

空間情報付与一括切断技術で 2次元バイオサンプルの汎用空間解析を実現する

香川大学 創造工学部
教授 寺尾 京平

2024年9月12日

バイオ分野でシングルセル空間解析市場が誕生し、成長著しい一方、マルチオミクス解析への展開が課題となっている

■ 背景

- ✓ 疾患や生命機能のシングルセル（1細胞）レベルでの研究が進む
- ✓ 1細胞の解析結果と空間情報を紐づける空間解析が強く求められる
- 👍 シングルセル解析で5000億円規模
- 👍 空間解析は萌芽期で460億円
(年平均成長18%, 2022年)

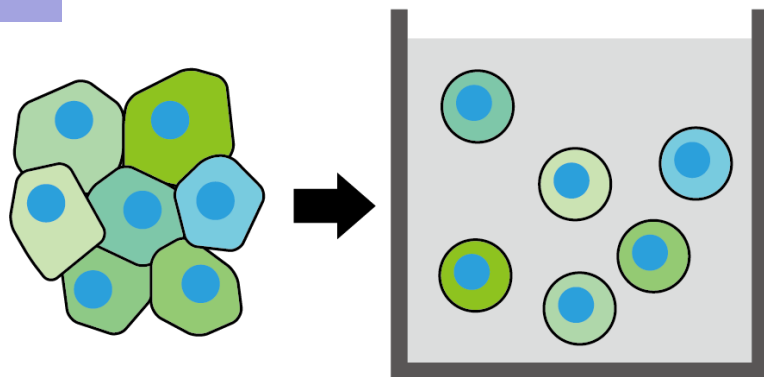
■ 現状課題

- ✓ 限定された解析対象と定量性
- 👍 空間解像度と解析網羅性・
定量性の両立

主要な空間解析装置メーカー
10x genomics社, NanoString社, Vizgen社（米）

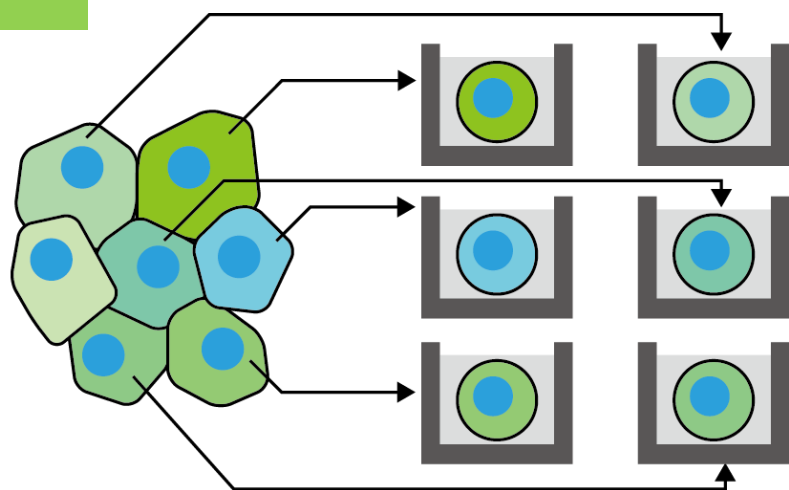
シングルセル空間解析を求めるユーザーに あらゆる分析対象で空間解析を可能にするサンプリング技術を提供する。

従来



空間情報の欠如

提案



■ 実現方法①

- ✓ 直接サンプリングによる、装置や手法を問わない解析（分割して試験管に回収）

■ 実現方法②

- ✓ 空間情報と紐づけたサンプリング（どこからとった細胞か分かる）

■ 実現方法③

- ✓ 微小サンプルの一括回収（一度に大量に回収する）

ブレードアレイデバイスで細断し、空間情報を紐づけて回収する技術を開発

	微小サンプリング技術			提案手法
	フロー サイトメトリー	マイクロ マニピュレーション	レーザー マイクロ ダイセクション	
空間情報	なし	あり	あり	あり
スループット	非常に高い	低い	低い	高い
課題	空間情報の 欠如	低スループット ~100 cells/h	低スループット ~100 cells/h レーザー損傷	

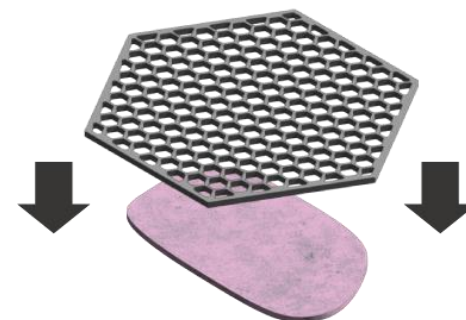
- ✓ ブレードアレイデバイスの製造と微小切断
- ✓ 切断サンプルからの一括液中回収
- ✓ 微小断片の空間情報紐づけ
- 👍 直接回収による高い網羅性と定量性
- 一括切断回収による高スループット

空間情報と紐づけた微小領域の細胞微小サンプリング

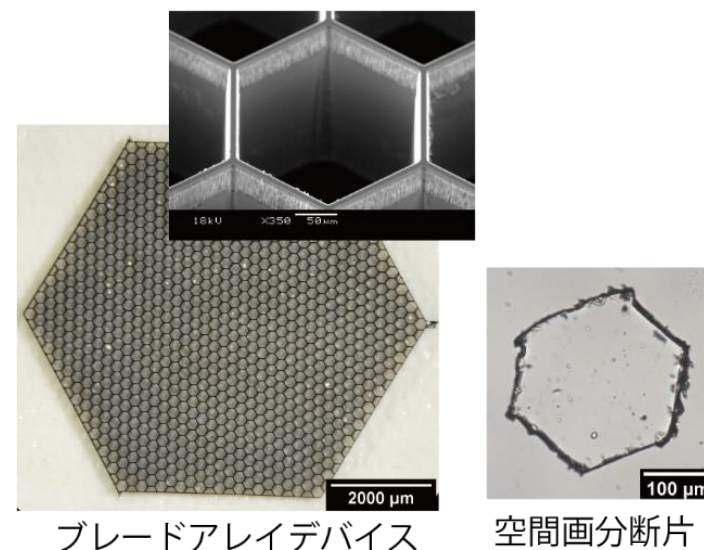
STRENGTHS

1. 組織スライスを一括で微小断片に切断
 - ✓ 無数の刃が並んだブレードアレイデバイスで「一振多刀多断」
2. シングルセルサイズまで断片を微小化
 - ✓ 半導体微細加工技術でブレードの小型化
3. 断片と組織スライス上の位置情報を紐づけ
 - ✓ 空間情報紐づけの自動化

