000)

時間変化計測

×

×

○

○

デバイス作製
難易度

○

○

△

×

本助成研究の目的と取り組み計画

目的：マイクロウエルへの補足と回収が可能な電極デバイスの改良
T細胞の活性化の電気回転速度の変化として検出の実証

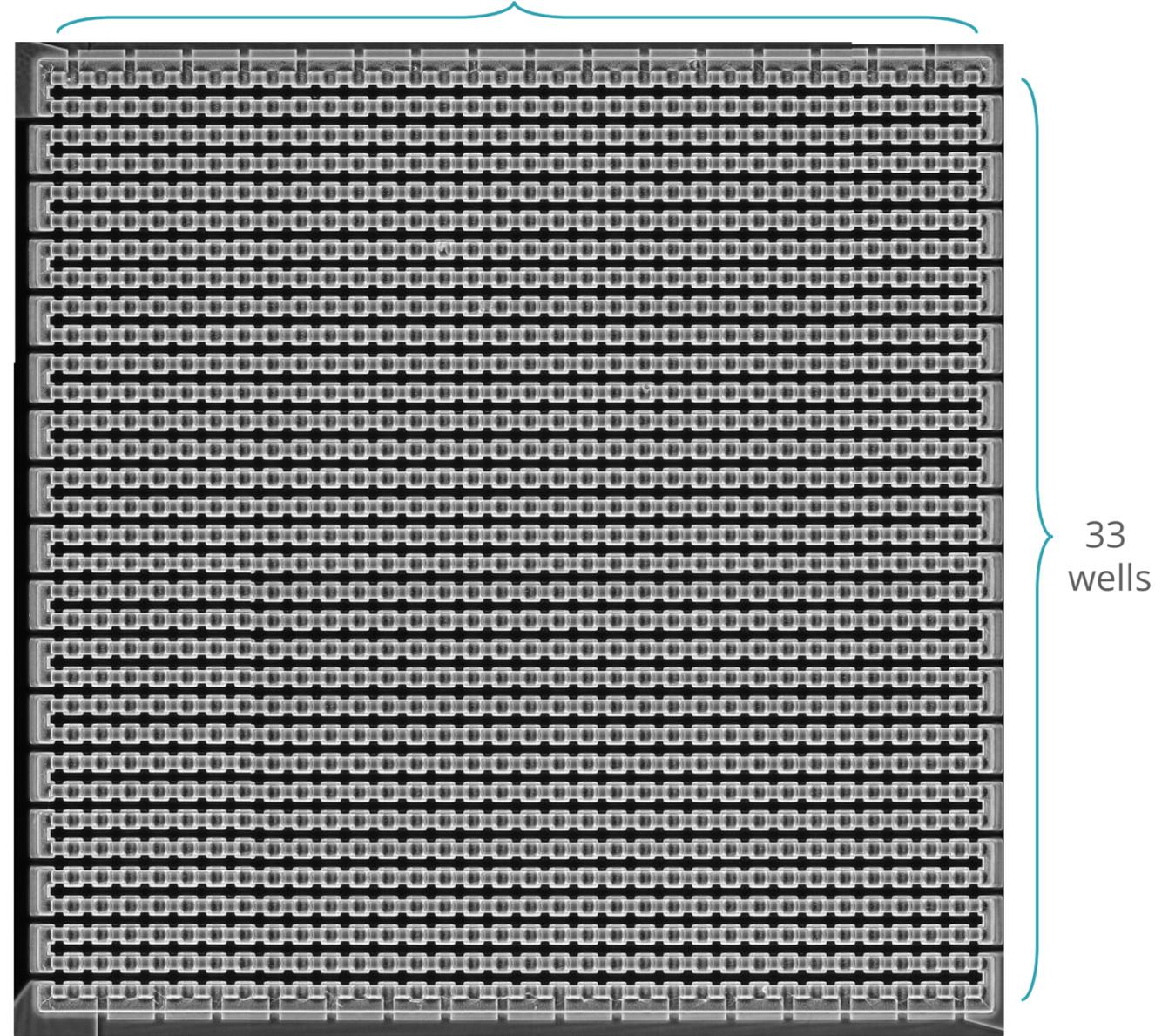
