

細胞（塊）ピッキング&イメージングシステム 「CELL HANDLER™」

CELL HANDLER™ Picking and Imaging System for Single Cells and Cell Aggregates

熊谷 京彦



Abstract

CELL HANDLER™ is a picking and imaging system that carefully, yet rapidly and precisely transfers single cells and cell aggregates. Yamaha started developing the system in 2010 under the slogan “Yamaha Technology for Lives” and delivered the first unit to Fukushima Medical University in September 2017.

Its main function is to pick and transfer single cells or cell aggregates of 10-200 μm diameter to laboratory containers called microplates. The CELL HANDLER™ and its control system apply surface mounter technology. Special materials have been developed for parts that make direct contact with the cells.

CELL HANDLER™ is intended for fields in drug discovery and cancer research, regenerative medicine, antibody therapy, etc. This report introduces the technology and examples of specific CELL HANDLER™ applications.

1

はじめに

細胞（塊）ピッキング&イメージングシステム「CELL HANDLER™」は、細胞（塊）を高速・高精度かつダメージレスに移動するシステムである。「ヤマハの技術を命のために」をスローガンに、2010年に開発を開始し、2017年9月には1号機を公立大学法人福島県立医科大学に納入している。

移動のターゲットは直径10～200 μm の細胞（塊）¹⁾（図1-1）であり、それらをマイクロプレート（図1-2）と呼ばれる研究用の容器に移動（ピッキング）することを主な機能としてい

る。機体やその制御には、サーフェスマウンターの技術が応用されており、細胞に触れる部分には、それに特化した部材を開発し使用している。

利用分野は、創薬・がん研究分野、再生医療分野、抗体医療分野等が想定されている。本稿ではCELL HANDLER™に使用されている技術と利用場面の具体例を紹介する。

1) 細胞（塊）・・・細胞および細胞が塊状に凝集したもの。

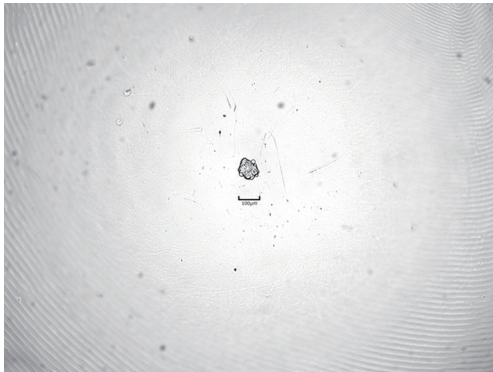


図1-1 100 μm程の細胞塊

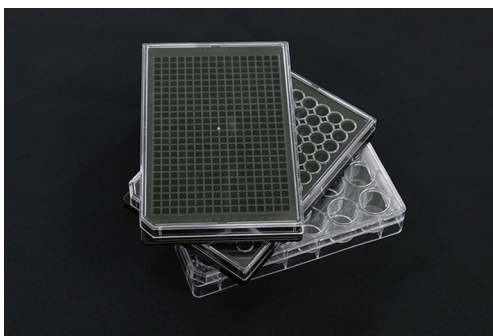


図1-2 マイクロプレート

2 製品の狙い

近年、医療業界では抗体医薬品の台頭、iPS細胞を用いた組織製造の開始、個別化医療時代の到来などが話題となっている。この潮流の中で、細胞実験の重要性が再認識され人の手を介さないことによる評価精度向上や製造細胞均質化の手法に注目が集まっている。

従来、細胞試験には取り扱いが容易な二次元培養法が主に使用されており高度な自動化も実現されている。しかし、人体内に存在した際の特性や機能を失うため、生体における有効性を評価しにくいデメリットがある。一方、三次元培養法は、それで得られた細胞塊が元の存在形態に近く、特性や機能を良く再現することで知られているが、取り扱いが難しく人の手技に頼るところが大きいため自動化が進んでいない(図2-1)。

CELL HANDLER™はこの点に着目し開発されている。細胞（塊）を高速・高精度にハンドリングすることにより様々な分野の三次元細胞実験をハイスループット化することを狙っている。

