

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：33401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26420234

研究課題名(和文)磁気セルソーターの開発

研究課題名(英文)Development of a magnetic separator for cell

研究代表者

三島 史人(MISHIMA, FUMIHITO)

福井工業大学・工学部・教授

研究者番号：80558263

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、分離対象物となる細胞を作業媒体に磁気浮揚させる工程により、細胞の位置を制御し分離を可能とする磁気細胞分離装置に必要な高勾配磁場発生源の設計を行った。分離対象物に作用する牽引力は、装置の作業媒体の種類と濃度を選択することで、磁気力と見かけの密度を制御することが可能となり、磁気アルキメデス分離装置の磁気セルソーターへの有用性を確かめた。

研究成果の概要(英文)：In this study, a high gradient magnetic field source for a cell separation device was designed to control position of cell by a process of magnetically levitating cells suspended in a working medium. The traction force acting on the targeted substance can be controlled the magnetic force and the apparent density by selecting the type and the concentration of the working medium was discussed. At the result, the usefulness of the magnetic Archimedes separation device for magnetic cell sorter was confirmed.

研究分野：磁気力制御技術 磁気分離 バックエンド工学

キーワード：磁気セルソーター 磁気アルキメデス 高勾配磁場 磁気力制御 分散 凝集 反磁性体 常磁性体

### 1. 研究開始当初の背景

細胞の機能を理解するには、単独の細胞を壊してその構成成分を解析する必要がある。多くの情報を保持している細胞を解析することで多くの情報が得られ臨床研究ができない難病疾患の病態解明や新規治療法の研究開発に貢献できると考える。現在これらの研究開発が盛んにおこなわれており、細胞の分離は重要な技術となっている。組織から細胞は分割されるが、細胞は数種類混在するため浮遊液からある特定の型の細胞への分離を行う手法が必要とされている。その分離方法として大きさ、比重の差を利用した遠心法や、素材への付着能を利用した手法などが生み出されたが、それらの手法は大量に処理するには精度も低く改善が望まれている。その後、遠心法を発展させた密度勾配遠心法の開発や抗体の特異的な結合能を利用する方法も開発されている。近年ではその発展型で抗体に蛍光染色し、蛍光をレーザー照射で検知し、セルソーターで精密に分離する方法が開発されているが、レーザー照射による帯電により細胞へのダメージも大きく、装置価格も高額であり、より安価に精密な分離手法が模索され続けている。

磁気力を利用した細胞や遺伝子の分離法として前述の素材への付着能を利用し、細胞表面にあるリガンドなどを利用して特異的に磁性粒子を吸着・付着させ、目的となる対象物を分離する手法がある。ただし、目的対象物の凝集などに対するハンドリングが必要となり、一般的に広く利用される技術にまでは至っていない。

そこで本研究では、細胞に磁性を付与する素材への付着能を利用した方法とは異なり、作業媒体(懸濁液)の磁性を制御することで分離する新たな手法として、磁気アルキメデス法を利用した細胞分離についての検討を行った。

### 2. 研究の目的

本研究では、磁気力を利用し細胞を簡便且つ迅速に分離可能とする磁気セルソーター(磁気アルキメデス分離装置)の設計を行う。

反磁性物質である細胞が懸濁する常磁性を示す作業媒体(液体)に、鉛直方向や垂直方向の高勾配磁場を印加することにより、分離対象物となる細胞を作業媒体に磁気浮揚させる工程により、細胞の位置を制御し、分離を可能とするため、それに必要な磁気アルキメデス力を発生させる磁気回路の設計を行い、その実験結果から装置の設計指針を示すことを目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究で、分離対象となる細胞を磁気アルキメデス力で磁気けん引するために、必要となる作業媒体の検討を行い、その後、磁場発生源の検討(設計)を実施した。選定した作業媒体と磁場発生源を利用し、分離対象物の

磁気アルキメデス力による分離実験を実施した。細胞の比重や磁化率に似た模擬サンプルを使用し、分離実験を行い、最終的に細胞の磁気アルキメデス制御実験を行った。また並行して細胞に関する磁化率制御実験を行い、本研究課題で制御可能となる細胞についての検討を行った。

磁気アルキメデス分離法とは、磁場下の媒質中において分離対象物に作用する磁気アルキメデス力と重力との合力による媒質中の分離対象の浮上高さの差を利用する分離手法である(図1)。浮上高さは磁気アルキメデス効果に基づく力と重力との合力を0としたときの磁束密度と磁場勾配との積(磁束積)と磁場発生源の磁場積分分布とから算出される。図1中のpとfはそれぞれ分離対象物質と媒質、 $\chi$ は磁化率、 $\rho$ は密度、Bは鉛直方向の磁束密度、 $\mu_0$ は真空の透磁率、gは重力加速度である。分離対象の浮上高さは媒質を変えることで制御可能である。