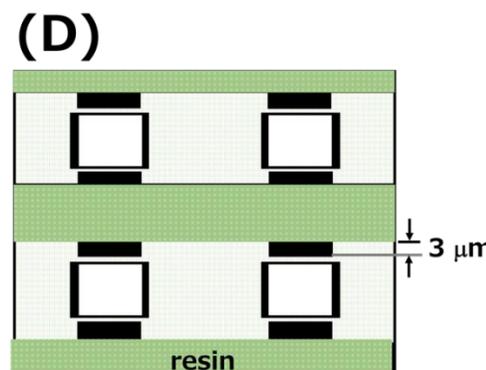
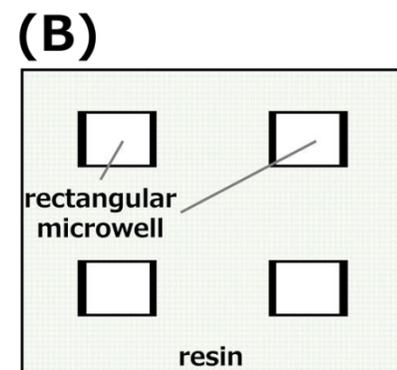
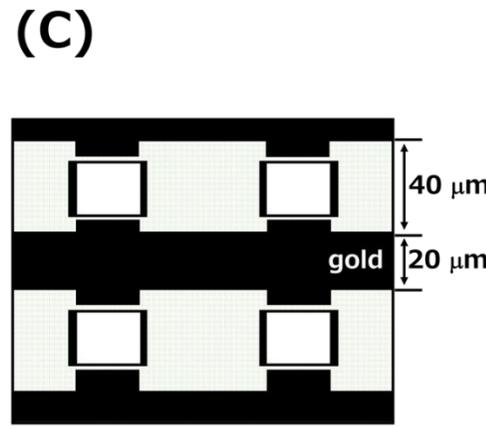
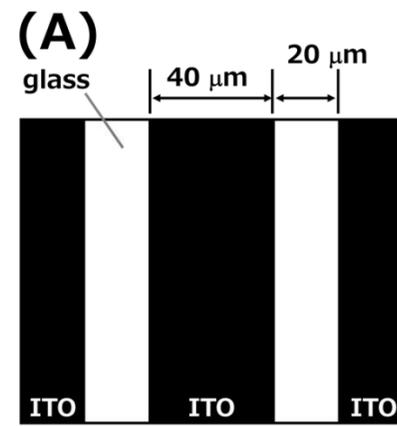
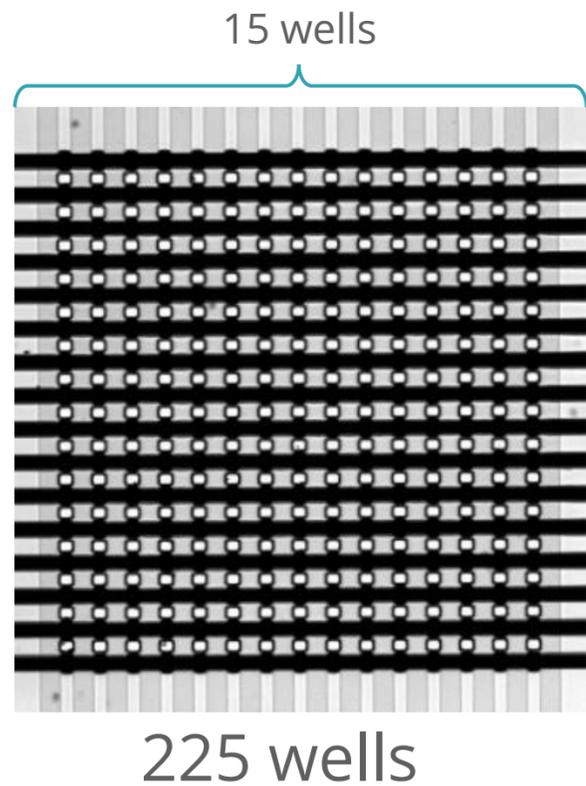


