

磁気ビーズによる生体物質分離用磁気分離

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/16942

磁気ビーズによる生体物質分離用磁気分離

山田 外史, 柿川 真紀子, Chomsuwan Komkrit
自然計測応用研究センター 人間計測制御研究部門

1. はじめに

細胞や DNA といった生体関連物質の分離技術は、細胞分析等の分野において必須の技術であり、近年注目されている再生医療の分野においても種々の臓器に分化可能な間葉系幹細胞を骨髄中から取り出す必要があるなど、分離技術の重要性は増している。従来、これらの分野での分離技術としては、密度差による遠心分離や光学的特性を用いた FACSs (Fluorescence Activated Cell Sorters) が用いられて来たが、近年では磁気ラベリング技術の急速な進展に伴い、簡易な装置で物理的・化学的に低ダメージの分離を行うことが可能な磁気分離技術も広く用いられるに至っている。

磁気分離では、直径 1~5 μm の鉄酸化物を含んだポリスチレン製のビーズに分離対象物を抗原抗体反応により選択的に結合させ、それらを磁力で回収することで分離を行う。磁力による回収過程では、従来分離容器を用いたバッチ処理的な方法が用いられて来たが、分離工程の自動化の要求に応えるため、流量 1 μl /min 程度で連続的に分離を行える装置が開発されている。本研究では現状で開発されている装置と比較して高スループットを実現できる磁気分離装置を設計・試作し、磁気ビーズによる分離実験を行った。

2. 磁気分離装置の動作原理

本研究で作製した磁気分離装置の概要図を Fig. 1 に示す。分離容器 (Fig. 2) には、1 カ所の注入口と 2 カ所の取出口 (Positive selection と Negative selection) があり、注入口から容器内に入った磁気ビーズには、1) コイル磁界から発生した磁力による x 軸正方向への移動、2) 液体に流されることによる y 軸正方向への移動、3) 重力による z 軸負方向への沈降が同時に発生する。その結果、容器内において磁気ビーズは Positive selection 側に濃縮され、それにより磁気ビーズの分離が可能となる。

コイルの形状を決定するにあたっては、ビオ・サバール則に基づく磁界計算により、最適な形状を求めた。また、分離効率を高めるために、沈殿時間と磁気分離に要する時間を考慮し、分離容器は以下の条件を満たすよう設計した。

$$\frac{w}{2v_m} < \frac{l}{v_f} < \frac{h}{v_s} \quad (1)$$

ここで、 v_m, v_f, v_s はそれぞれ磁力による磁気ビーズの速度、液体の速度、磁気ビーズの沈殿速度である。 w, l, h はそれぞれ分離容器内の幅、長さ、高さである。

3. 磁気ビーズによる分離実験

3.1 装置構成と手順

Fig. 3(a) に試作した分離装置の外観写真を示す。分離実験では、コイル電流は Table 2 の組み合わせとし

た。実験用磁気ビーズとしては、SPHERO 社製CM-10(Fig. 3(b))を超純水で20 倍希釈したものを使用した。分離後は、それぞれのOutlet から得られた磁気ビーズ含有液体の顕微鏡画像から、画像中の磁気ビーズ個数を画像処理ソフトウェアにより数えた。