ブレードアレイデバイス



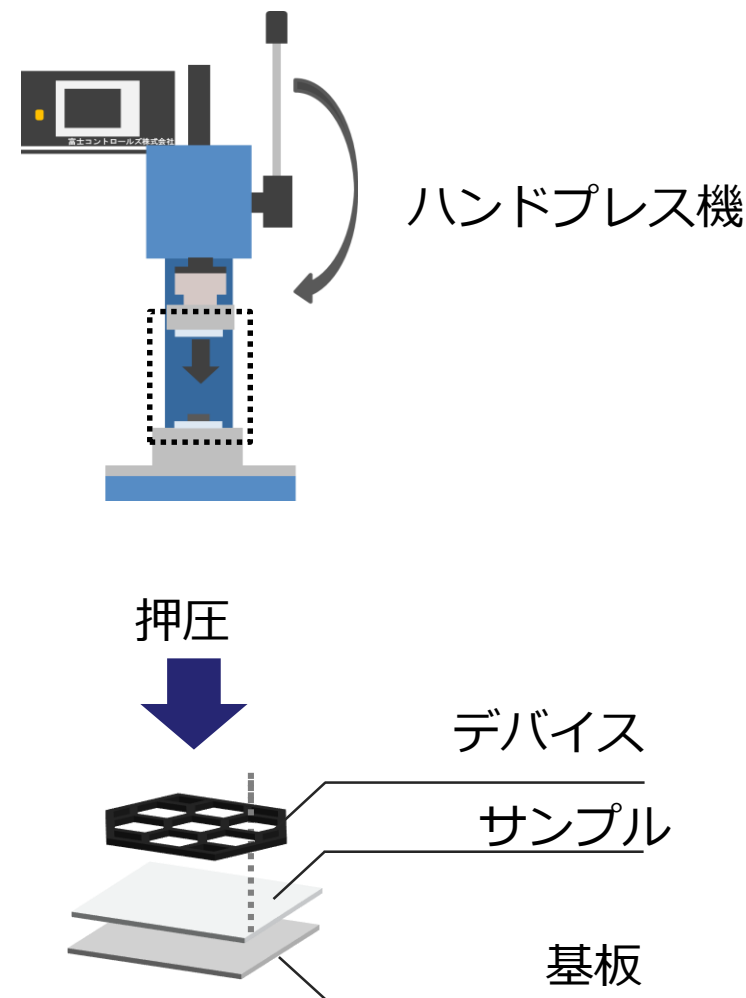
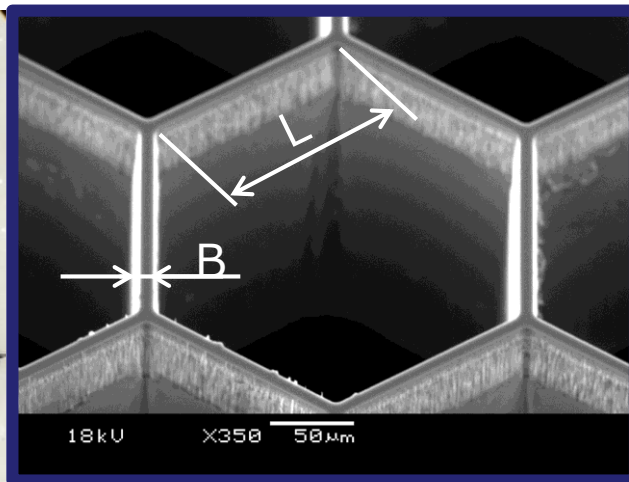
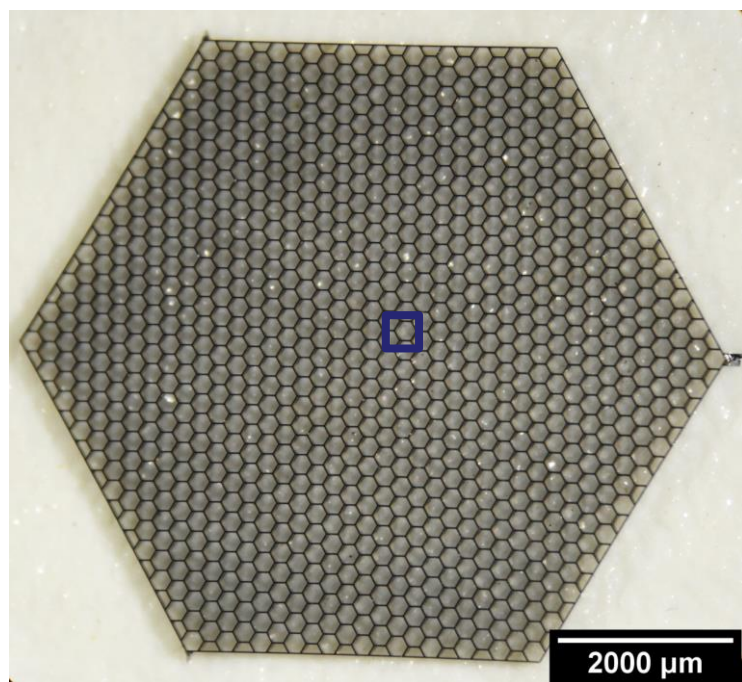
組織スライス