研究成果(1) 電極デバイスの試作

1,000ウェル以上を持つ電極デバイスの試作が完了
低い成功確率, 電極の密着性に課題が発生

外部ファウンドリを活用した
デバイス試作へ切り替え
33 wells

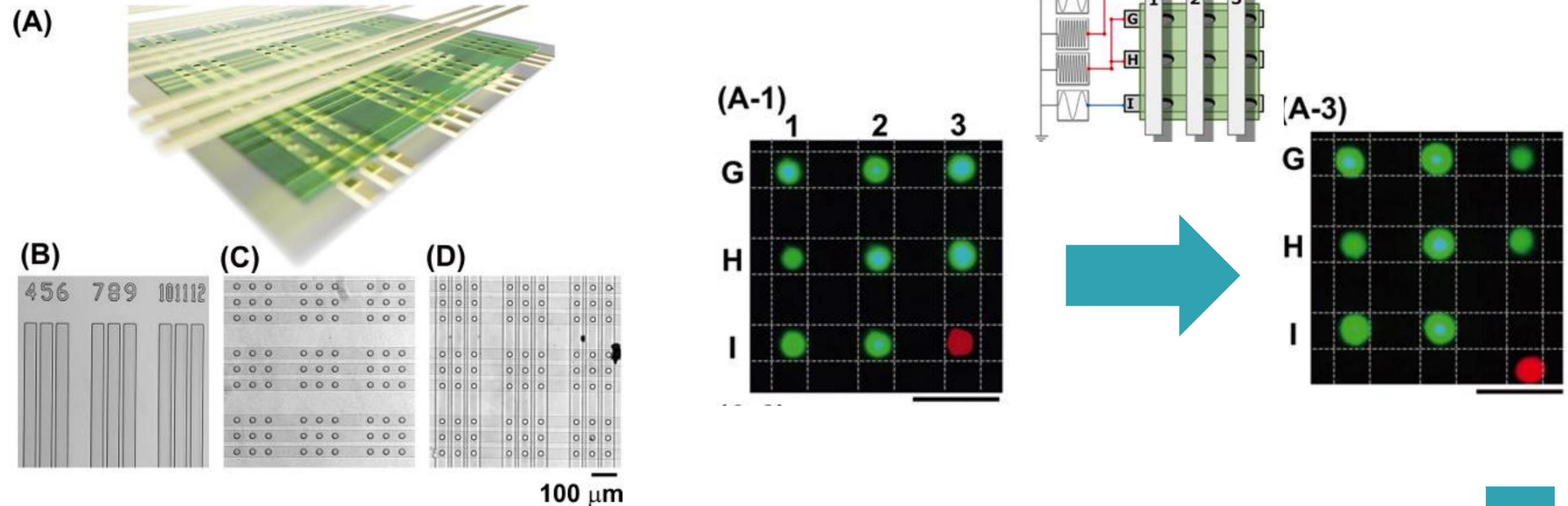
これまでの電極デバイス



1089 wells

研究成果(2)ウエルへの効果的な細胞捕捉法の開発

