

【解説】 スグワカルチャー (Suguwaculture) システム

Y. Yamada, N. Yamaguchi, M. Ozaki, Y. Shinozaki, M. Saito, H. Matsuoka: Instant Cell Recognition System Using Microfabricated Coordinate Standard Chip Useful for Combinable Cell Observation with Multiple Microscopic Apparatus. *Microsc. Microanal.* **14**, 236-242 (2008). DOI: 10.1017/S1431927608080252

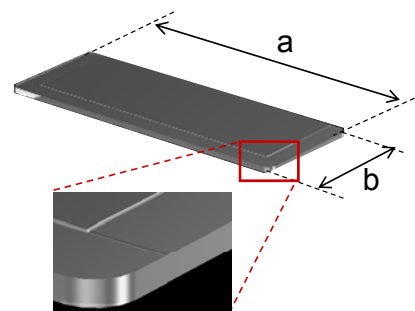
多数の細胞に順次マイクロインジェクションする作業は非常に煩雑である。インジェクションするためには、その前に標的細胞を選び、それに顕微鏡の焦点を合わせ、さらにインジェクション用の細いキャピラリー先端を細胞に近接させる、などの操作を一つ一つ注意深く行わなければならない。しかし、インジェクションは、それらの操作よりもはるかに注意深く行わなければならない。そこで、実験者がこのインジェクションのみに注意を集中して繰り返し作業ができるように、他の操作を全て自動、あるいは半自動でできるようにしよう、というのが SMSR の設計のコンセプトであった。

第一に、培養ディッシュ中の個々の細胞の座標を予め正確に登録しておくことが必要と考えられた。そしてそのためには、基準となる座標をディッシュ毎に描いておくことが必要であった。調査の結果、目盛り付き培養ディッシュは既に何種類も市販品があったが、目盛りの精度は荒く目盛り線が $20\mu\text{m}$ 程度の太さがあり、これを基準として $1\mu\text{m}$ 単位の座標精度を出すことは不可能であった。

一方、他の研究者により、単一細胞を同時に保持、あるいは収納するためのマイクロウェルや多孔板が開発されている。しかし、細胞は非常にデリケートであり、特定のメーカーの特定の型番のディッシュで恒常的に培養してきた細胞を、形状や材質が必ずしも同じではない容器や基板上で培養することに対しては抵抗があるようだ。結局、培養ディッシュの内側は神聖不可侵と考えておいたほうがよさそうである。

そこで、ディッシュの外側に貼って使用できるディスプレイのチップ状のものを開発することにした。その条件として、座標基準線の太さはせいぜい $2\text{-}3\mu\text{m}$ 、それを描いたチップはディッシュの周縁部に配置されること、安価なこと、などであった。通常、ディッシュ中心部にある細胞を観察するが多いが、その場合に、チップがその中心部にあったのでは細胞と重なってしまい都合が悪い。そのため周縁部に配置することは必要条件である。こうして開発されたものが図 1 に示す座標基準チップである。線を描くというより、段差をつけることによって、その境界線が顕微鏡下では細い直線に見える。また、チップは金型で大量に射出成形生産されるので消耗品として使用しても問題ないコストになった。

チップをディッシュの底面に貼り付けて、顕微鏡オートステージのディッシュホルダーに設置したのち (図 2-A)、座標基準チップの P 点を視野中心まで移動させ (図 2-B,C)、フットスイッチをクリックすると、P 点が原点と登録される。次に Q 点を視野中心にもってきて (図 2-C,D)、フットスイッチをクリックすると、PQ が X 軸と登録される。この時点で Y 軸は自動的に登録される。この後は、ディッシュ中の任意の細胞を視野中心に持ってきてクリックする度に、その



a=16.0mm, b=6.0mm

図 1. 座標基準チップ

細胞座標が登録されることになる。1 ディッシュあたり 100

細胞ほど登録して次のディッシュで同様の操作を行う。ステージから降ろしたディッシュは、インキュベータで培養後、再度観察のためにステージ載せることになる (図 3)。その場合、最初と同じ様に座標登録を行う必要があるが、その操作は短時間でできる。こうして座標の再登録作業が済めば、すでに登録してある XY 座標データにより、指定細胞を即時に視野中心に持ってくることができる。

