

## 誘電泳動現象を用いた白血病細胞の分離・同定

研究代表者

今里浩子 一般財団法人ファジィシステム研究所

共同研究者

山川 烈 一般財団法人ファジィシステム研究所



### 1. 研究の背景と達成目標

急性白血病の種類は白血病細胞のタイプにより分類される。そのタイプを確定するための細胞表面マーカー検査では、細胞数が多くなければその細胞の同定はできない。そこで、誘電泳動現象が、ごく少数の白血病細胞同定に利用できるか否かを調べる。

本研究の目標は、誘電泳動現象による細胞同定法の環境整備を行うこととその方法の有用性を確認することである。

### 2. 主な研究成果と社会、学術へのインパクト

- ・デバイス内の電極を、チップ底面ではなく天井に配置することにより、電極間中心線上で、細胞に生じる正の誘電泳動力の測定を容易にした。正の誘電泳動現象の場合、従来のデバイスでは、細胞が電極エッジに付着してしまうので、誘電泳動力の測定は困難であった。しかし、本研究の方法により、その誘電泳動力を直接測定することが可能となった。その結果、誘電泳動の正負の判定のみならず、細胞同定への応用も可能となる。
- ・誘電泳動デバイス中にある特定細胞 1 個の密度(比重)を、その細胞をデバイスから取り出すことなく測定する方法を考案し、正常・異常白血球(白血球タイプ:顆粒球と B-リンパ球)の密度を測定した。従来の方法(密度勾配を利用した多層式重層遠心分離法)は、多数の同一种細胞を必要としたので、少数の細胞分離には不適であった。しかし、この方法により、狭い空間における特定細胞 1 個の密度を容易に測定することが可能となった。これによって、単離細胞の研究が大いに促進されることが期待できる。
- ・厚さ 1mm のスライドグラスに微細貫通孔(片面最小孔直径 30 $\mu$ m)を開ける技術を実現した。この技術は、MEMS において、ガラスやシリコンウェハに微細孔を開ける技術として、利用範囲は非常に広い。

### 3. 研究成果

- ・血液の無形成分である血漿を電気伝導度の低い Zimmermann 細胞融合液で希釈し、細胞膜破壊や赤血球凝集を生じさせない溶液混合比率を調べた。細胞に対して低侵襲で、かつ誘電泳動現象を生じやすい溶液比率は、4:6 であることが確認できた。また、この溶液に細胞を浮遊させ、高周波電圧を一定時間印加し、細胞内容物の溶出の有無を確認した。溶液の電気伝導度変化を観察することにより、30KHz~10MHz までの周波数領域において、印加電圧 6.5Vpp までは細胞内容物の溶出は確認されなかった。
- ・30KHz~10MHz の周波数領域における各白血球の誘電泳動特性を調べた。異常 B-リンパ球 (BALL-1:急性 B-リンパ球性白血病細胞)は 30KHz で負の誘電泳動を呈したが、それ以外はほとんどが正の誘電泳動を呈するというを確認した。しかし、その誘電泳動力に差異が確認されたので、この差異を利用した細胞同定が可能であることがわかった。

- ・ 抹消血から白血球を遠心分離し、誘電泳動デバイス内に入れると、細胞活性により、細胞の形状変化が生じる。これを抑えるために、誘電泳動デバイスに温度調節可能な冷却機能を付加した。また、電極を底配置(図 1.(a))ではなく、天井配置(図 1.(b))にすることにより、電極間中心線上における正の誘電泳動力を測定することが容易となった。
- ・ 誘電泳動力を測定するには細胞の密度が必要である。誘電泳動デバイス(チャンバー深度: 100 $\mu$ m)内にある特定細胞1個の密度測定法を考案した(これは計画では考慮されていなかった実験である)。この方法は、誘電泳動デバイスから細胞を取り出すことなく、特定細胞1個の密度測定を可能にする。この方法を用いて、正常・異常の顆粒球およびB-リンパ球の密度を測定した。各白血球の平均密度は、正常顆粒球で1.076g/cm<sup>3</sup>、異常顆粒球(HL-60:急性前骨髄性白血病株)で1.042 g/cm<sup>3</sup>、正常B-リンパ球で1.052 g/cm<sup>3</sup>、異常B-リンパ球(BALL-1:急性B-リンパ性白血病株)で1.043 g/cm<sup>3</sup>であった。
- ・ 細胞抽出に必要な基本技術である微細孔形成法を考案し、厚さ1mmのスライドガラスに微細貫通孔(片面最小孔直径30 $\mu$ m)を実現した。

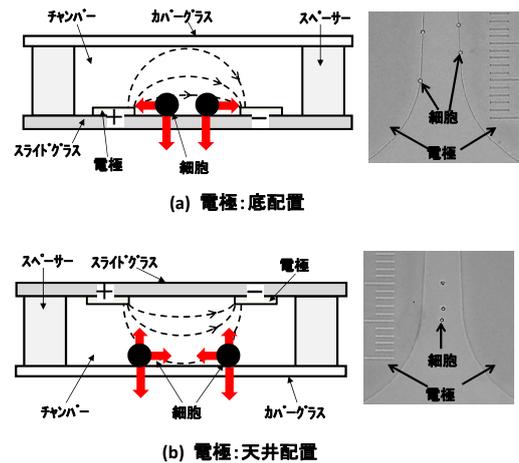


図 1. 電極配置と電極間中心線上における細胞の挙動

#### 4. 今後の展開

今後、誘電泳動力による細胞同定法を確立するために、異常細胞の種類を増やし、異常細胞同定用マップの精度を向上させる。また、この方法の有用性が確認されれば、この機能を有する装置の開発を進める予定である。この装置が開発されれば、急性白血病の早期発見および早期診断を実現する可能性が生じる。

#### 5. 発表実績

- [1] Hiroko Imasato, Takeshi Yamakawa, "Method for Measuring the Specific Gravity of a Particle to Calculate Its Dielectrophoretic Force," Proceedings of the 24<sup>th</sup> Annual Conference of Biomedical Fuzzy System Association, pp.201-206, 2011.
- [2] Masanori Eguchi, Hiroko Imasato, Takeshi Yamakawa, "Separation of Particles by Combining Dielectrophoresis and Traveling-wave Electroosmosis under Inclined Gravity," Proceedings of the 24<sup>th</sup> Annual Conference of Biomedical Fuzzy System Association, pp.195-200, 2011.
- [3] 江口正徳, 今里浩子, 山川烈, "血中細胞の同定を目指したシーリング・クリークギャップ電極における正の誘電泳動力の測定," バイオメディカル・ファジィ・システム学会誌 Vol.13, No.1, pp.49-56, 2011.
- [4] Hiroko Imasato, Takeshi Yamakawa, Masanori Eguchi, "Separation of Leukemia Cells from Blood by Employing Dielectrophoresis", Intelligent Automation and Soft Computing, Vol.18, No.2, pp.139-152, 2012.
- [5] Masanori Eguchi, Hiroko Imasato, Takeshi Yamakawa, "Separation of Particles by Combining Dielectrophoresis and Traveling-wave Electroosmosis under Inclined Gravity," Intelligent Automation and Soft Computing, Vol.18, No.2, pp.121-137, 2012.
- [6] Hiroko Imasato, Takeshi Yamakawa, "Measuring the Mass Density of a Target Blood Cell to Calculate Its Dielectrophoretic Force," World Automation Congress 2012 (WAC2012), 2012. 他 3 件