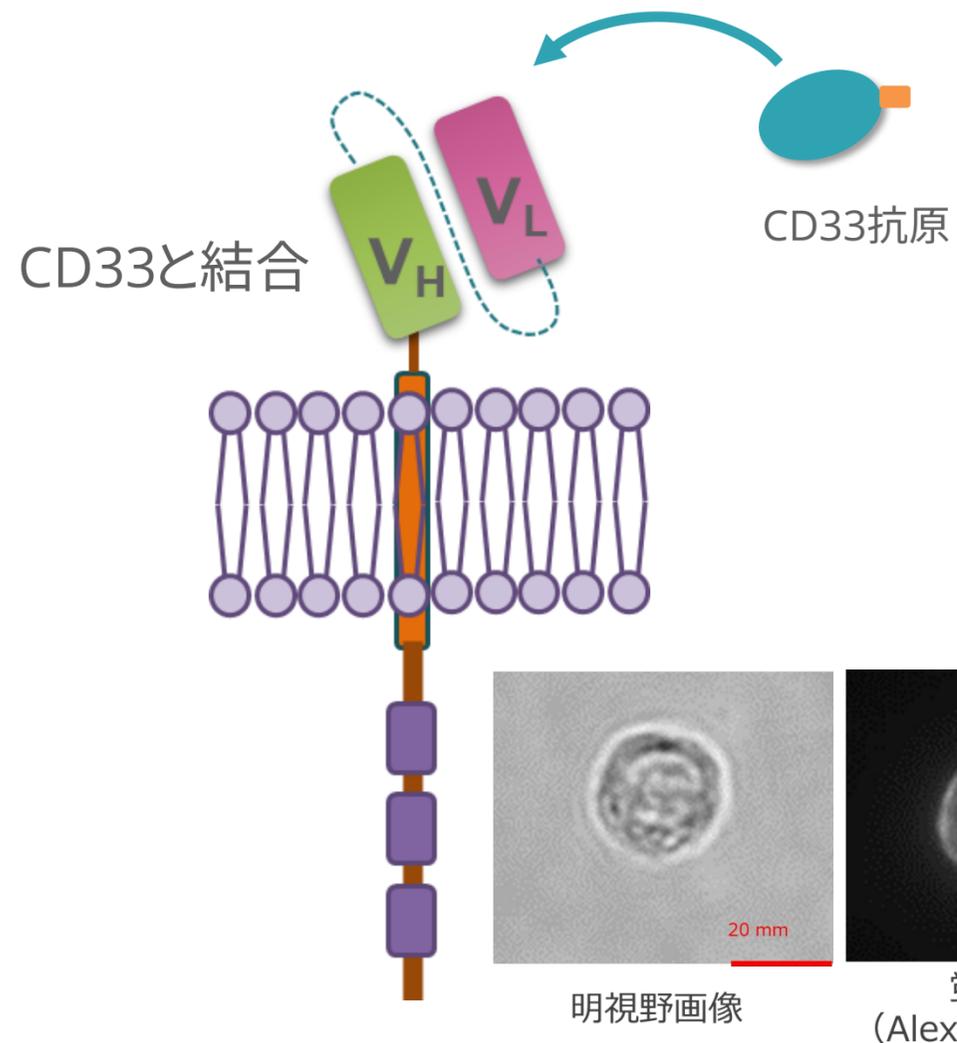
ウエル上部電極を分離させた仮想的な電極デバイスを作製
上下の電極への印加周波数の制御によって
マイクロエルへの補足, 選択的な回収を実証
Anal. Sci.誌に掲載(2021, 37, 803-806), Hot Articleに選定



研究成果(3)