ブレードアレイデバイス

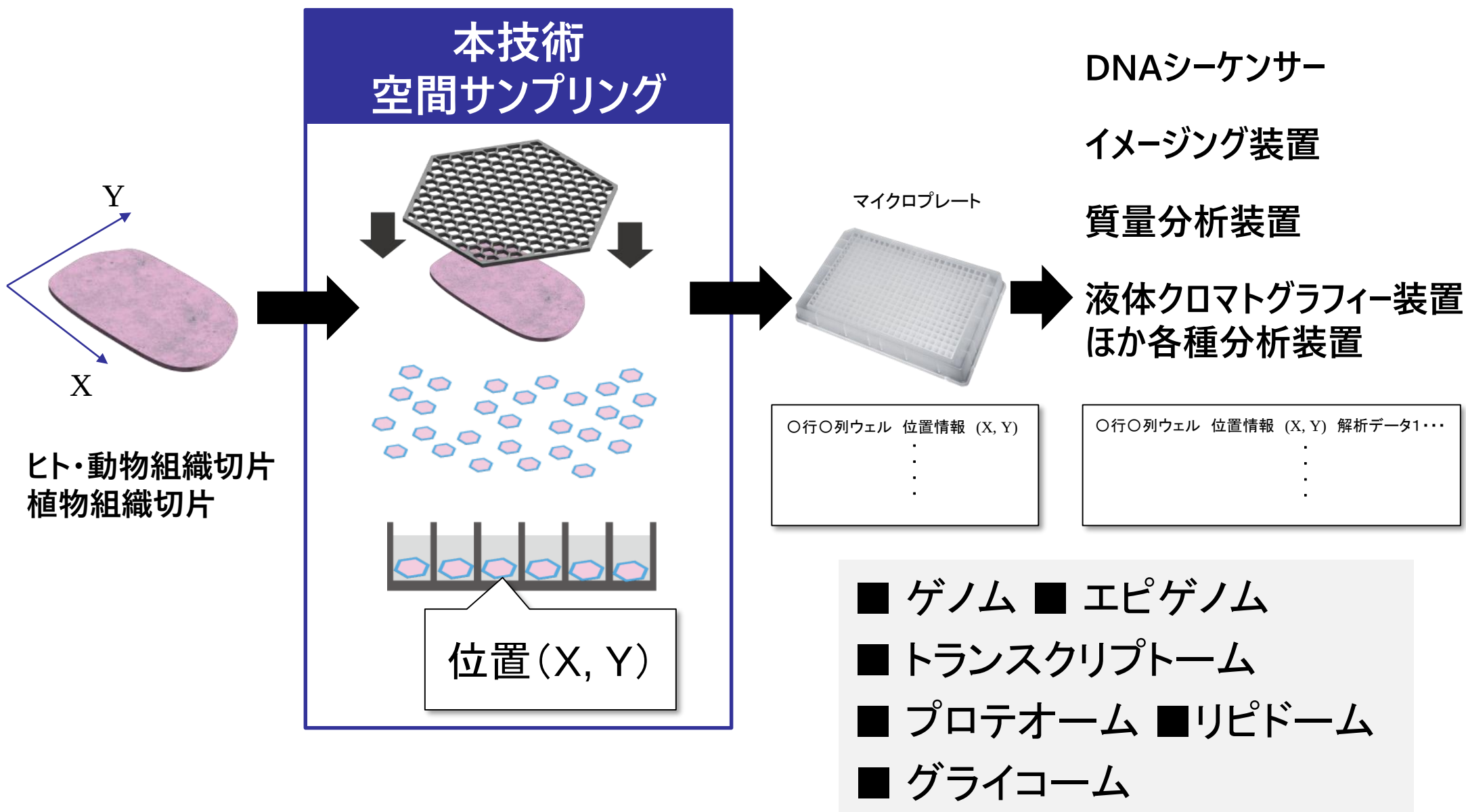
空間画分断片

簡便な手法でサンプルを微小断片に分割する ブレードアレイデバイスの物理的押圧



	区画辺L [μm]	ブレード幅B [μm]
設計	121	15
計測	125±1	9±0

想定用途：様々な解析に適用できる汎用前処理装置



以下のような製品への応用を想定しています

USE CASE

1. 研究用細胞サンプリング装置

- ✓ がん研究
- ✓ 再生医療研究
- ✓ 植物研究
- ✓ その他生命科学基礎研究

2. 臨床検査用細胞サンプリング装置

- ✓ がんゲノム・遺伝子発現検査

3. 受託解析サービス

- ✓ 装置を利用した上記研究分野の受託解析

以下のような業界の企業ご担当者様と意見交換を期待しています

1. 分析測定装置業界

- ✓ 細胞空間サンプリング製品を分析前処理装置として共に開発
- ✓ 液体操作、自動化、ユーザーインターフェース、システム化
- ✓ 分析装置との適合性の評価

2. 実験自動化・研究用実験機器業界

- ✓ 液体操作・自動化の共同開発
- ✓ 画像解析法の開発

3. 製薬・再生医療業界

- ✓ 組織切片試料の解析評価

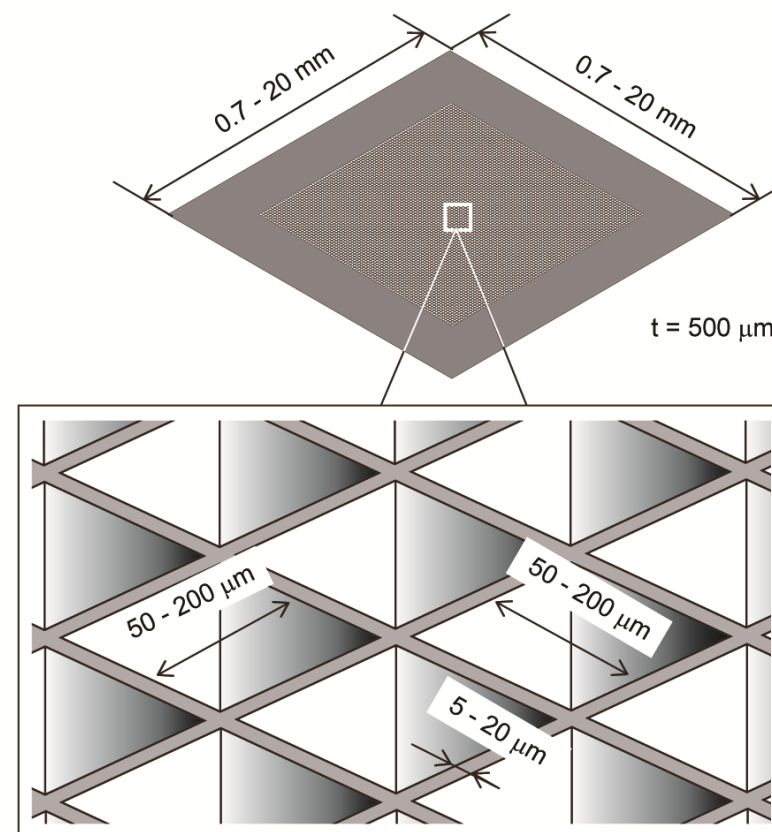
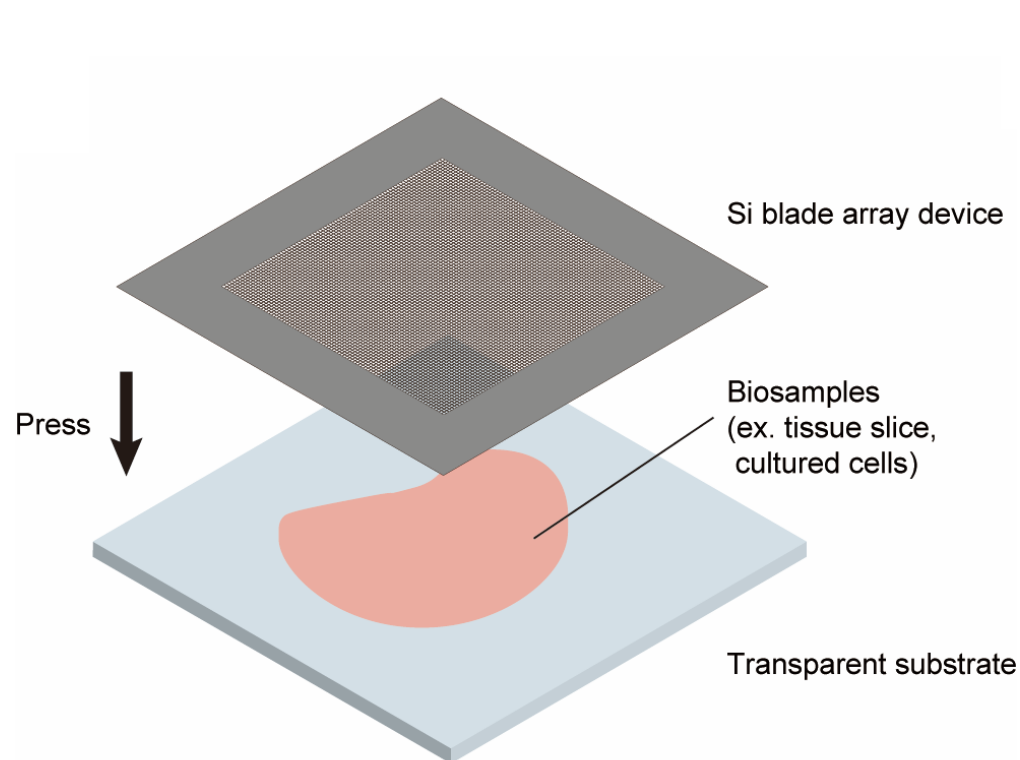
実現状況と実用化に向けた課題

実施済

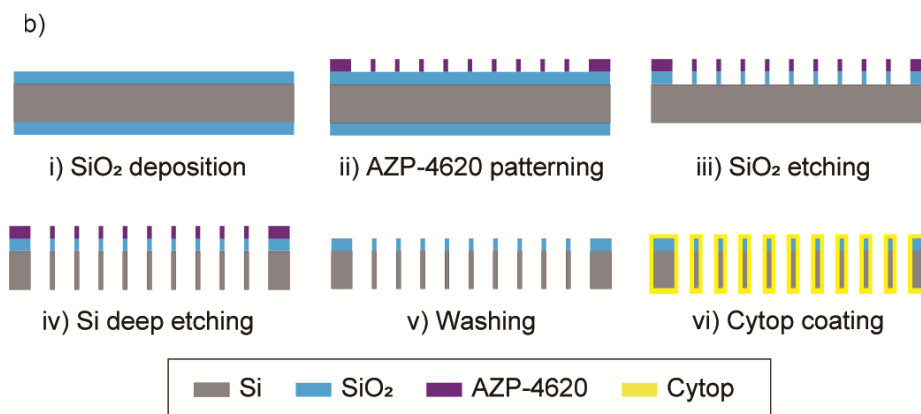
実施・検討中

1. ブレードアレイデバイス開発
幅200 μ m区画貫通型Siデバイスの作製
ブレードアレイデバイスの低コスト化
2. 組織切断
樹脂シート・固定組織切片（マウス腎臓）の切断実証（幅200 μ m区画）
他組織切片の切断評価
3. 空間情報の付与
原理の実証（特許申請済）
付与処理の効率化
4. 回収サンプルの解析
DNAシーケンサー・質量分析による測定