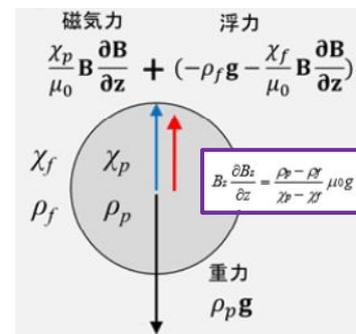


図1. 磁気アルキメデス浮上の力の釣り合い

### 4. 研究成果

磁気アルキメデス分離に必要な作業媒体(溶媒と溶質)についての検討を行った。

#### (1) 作業媒体の溶質についての検討

磁気アルキメデス効果を得るために常磁性媒質の使用を検討した。表1に主な常磁性物質の水への溶解度とその固体の磁化率を示す。溶質への溶解度と磁化率が大きいほど、分離対象に適した密度と磁化率を持つ常磁性媒質の調整が容易になり、さらに、酸化(変質)しにくく、コストが低い溶質として、塩化マンガン(MnCl<sub>2</sub>)を用いることにした。

表1: 常磁性物質の溶解度と固体の磁化率

常磁性物質名	溶解度(水媒体) [w t.%]	体積磁化率 [-]
MnCl <sub>2</sub>	42.5	4.27 × 10 <sup>-3</sup>
MnSO <sub>4</sub>	38.6	3.67 × 10 <sup>-3</sup>
FeCl <sub>2</sub>	38.5	4.62 × 10 <sup>-3</sup>
CuCl <sub>2</sub>	42.3	3.42 × 10 <sup>-3</sup>
Gd(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	39.5	7.45 × 10 <sup>-3</sup>

#### (2) 作業媒体の溶媒についての検討

細胞のおおよその比重を水より重い1.03 ~ 1.10 g/cm<sup>3</sup>とし、検討を行った。血液中の細胞の比重を参考とした。

MnCl<sub>2</sub>の溶媒の候補として水とエタノール

水溶液が挙げられる。媒質の濃度を調整することによって媒質の密度と磁化率を調整できるため、湿式比重分離の制御が可能となり、さらに磁場発生源の磁場分布を調整することによって、磁気アルキメデス分離の制御が可能となる。水やエタノールの溶媒を用いた場合に調整可能な比重と磁化率の範囲を表 2 に示す。表 2 に示すとおり、エタノール水溶液の方が調整可能な比重の範囲が広いが、エタノール（アルコール）は細胞膜の破壊やタンパク質の凝固作用があるため、溶媒には水を使用することにした。

表 2：常磁性物質の溶解度と固体の磁化率

MnCl <sub>2</sub> の溶媒	比重の範囲	体積磁化率 [-]の範囲
エタノール	786- 1505	- 9.1 × 10 <sup>-6</sup> ~ + 1.1 × 10 <sup>3</sup>
水	998- 1505	- 9.1 × 10 <sup>-6</sup> ~ + 1.1 × 10 <sup>3</sup>

最終的に本研究では分離対象が 1.00 g/cm<sup>3</sup> 以上であることから、溶質には MnCl<sub>2</sub>、溶媒として水を選択した。

### (3) 作業媒体の細胞への相互作用の検討

磁気力制御を用いた分離技術には磁気シーディング法と呼ばれる分離対象物への磁性粒子の吸着（付着）を利用した方法が用いられる。酵母細胞（平均粒径 10 μm）に鉄系のコロイドを添加した様子を図 2- 1 に示す。磁性コロイドの表面に多くの細胞が凝集し、分散性が悪いことが分かる。本研究課題で使用する MnCl<sub>2</sub> 水溶液（実験条件 MnCl<sub>2</sub> 溶解度 5 wt.%）に酵母細胞を懸濁させた様子を図 2-2 に示す。結果として安定な分散状況を保持することが確認された。また、処理後に細胞膜の破壊は確認できず、軽い洗浄後に再度培養が可能であり、作業媒体には上述の MnCl<sub>2</sub> 水溶液を作業媒体に検討を進めた。

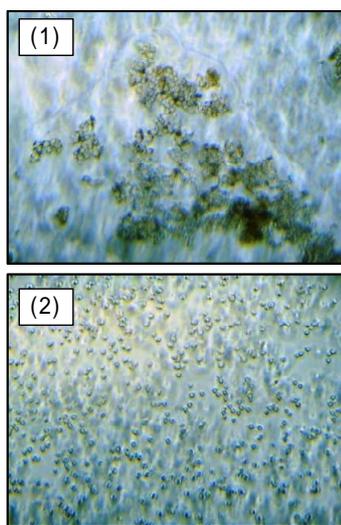


図 2．添加物による細胞への相互作用  
2-(1)磁性コロイド添加 2-(2) MnCl<sub>2</sub> 水溶液

### (4) 磁場発生源についての検討

本研究課題で使用する磁場発生源として研究当初には、超伝導バルク磁石（最大表面

磁束密度 3 T、最大磁場勾配 750 T/m)の使用を検討した。しかし、超伝導バルク磁石には着磁技術や高価な設備が必要であり、着磁後も磁場を維持するために常時 30 ケルビン付近まで冷却を必要とするなど、簡便かつ可搬性を有する分離装置を目的とする本研究課題に一致しなかった。