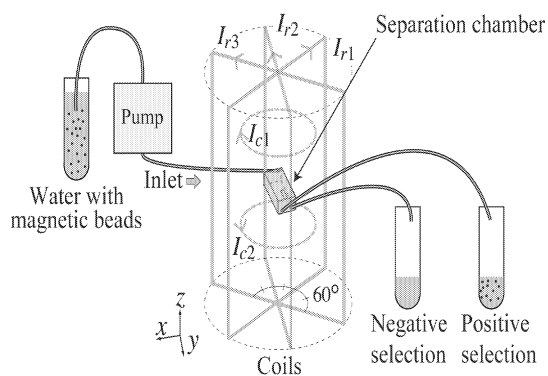


Fig.1. Schematic of proposed magnetic separator

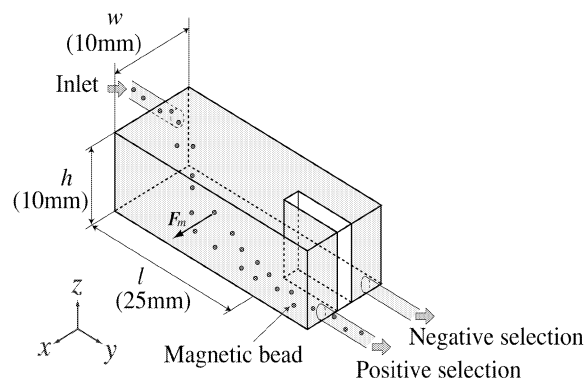


Fig.2. Enlarged illustration of separation chamber

3.2 装置構成と手順

Fig. 4 に注入流量が 178 $\mu\text{l} / \text{min}$ のときの分離前後の磁気ビーズ画像(鮮明化処理後)を示す。この図より、分離処理後は Positive selection から多数の磁気ビーズが取り出されていることが容易にわかる。分離率 ξ_s として、次式のように定義した場合の各流速における分離率は Fig. 5 のようになる。

$$\xi_s = \frac{N_p}{N_p + N_n} \times 100 (\%) \quad (2)$$

ここで、 N_p, N_n はそれぞれ Positive および Negative selection での磁気ビーズ個数である。磁界非印加時は Outlet から同様に磁気ビーズが得られ、磁界印加時は Positive selection から多数の磁気ビーズが得られていることがわかる。

4. まとめ

本研究では、他の従来の連続処理型分離装置に比べて高スループットの分離装置の構造を提案し、コイルおよび分離容器の設計・試作を行った。また、磁気ビーズを用いた分離実験の結果、注入流量が 100 - 180 $\mu\text{l} / \text{min}$ のときに分離率 ξ_s は 90 %以上が達成された。

参考文献

- 1) W.Maeda,S.Yamada,M.Iwahara,“Development of a Magnetic Separator for Biomaterials Labelled by the Magnetic Beads”,APSAEM06 (2006).
- 2) 前田航, 山田外史, 岩原正吉, 「磁気ビーズによる生体物質分離用磁気分離装置の開発に関する検討」, 日本応用磁気学会論文誌, 31, 3, 268-272,(2007).

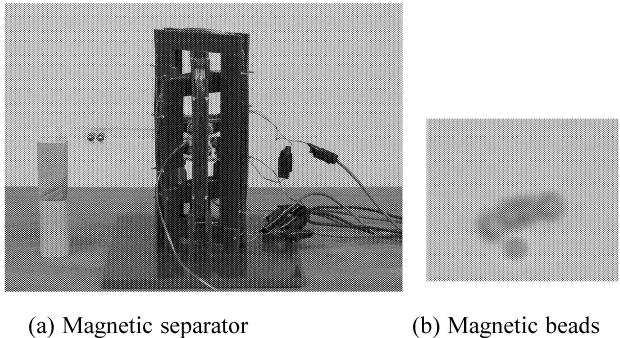
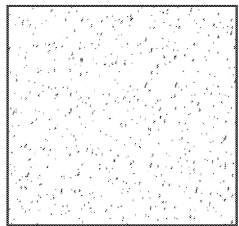
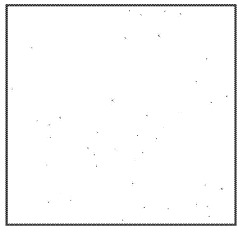


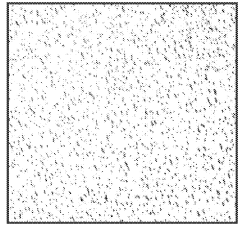
Fig. 3 Apparatus used for separation experiments.



(a) Before separation



(b) After separation
(Negative selection)



(c) After separation
(Positive selection)

Fig. 4 Micrograph of magnetic beads of separation process

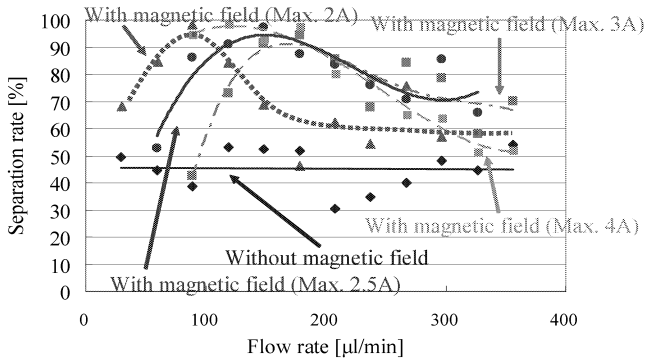


Fig. 5 Separation rate for different flow rates.