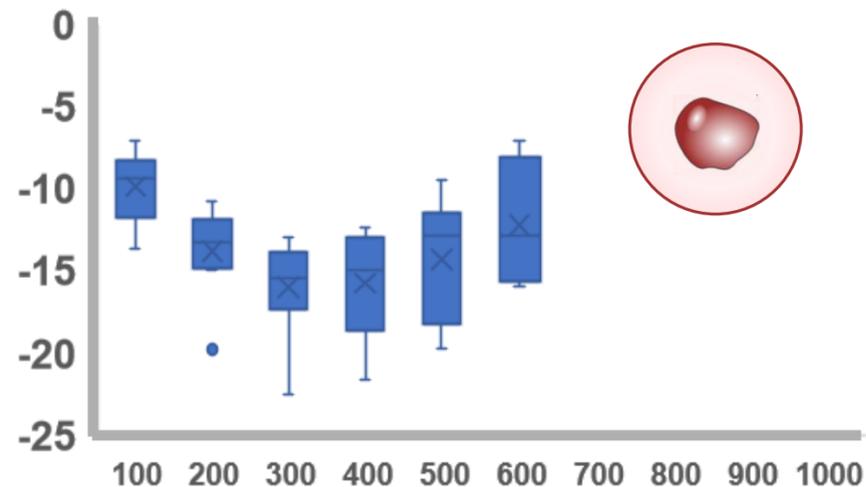
CAR発現T細胞を作製し, 抗原刺激によって回転速度の減少を検出
 回転速度の減少と活性化を結び付ける細胞生物学的検証が必要

CAR
 (Chimeric Antigen Receptor)

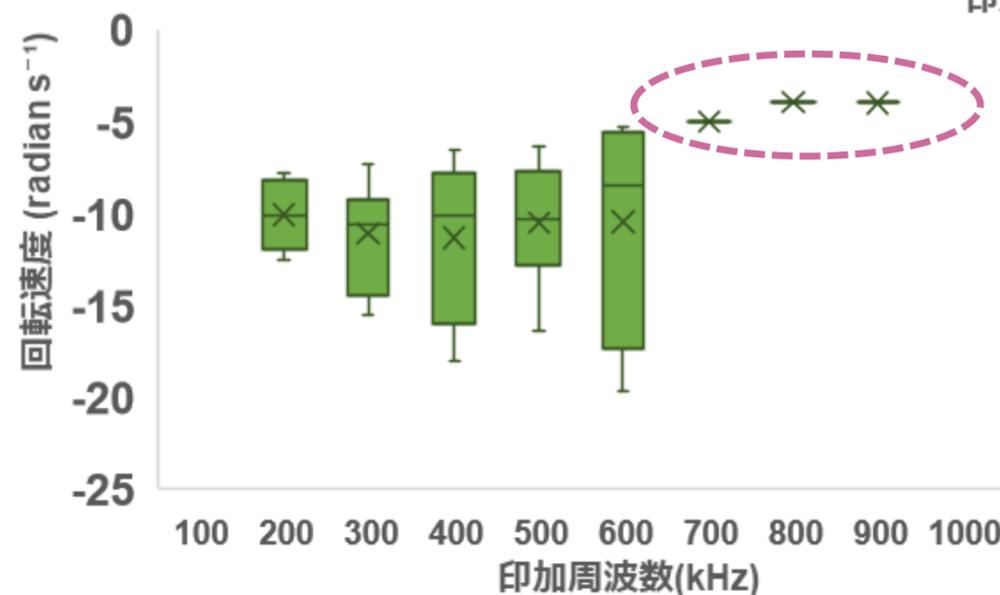
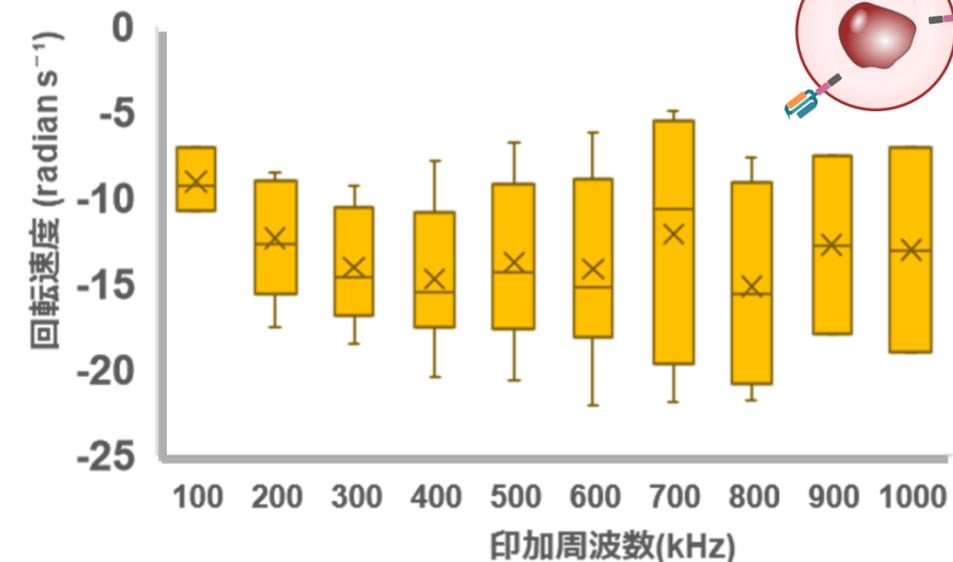