ブレードアレイデバイス | Siマイクロ加工

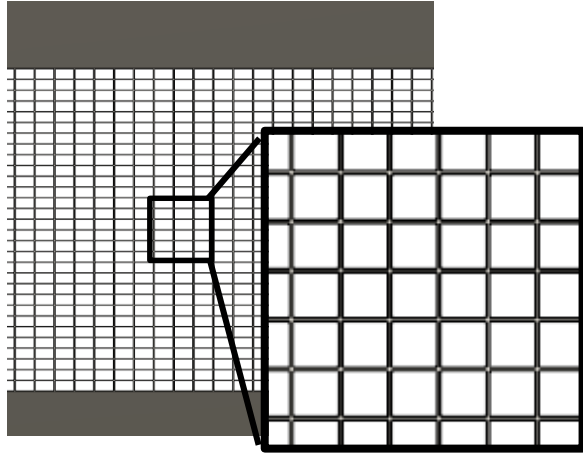


シリコン加工プロセスにより
貫通孔型のアレイデバイスを作製

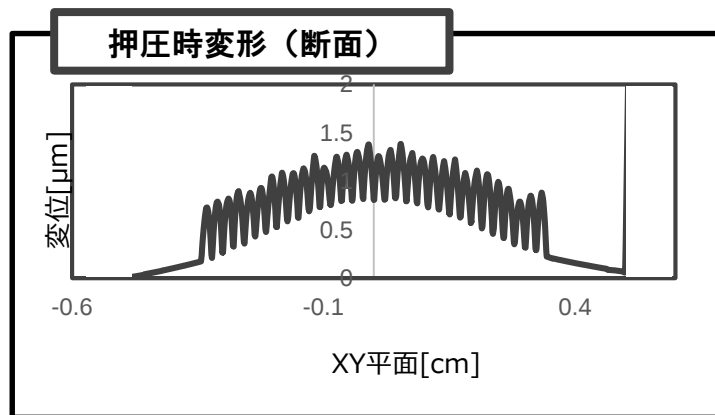


目的に応じたブレードアレイデザイン

フレームグリッドアレイ

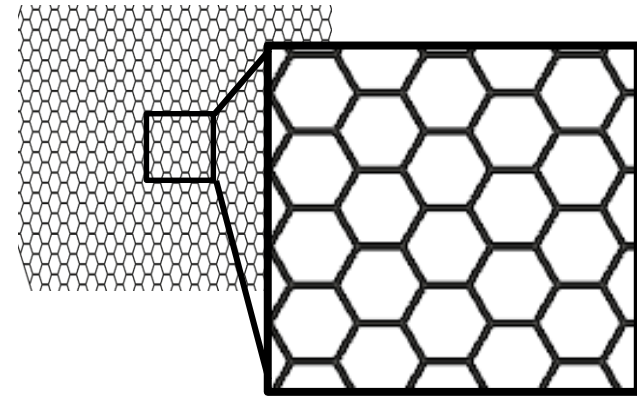


区画数	区画辺	区画面積	ブレード幅
1024区画	200 μm	40000 μm^2	15 μm

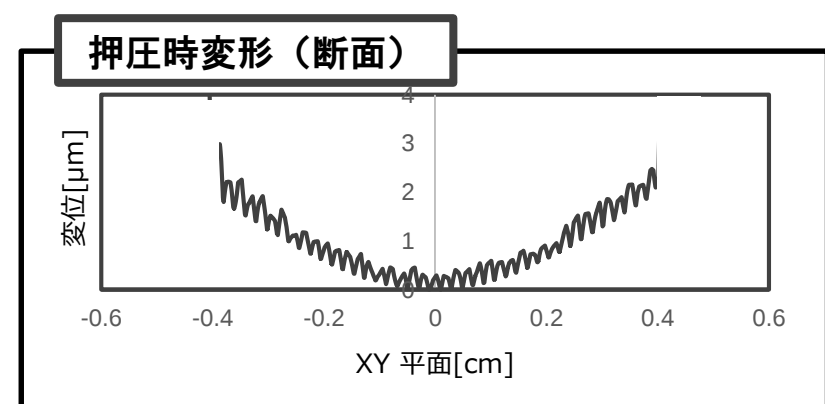


衝撃に対する強度：高
