

**【目的】**健康長寿社会に向けて、慢性疾患の解明と治療が望まれる。ヒトによる疾患の解明と薬効試験は困難さがあるため、*in vitro*にて疾患を模擬した組織・臓器モデルが代替手段となる。例えば細胞スフェロイドにより腫瘍研究、抗がん剤探索がなされる。ただし生体外でのスフェロイドは、細胞種も限定的で単一細胞間の相互作用の再現が欠けていることから、*in vivo*での現象の再現性には懐疑的な見方がある。そこで本研究の最終目的は、直径約  $10\mu\text{m}$  の  $10^4$  の単一細胞を対象にして、超並列かつ  $\mu\text{m}$  の精度で空間的に再配置し、オルガノイド (*in vitro*での3次元臓器)アレイの構築につながる超並列細胞プリンタを開発することである。本研究では、細胞配置のスループットを異なる次元に増大させるために、単一ノズルの計測制御を取り除く。つまり流体力学的な自動配置をベースにし、ノズルアレイへの流体抵抗を低くして、単一細胞を配置する。加えて光硬化性樹脂での細胞の被覆、ノズルからの外部への吐出も実現する。

**【方法】**超並列細胞プリンタの主要素は、細胞吐出を行うノズルアレイである。特にエポキシ系フォトリソグリス SU-8 とシリコーンゴムである PDMS を組み合わせ、単一細胞への光硬化性樹脂の被覆機能を統合したノズルアレイの作製を行った。ここでは空圧流路も組み込むことで、細胞の捕獲と吐出を切り替えられるバルブも設けた。この作製したノズルアレイを利用して、単一の細胞や粒子の捕獲、被覆、吐出特性を評価した。

**【結果】**細胞用流路、PDMS 可変膜、空圧用流路を組み合わせた多層構造を達成した。開口部と捕獲部を隣接して設計することで、被覆された単一細胞の輸送距離を約  $20\text{mm}$  から約  $110\mu\text{m}$  へと大幅に短縮した。PDMS 可変膜と空圧用流路により  $0.25\text{s}$  以下での PDMS 可変膜の開閉を実現した。HeLa 細胞と同等の大きさのトレーサ粒子を導入し、単一粒子の捕獲を達成した。被覆時の非活性流体として Mineral Oil に  $1\text{v}/\text{v}\%$  Span80 で混合した溶液を導入し、単一粒子の被覆を達成した。吐出の際は液滴が粒子より先行し、続いて単一粒子が吐出された。HeLa 細胞を導入すると、その集団の一部がノズルアレイのチャンバに引き込まれ、捕獲された。ただし、すべての細胞が捕獲されたわけではないため、その理由を検証した。バイパス流路を通過する HeLa 細胞に比べ、チャンバに流入する粒子の方がサイズが大きいため、十分な割合の細胞が捕獲されないことを見出した。

単一細胞プリンティングの原理図と作製した単一細胞吐出用ノズルアレイの顕微鏡像