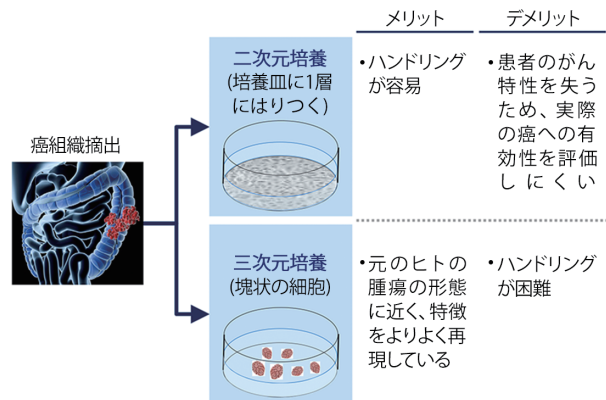


図2-1 がん細胞における二次元培養と三次元培養の比較

3 製品の特徴

3-1. 構成

製品の構成を図3-1に示す。

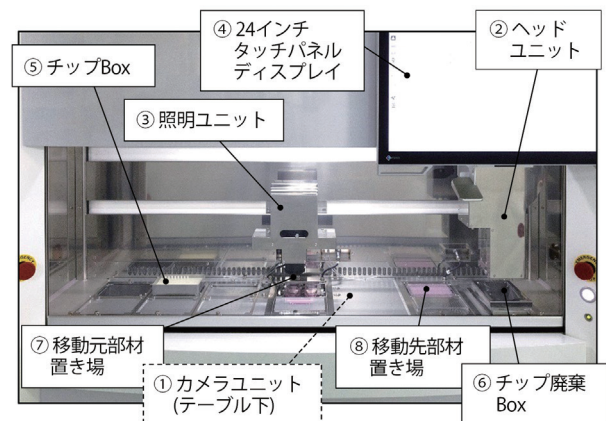


図3-1 製品の構成

- ① カメラユニット：テーブル下に倒立顕微鏡²⁾が設置されている
4、10倍レンズによる明視野、位相差、蛍光観察が可能
- ② ヘッドユニット：8本のノズルにチップを装着し、細胞を移送する
- ③ 照明ユニット：上から部材を照らす、絞りの調整が可能
- ④ ディスプレイ：タッチ操作による直感的な操作が可能
- ⑤ チップBox：チップを自動装着するためのBox、384本設置可能
- ⑥ チップ廃棄Box：チップを自動廃棄するBox
- ⑦ 移動元部材置き場：部材設置面はヒーターガラスであり、観察と温度調整が可能
- ⑧ 移動先部材置き場：主にマイクロプレートを置く、構造は⑦と同様

2) 倒立顕微鏡・・・試料を下側から観察する構造の顕微鏡

3-2. 部材

3-2-1. Yamaha Precision Chamber (図3-2)

細胞塊の単離と吸引成功率向上を狙い開発された容器で、細胞塊の移動元として用いられる。16 mm角のメッシュ内におよそ2000個のグリッド(一辺が400 μm) (図3-3)が形成されている。各々のグリッド中央には微小な穴(30 μm 角)があり、不要細胞(塊)のふるい分け、細胞塊の再配置、吸引時の水流最適化の機能を担っている。

また、各グリッドを仕切る壁の上部は斜面になっており、細胞塊の落下を促進するとともに、チップ先端をグリッド中央にガイドし吸引位置のズレを防止している。



図3-2 Yamaha Precision Chamber

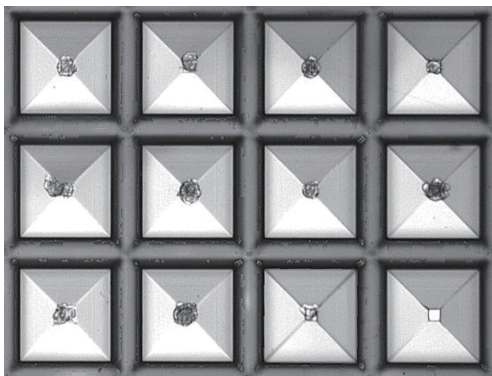


図3-3 細胞塊の入ったグリッド

3-2-2. Yamaha Precision Tip (図3-4)

細胞塊の吸引吐出をダメージレスに行うために開発されたディスプレイタイプチップ。シリンジ(筒)とプランジャ(押し子)の2部品で構成されている。

先端部の内径は180 μm であり、細胞塊サイズに最適化されている。プランジャ構造を採用したことで、極微量の培地吸引と細胞(塊)吸引の両立を実現している(図3-5)。