試料切断性能：低

フレームレスハニカムアレイ



区画数	区画辺	区画面積	ブレード幅
931区画	121 μm	38252 μm^2	15 μm



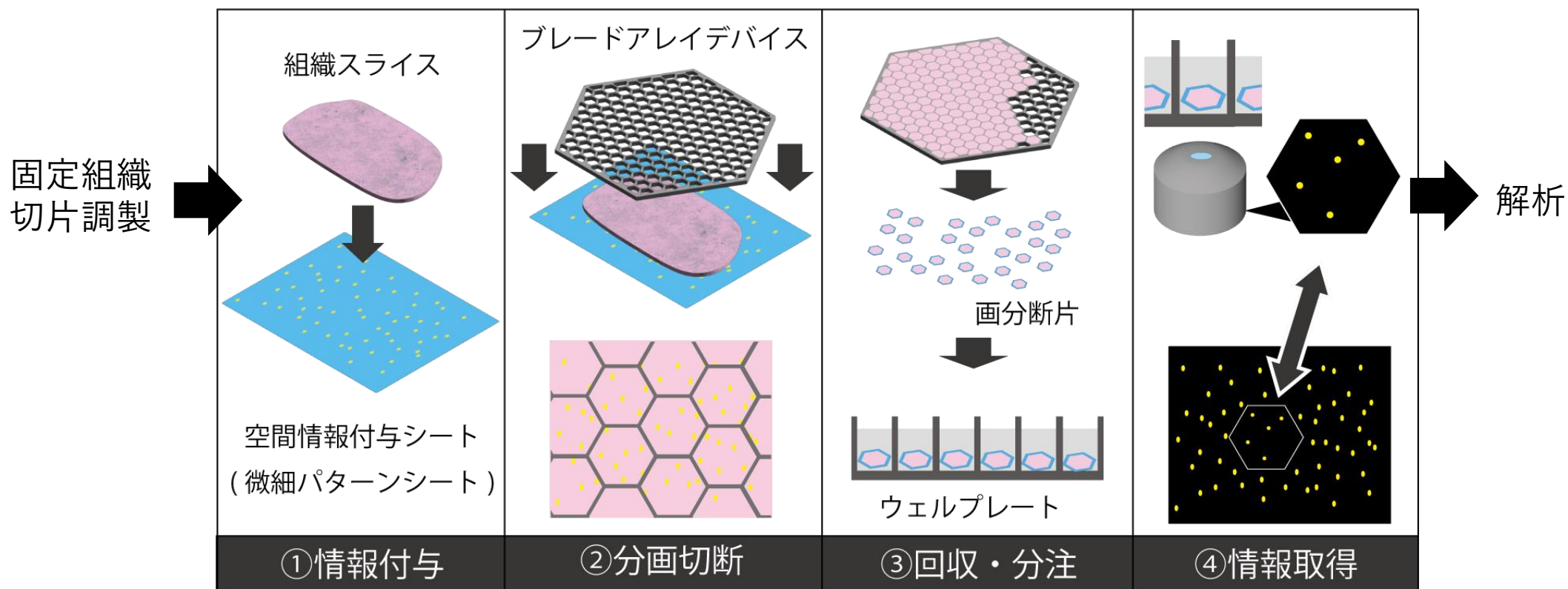
衝撃に対する強度：低
試料切断性能：高

空間解析の工程 ①網羅空間解析 ②特定区画解析

①網羅空間解析

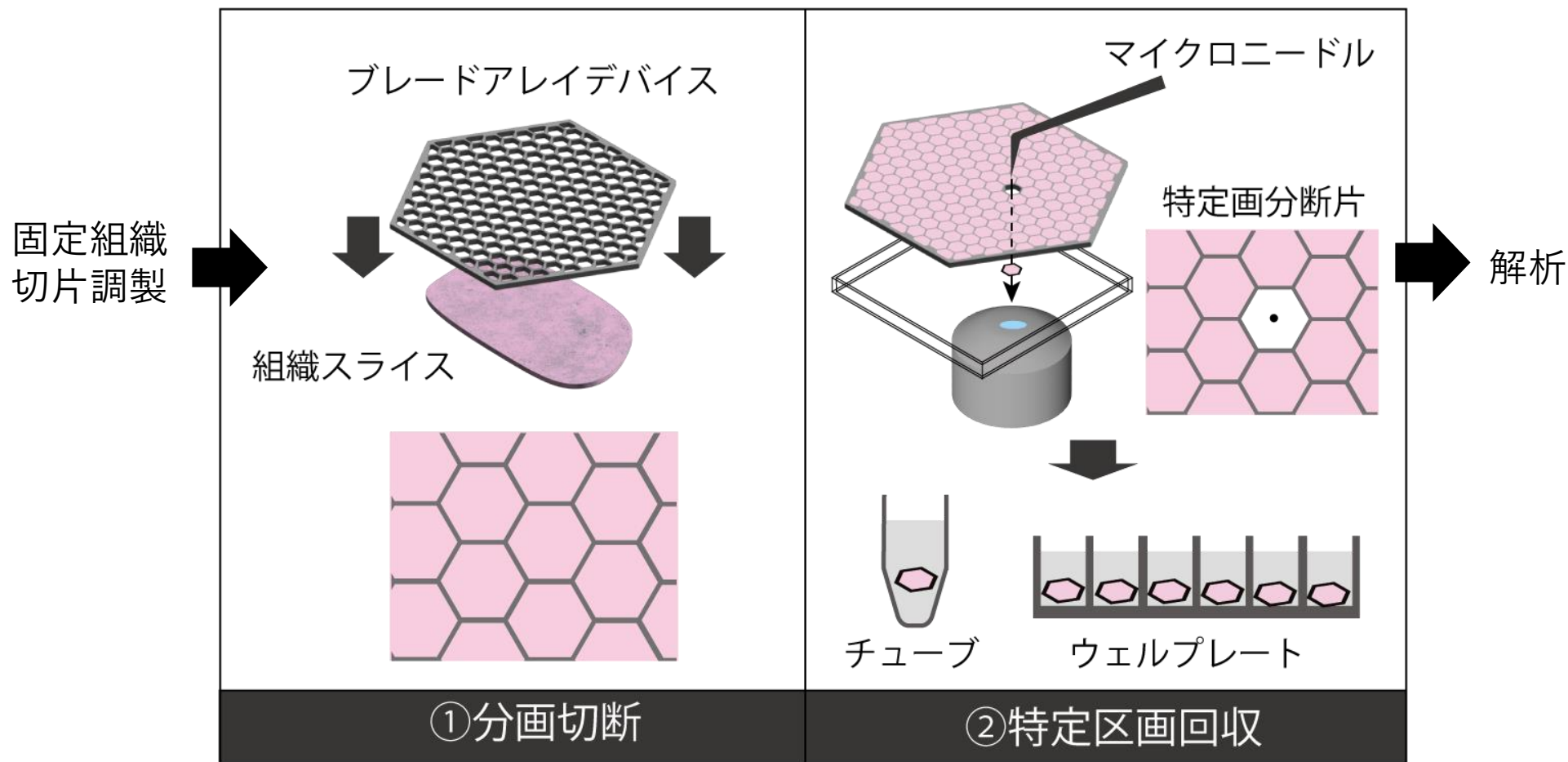
固定組織の広範囲を網羅的に回収

✓ フレームレスハニカム

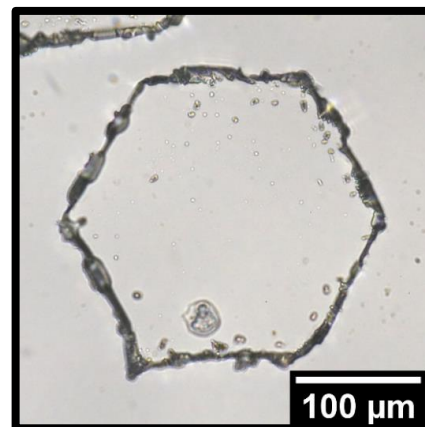
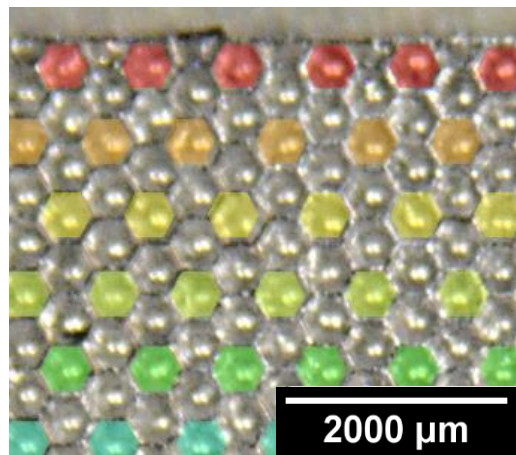