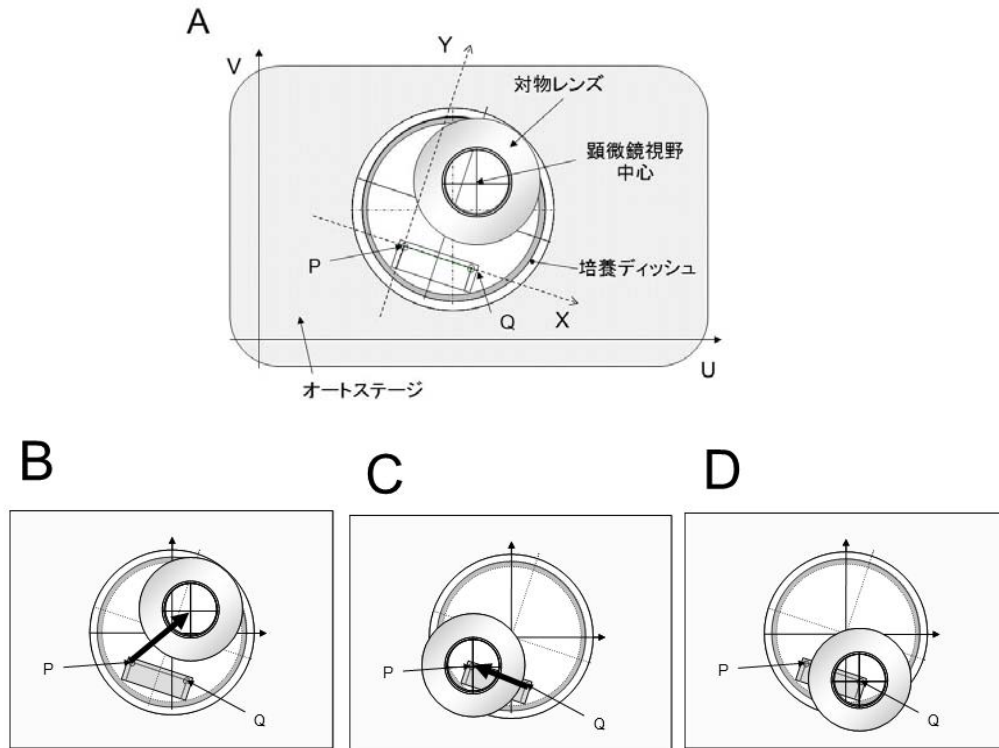


図 2. 培養ディッシュの座標登録。(A) 顕微鏡オートステージに設置されたディッシュホルダーに培養ディッシュをセットした状態。(B→C) 座標基準チップの P 点を原点として登録する操作。(C→D) 座標基準チップの Q 点を X 軸上の点として登録する操作。

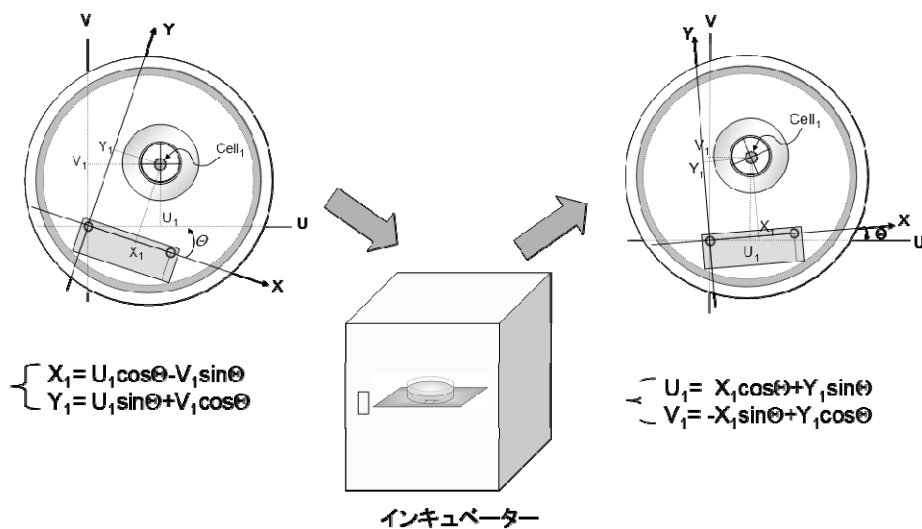


図 3. スグワカルチャーの機能を利用した細胞のインキュベータ内での培養を挟んだ連続観察

この座標登録機能とオートステージコントローラーからなるシステムを、“すぐ (sugu)”、“分かる (wakaru)”、“培養しながら(during culture)”の言葉を繋げて“Suguwaculture (SWC)”システムと命名した。単一細胞操作支援ロボット(SMSR)は、このシステムを骨格として、さらに3次元マニピュレーターコントローラー、定量的吐出装装置、顕微画像処理システム、などから構成されている。現在では、制御システムを一新し、多機能型マンマシンインターフェースを開発し、これによってシステムの拡張性が可能になっている。(図4)。

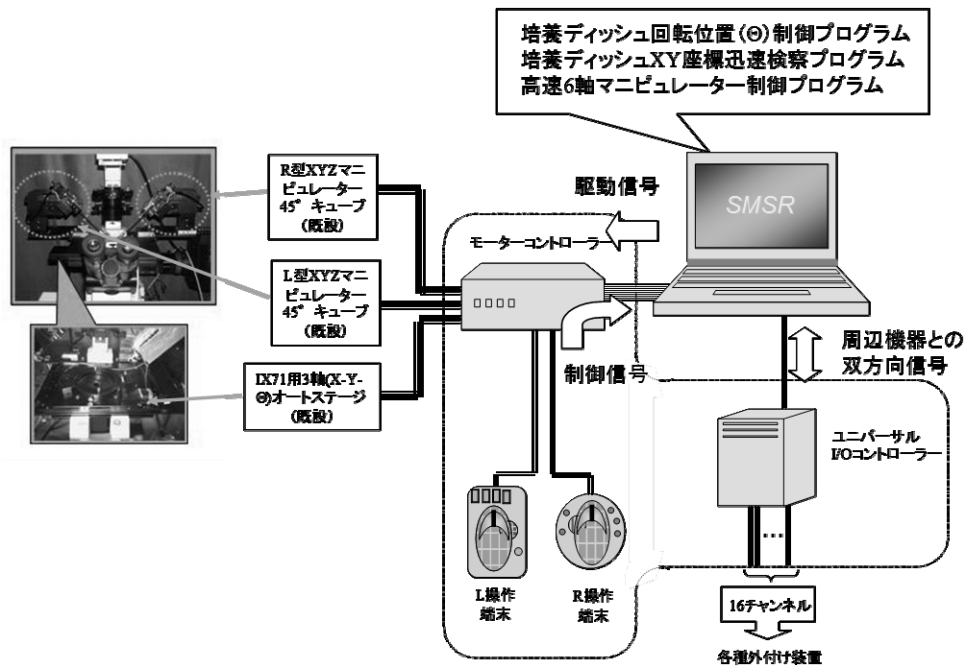


図4. 多機能型マンマシンインターフェースで制御する SMSR