T細胞の電気回転計測

Jurkat T細胞



CAR発現 Jurkat-T細胞



本助成研究に係る対外発表

本事業の成果の一部をイノベーションジャパン2020, メディカルジャパン大阪(再生医療EXPO, 関西広域連合研究成果企業化促進セミナー)で出展し, 実用化に向けた連携先企業の探索を実施

Home > 出展者一覧 > 兵庫県立大学 大学院物質理学研究科 物質反応解析学専攻

兵庫県立大学 大学院物質理学研究科 物質反応解析学専攻 鈴木 雅登 准教授

細胞を回して, 傷つけずに細胞の種類や状態を計測

University of Hyogo Associate Professor Masato SUZUKI

Non-invasive single-cell analysis based on electrorotation

このページを印刷する

持続可能な開発目標 (SDGs) あらゆる年齢のすべての人々の健康的な生活を確保し、福祉を推進する

3 すべての人に健康と福祉を

JST事業成果展示

- > 戦略的創造研究推進事業
- > 知財活用支援事業
- > 研究成果展開事業
- > 「共創の場形成支援」事業
- > 復興支援
- > JSTの情報サービス

国際学会 3件

- M. Suzuki, S. Kawai, T. Yasukawa "A SIMULTANEOUS ELECTROROTATION TO MONITOR DIELECTRIC PROPERTIES OF CELLS STIMULATED BY IONOPHORE" The 25th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Science (μ TAS 2021), T3C-342.a.
- M. Suzuki, S. Kawai, T. Yasukawa: "Simultaneous electrorotation systems to determine the membrane capacitance and cytoplasm conductivity of cells" Dielectrophoresis 2020.1, (2021)
- M. Suzuki, T. Yasukawa, M. Hata: "Discrimination and Selection of Target Cells from the Cell-Based Array Based on Dielectrophoresis" 18th International Meeting on Chemical Sensors, IMCS07-1608, (2021).

再生医療EXPO (2号館セミナー5会場)

2月24日水曜日

移植に頼らず糖尿病の完治を導く新規治療法の開発

滋賀医科大学医学部医学科 教授 小島秀人

糖尿病は1型・2型ともに免疫異常により生じる異常な骨髄由来細胞により引き起こされる造血幹細胞病であり、この異常細胞をなくすことで完治を導くことができる。

発表日時 2月24日 (水曜日) 10:45~11:15

[セミナー資料\(PDFファイル:2.6MB\)](#)

二重標識融合PCRイムノクロマトグラフィーについて

こちらのセミナーはご登壇者のご都合により、中止となりました。

徳島大学 大学院 社会産業理工学研究所 生物資源産業学域 教授 長宗 秀明

融合PCRとイムノクロマトを併用した複数マーカーによる薬剤耐性菌の検出やウイルス型別のための簡便・安価な二重標識融合PCRイムノクロマトグラフィーを紹介する。

発表日時 2月24日 (水曜日) 13:00~13:30

蛍光染色不要な、単一細胞識別用のマイクロデバイス

兵庫県立大学 大学院物質理学研究科 准教授 鈴木 雅登

細胞を染色せずに細胞種を識別する電極チップを報告する。本チップは細胞の電気特性を非接触に計測する。細胞への前処理なく、細胞の動きから簡便に細胞種を識別する。

発表日時 2月24日 (水曜日) 15:15~15:45

[セミナー資料\(PDFファイル:3.2MB\)](#)