空間解析の工程 ①網羅空間解析 ②特定区画解析

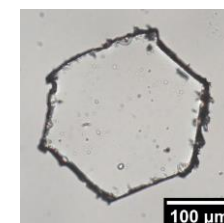
②特定区画解析 特定の標的領域のみ逐次回収 ✓ フレームレスハニカム



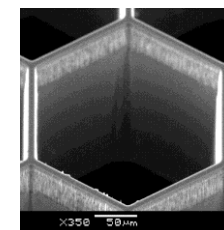
ブレードアレイデバイスによるシート試料一括切断分画・回収



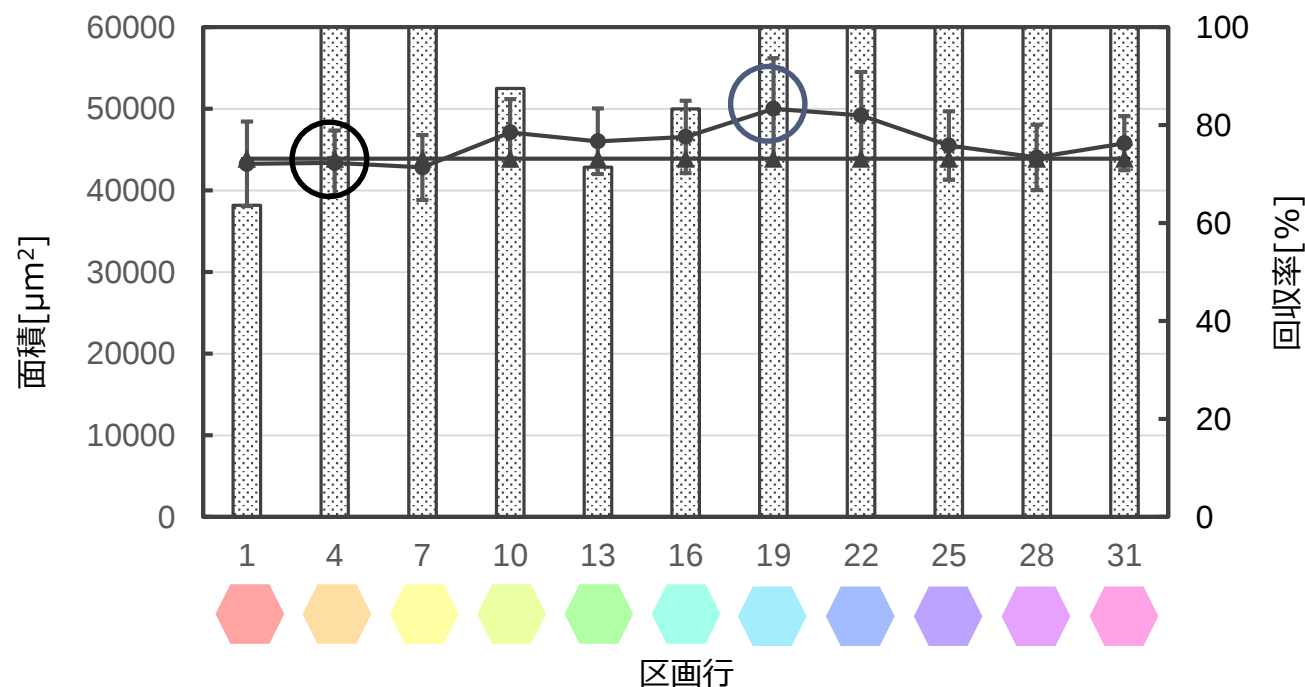
● 分画PDMSシート



▲ Honeycomb BLAD
区画面積

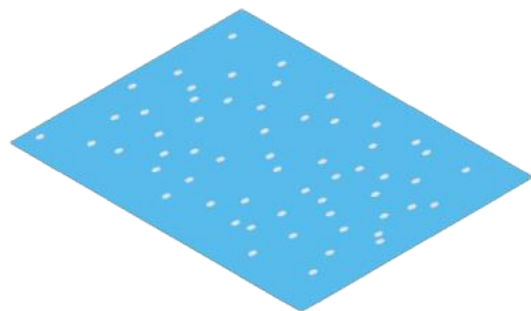


□ 回収率

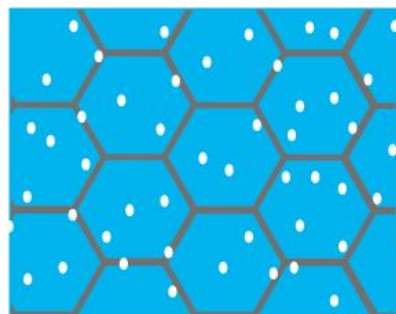


網羅解析のための空間情報一括付与シート

ランダムパターン

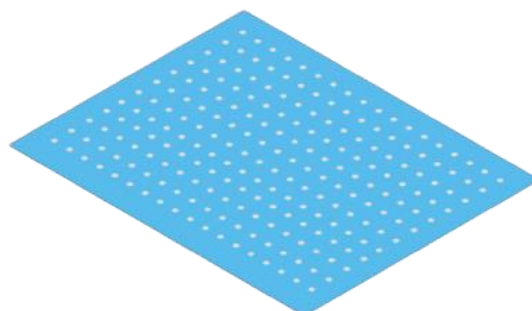


ランダムな
ドットパターン

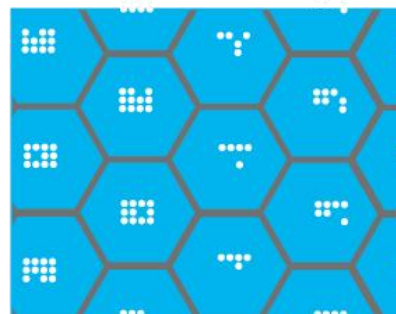


- ✓ パターンマッチングによる位置取得が必要
- ✓ 微細化に適する

アドレスラベルパターン