チップは8本装着でき、それぞれ独立した動作が可能である(図3-6)。このことによりピッキング作業の高速化を図っている。



図3-4 Yamaha Precision Tip



図3-5 吸引の様子

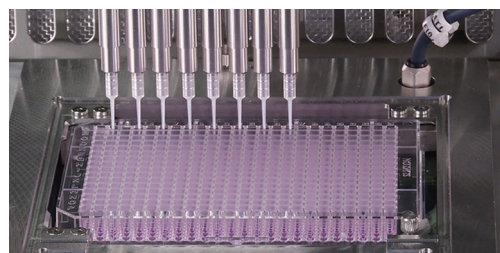


図3-6 吐出の様子

3-3. 主な機能

3-3-1. 細胞塊認識

CELL HANDLER™は、光学顕微鏡ユニットと高解像度カメラを内蔵しており、移動前後の細胞塊の画像を取得できる。同時に画像処理による細胞塊認識(図3-7)が行われ、個々の特徴量や三次元的な位置情報を取得している。

これらは、細胞塊選択や吸引ポジション決定に使用されるだけでなく、細胞塊集団の統計的解析にも使用が可能である。さらに、画像と細胞塊データは時間情報とともに自動的に保存され、実験のトレーサビリティ確保に有用である。

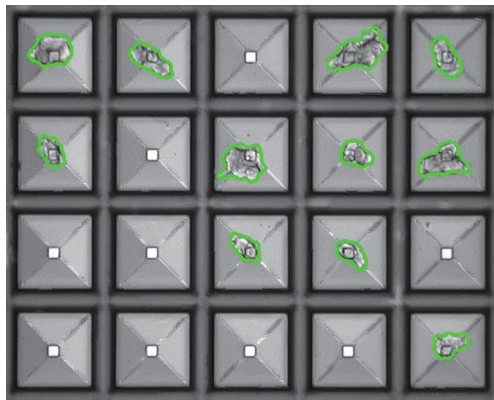


図3-7 認識された細胞塊

3-3-2. ヒストグラム選択

研究者が目的の細胞塊を高精度、短時間に選択できる機能は、ピッキングマシンとして必須である。CELL HANDLER™は、認識された細胞塊データ（面積値、真円度、グレイスケールなど）をヒストグラムとして表示することでそれを実現している（図3-8）。

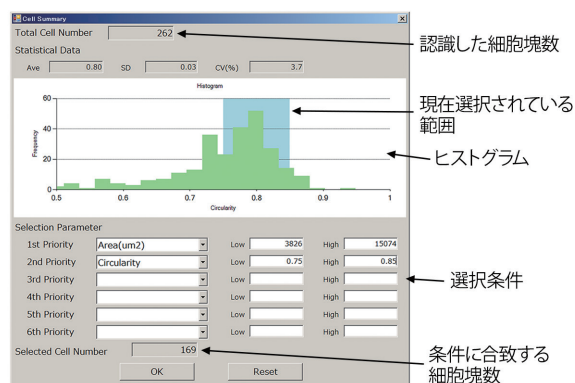


図3-8 ヒストグラム選択機能

研究者は、ヒストグラムにより特徴量の分布を視覚的に認識することが可能であり、選択範囲を容易に決定できる。また、最大6個の特徴量を重ねて選択条件として使用できるため、高精度な選択が可能となる。

さらに、機械学習機能も備えており、研究者の手作業による選択を学習させることが可能である。学習後はスコアが特徴量の一つとして出力され選択条件として利用できる。

3-4. 使用事例

3-4-1. 抗がん剤感受性試験への適用事例

CELL HANDLER™の最も一般的な用途は抗がん剤感受性試験である。

ここで言う抗がん剤感受性試験とは、マイクロプレート中

の細胞塊に段階的な濃度の抗がん剤を添加し数日の培養後、細胞塊の生存率を測定する試験を指す（図3-9）。この試験により、特定細胞塊への抗がん剤効果を評価できるため、創薬や個別化医療の現場で利用されている。