現在の展開

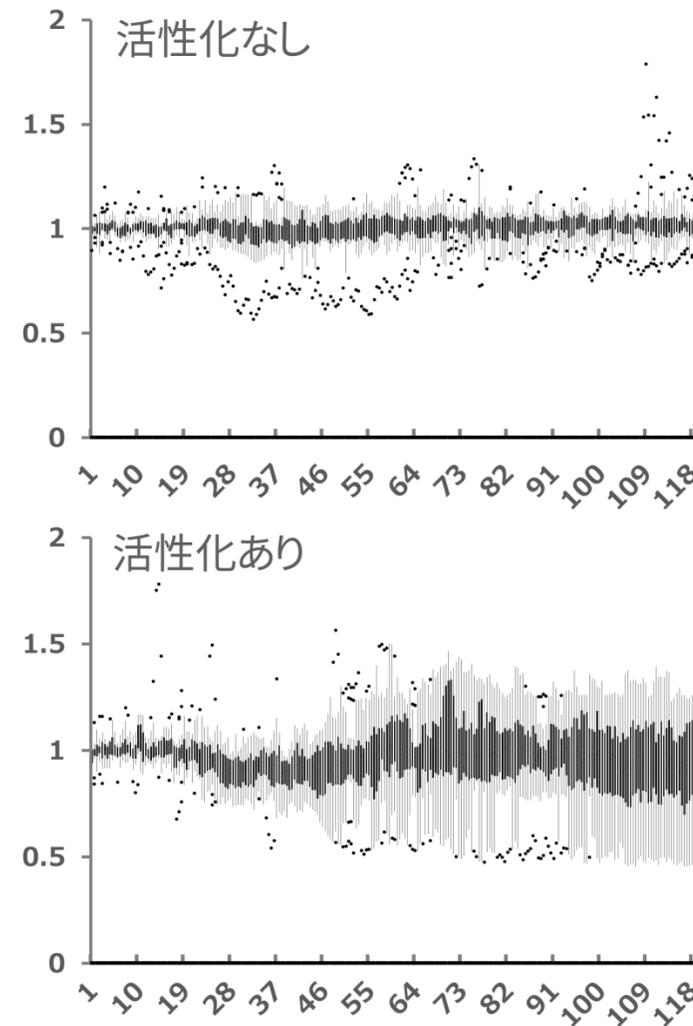
本助成研究の成果を基に、原理検証研究と社会実装化研究へ展開

非侵襲な単一細胞評価装置の具現化研究

回転速度と活性化の細胞生物学的対応付け



- 外部ファウンドリを利用した1,000細胞以上の一括評価が可能な電極デバイス開発.
- 評価細胞の選択的回収が可能な電極印加装置の開発.



- 画像認識による、回転細胞の迅速な回転速度算出技術の開発
- サイトカインの分泌量を指標とした、活性化度と回転速度の対応付け

2020年度 A-step追加公募「トライアウトタイプ」採択

2021年度 京阪神スタートアップアカデミア・コアリション起業家支援プログラム採択

2021年度 先端バイオイメージング支援プラットフォーム採択

2021年度 テルモ生命科学振興財団 研究助成採択

謝辞

- 本助成研究によって、T細胞の活性化を電気回転速度の変化として検出可能な結果を取得できました。
- 1,000細胞以上の細胞に対して一括電気回転を行う、電極デバイスの設計指針を得ることができ、外部ファウンダリへの依頼により電極デバイスの実現が可能であることがわかりました。

以上の研究成果を得ることができ、 公益財団法人 川西記念新明和教育財団へ感謝申し上げます