アドレス情報を
パターンとして成形



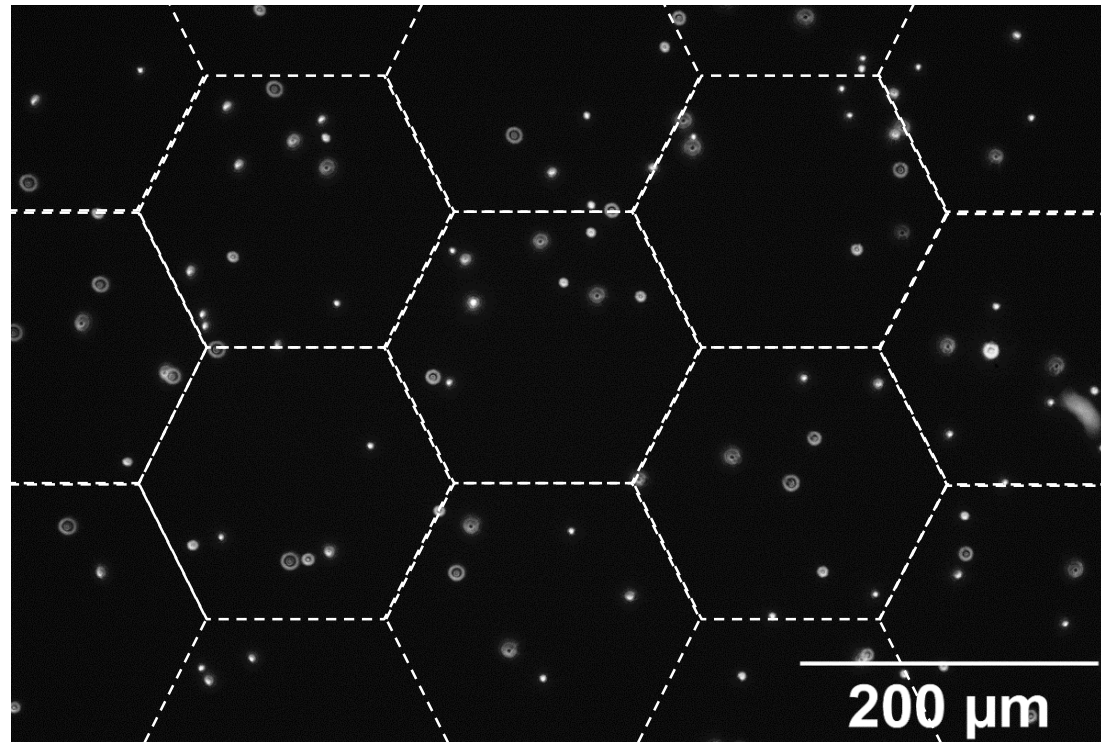
- ✓ 位置情報を直接取得可能
- ✓ 微細化は加工精度・コストに依存

固定組織の広い範囲を網羅的に回収し解析する用途に適する

ランダムパターンシート：蛍光マイクロビーズのシート内分散

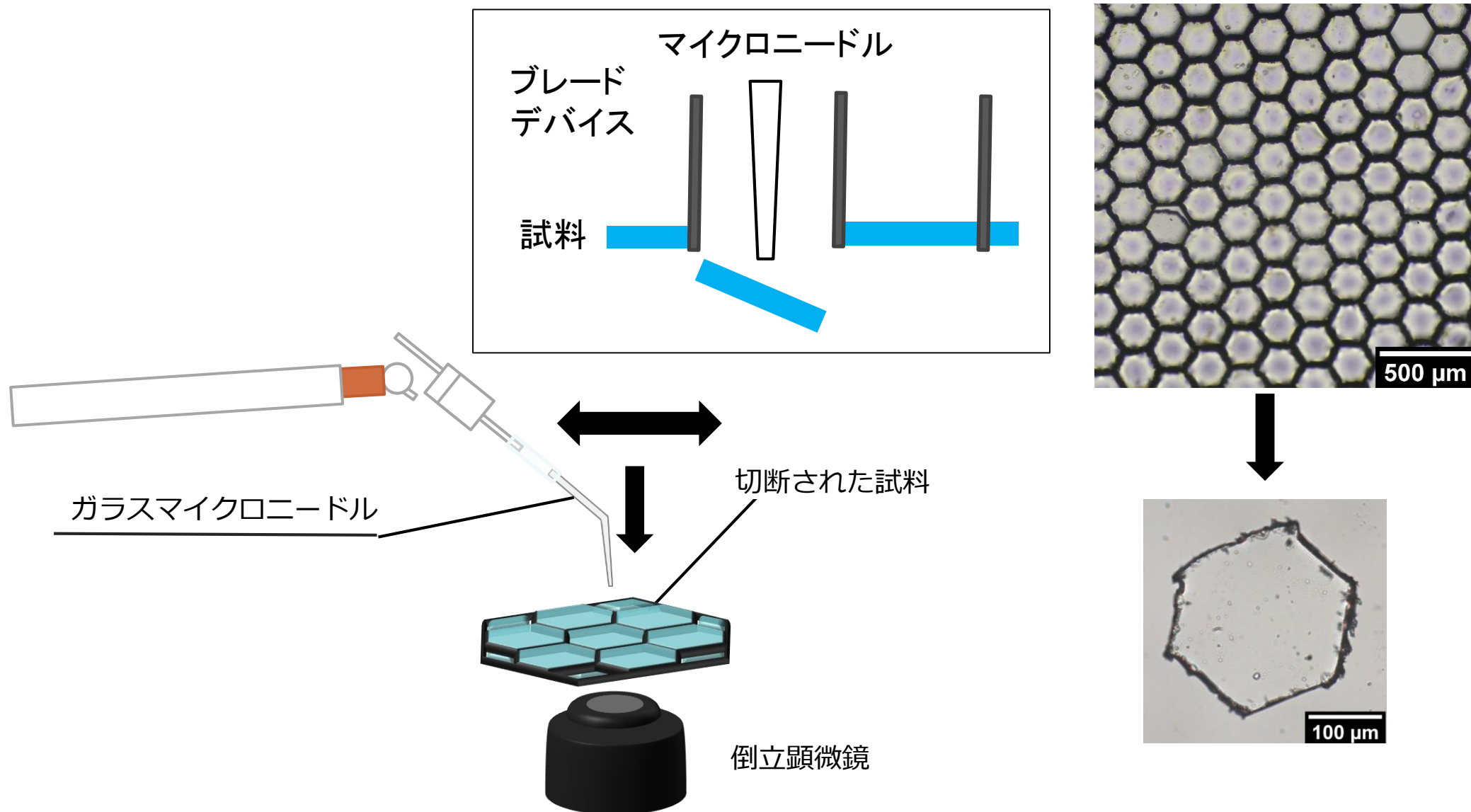
1 区画内に平均個数11.8個入る蛍光ビーズ密度 $8.67 \times 10^3 \text{ particles/mm}^3$

1 区画に蛍光ビーズが存在する確率：99.992%



切断可能な薄膜内に蛍光ランダムパターンを簡便な手法で製作

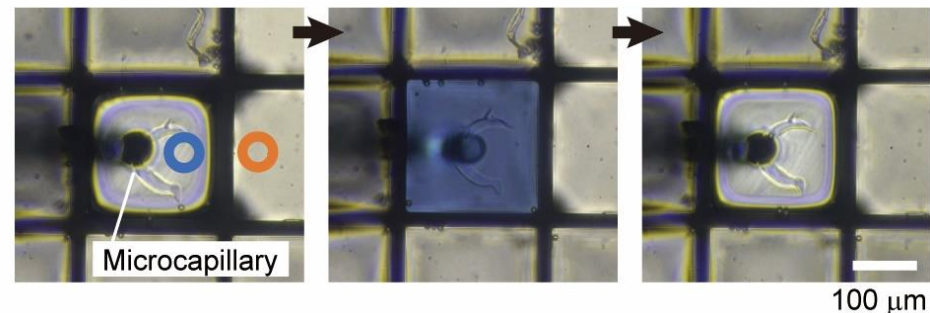
固定試料の特定領域切断片の逐次回収



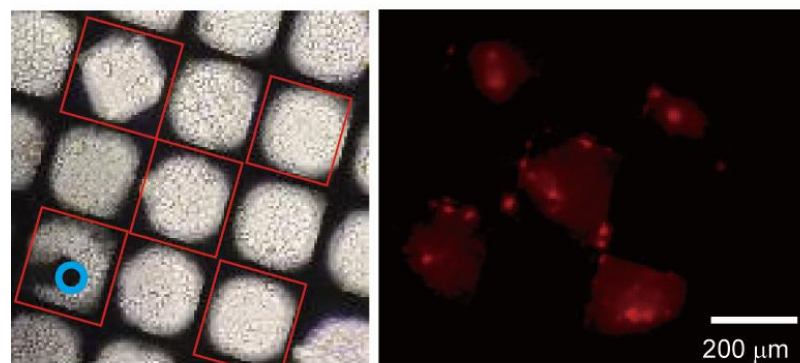
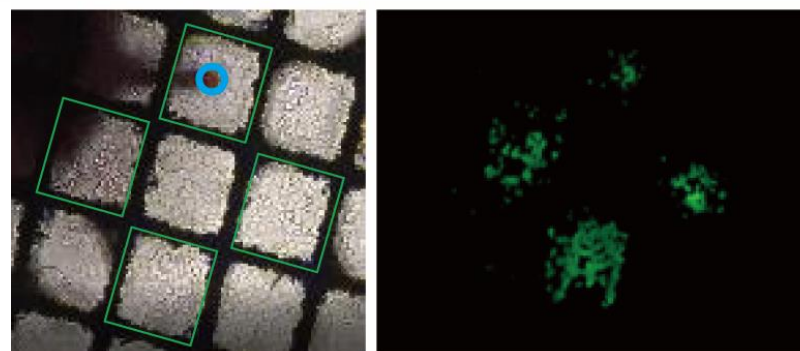
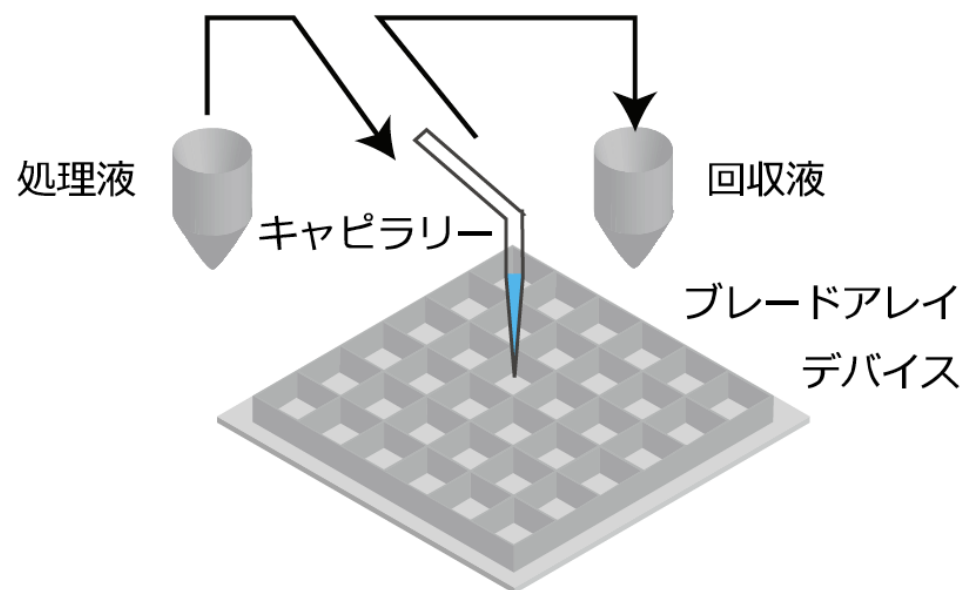
特定の空間位置の固定組織断片のみを解析する用途に適する