CELL HANDLER™をこの試験に用いることで、必要な試料を削減できる、試験誤差を低減できる、より多くの抗がん剤を評価できるといった利点がある。

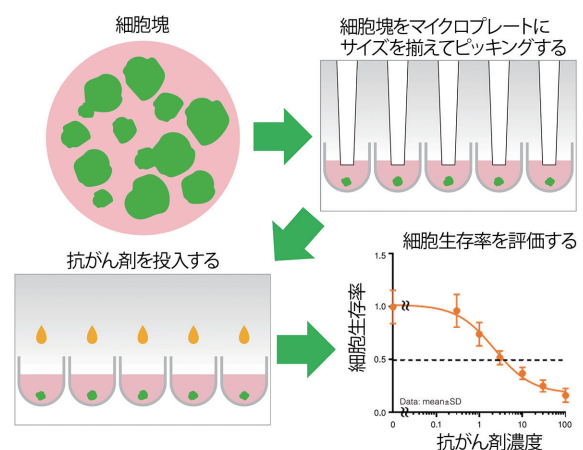


図3-9 抗がん剤感受性試験

3-4-2. シングルセルへの適用事例

CELL HANDLER™は細胞塊だけではなく、シングルセルのピッキングにも利用が可能である。シングルセルとは細胞の最小単位であり、直径15 μm程の大きさをもつ。シングルセルを一つだけマイクロプレートに移動することにより、細胞由来の遺伝子を個々に解析できるため、集団では見逃していた特性を発見することができる。

さらに、蛍光標識を利用すれば特定の遺伝子を発現したものを等を選択することが可能であり、図3-10にその一例を示す。蛍光標識されたシングルセル（GFP³導入CHO⁴細胞）を選択・移動し、六日間の培養後に蛍光特性を損なわずコロニー⁵を形成している様子が観察できる。これは、CELL HANDLER™のピッキングがシングルセルに対してもダメージレスであることを示している。

3) GFP … Green Fluorescent Proteinの略、緑色の蛍光を発するタンパク質

4) CHO … Chinese Hamster Ovaryの略、CHO細胞は研究用途に広く使用される

5) コロニー … 細菌や培養細胞などが形成する単一細胞由来の集団

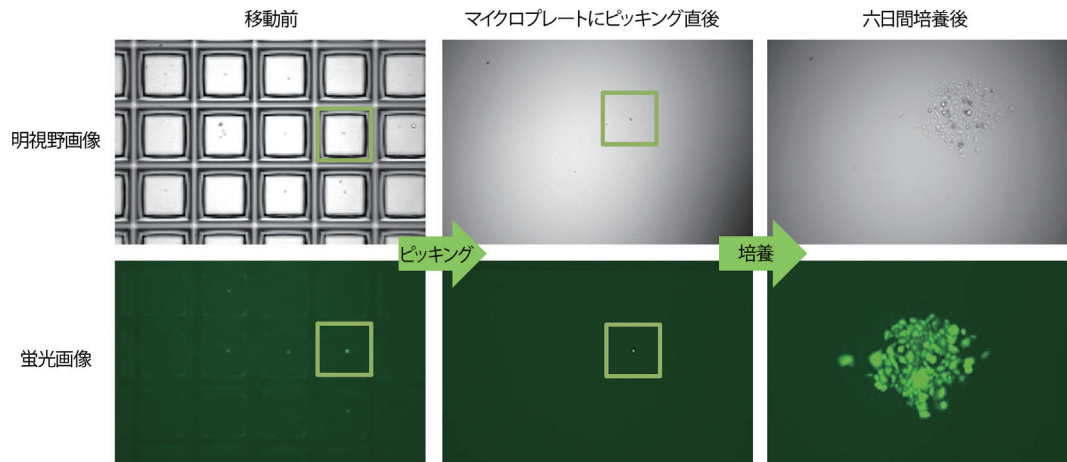
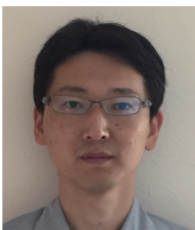


図3-10 蛍光標識したシングルセルのピッキング事例

4 おわりに

CELL HANDLER™は、ヤマハのロボティクス技術を医療研究分野に応用した初の商品である。当初は、細胞塊のみを扱う製品であったが、国内外の研究機関や企業と積極的にコラボレーションすることで、その機能や適用範囲は拡大を見せている。また、CELL HANDLER™の機能を生かしたソリューションビジネスへの展開を開始している。今後も、展示会等を通じて認知度を向上し、より多くのお客様に受け入れられる製品にしていきたい。その結果として、ヤマハの技術が世界の人々の命を救う一助となることを願っている。

■著者



熊谷 京彦
Takahiko Kumagai
先進技術本部
NV事業統括部
MDB開発部

■映像ライブラリー

<https://global.yamaha-motor.com/jp/profile/technical/library/mov/55ss08.html>