生細胞に対しても特定領域の回収が可能

- ✓ フレームグリッド
- ✓ フレームレスハニカム

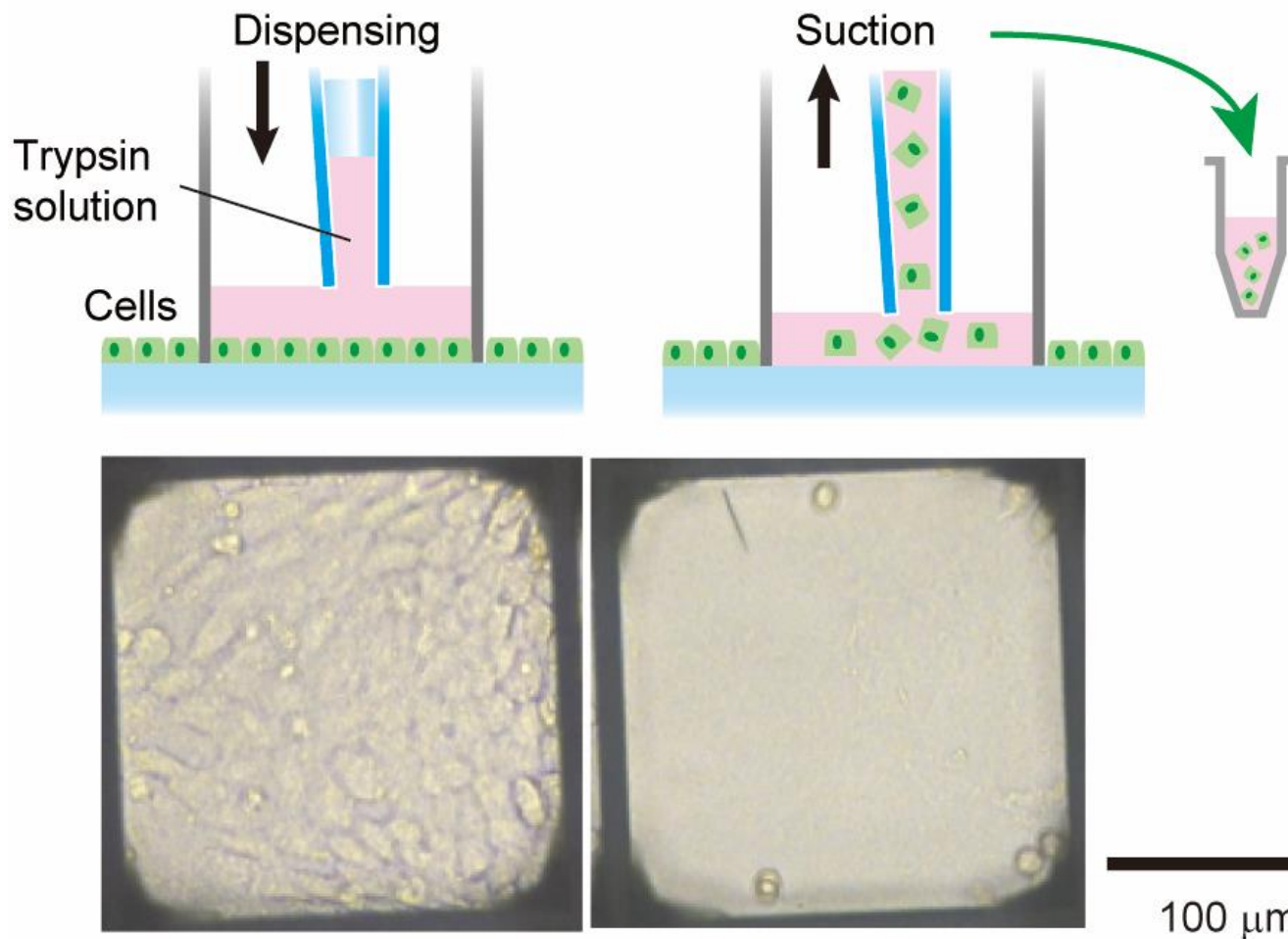


デバイスを押圧保持した状態で
特定領域にマイクロキャピラリーで
液吐出・吸引回収



- Microcapillary
- Section applied CellTracker™ Green
- Section applied CellTracker™ Red

特定領域生細胞の液処理と回収



空間的に限定された標的区画の細胞集団を生きた状態で回収
生細胞集団の空間解析や空間的薬液処理が可能

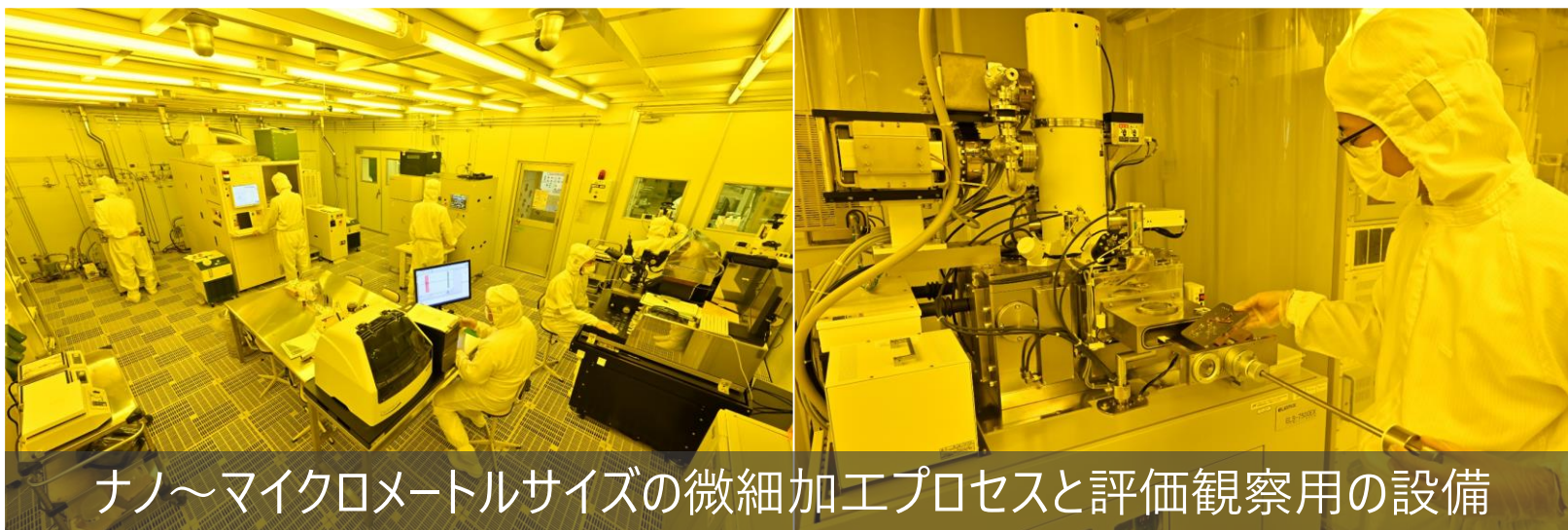
本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 空間情報付与シート、空間分画装置、および画分断片回収方法
- 出願番号 : 特願2023-189899
- 出願人 : 香川大学
- 発明者 : 寺尾京平/植田光貴/平井大地

- 発明の名称 : 細胞空間分画装置および微細構造刃
- 出願番号 : 特願2013-160041 (特許6238397号)
- 出願人 : 香川大学
- 発明者 : 寺尾京平/竹村祐人

産学連携の経歴

- 2014年-2018年 JSTさきがけ事業に採択
- 2017年-2018年 Y社と共同研究実施
- 2020年-2021年 T社と共同研究実施
- 2022年- JST創発的研究支援事業に採択
- 2023年- NEDO若サポに採択
- 2024年- 文科省ARIM香川大業務主任



ナノ～マイクロメートルサイズの微細加工プロセスと評価観察用の設備

お問い合わせ先

香川大学産学連携・知的財産センター／
(株)テクノネットワーク四国（四国TLO）
吉本 篤規

T E L 087－832－1694
e-mail licence_info@s-tlo.co.jp