更には研究課題初年度に冷凍機の故障により超伝導バルク磁石が使用できなくなり、特殊な磁場発生源であることが明確になり、磁石の特別な知識を必要としない磁場発生源を選定する方が望ましいという結果に至った。そこで、磁気アルキメデス分離に必要な高磁場勾配磁場の形成についてはネオジウム磁石を利用したハルバッハ配列永久磁石回路（最大磁束密度 1.55 T、最大磁場勾配 123 T/m、分離領域の平均 68 T/m）を設計・製作した。ハルバッハ磁石は、複数の永久磁石をハルバッハ配列と呼ばれる配列の仕方では組み合わせることで永久磁石よりも大きな磁束密度を得られる磁石である。製作したハルバッハ磁石の外観写真を図 3 に示し、その磁場及び磁場勾配の大きさを図 4 に示す。

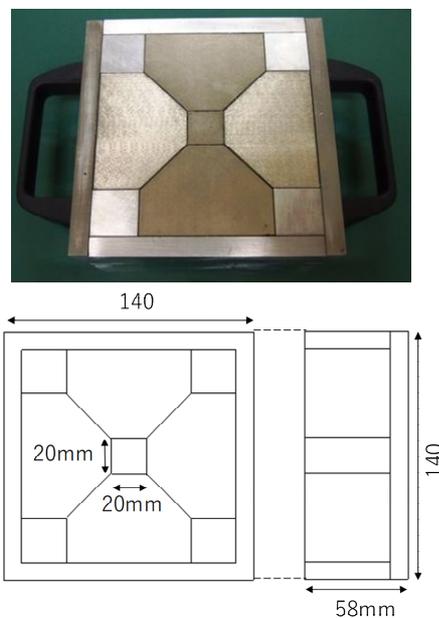


図 3．製作した磁場発生源

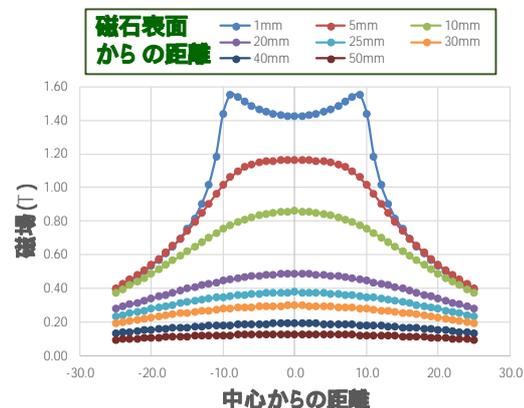


図 4．磁場発生源の磁場分布

磁場の設計については、酵母細胞の磁化率を高感度小型磁気天秤（MODEL MSB-AUTO, Sherwood 社製）を用いて測定し、磁化率は $-10^{-7}$ 付近であるとして計算した。

粒子に作用する力が釣り合って粒子が静止するとき、磁場積を一つの値に（図1中の枠線内の式より）決定することができる。酵母細胞における作業媒体濃度と磁場積の関係の計算結果を表3に示す。また、その結果から磁場発生源の磁場積が $100\text{T}^2/\text{m}$ 出力できる磁気回路を設計・製作した。図5に磁場発生源表面から高さ方向への磁場積の関係を示す。

表3 作業媒体濃度と必要となる磁場積（計算値）の関係

MnCl <sub>2</sub> (wt%)	$B \cdot dB/dz$ [ $\text{T}^2/\text{m}$ ]
1	115.3
2.5	18.3
5	5.7
10	0.8

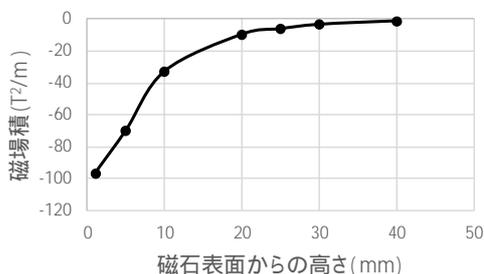


図5. 磁場発生源の磁場積

#### (5) 磁気アルキメデス法の検討

細胞の磁化率についての検討を行い、磁場発生源を設計・製作し、分離装置の作製を行った。装置を用い、磁気アルキメデス分離を実施した。装置の模式図を図6に示す。

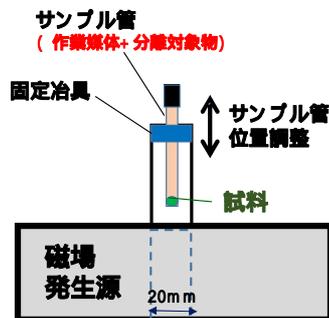


図6. 実験装置の概要

サンプル管の中に分離対象物（酵母細胞）を装填し、作業媒体を満たし、固定治具に挿入し、分離対象物の浮上高さが液面下になるように調節した。最終的に静止した磁場発生源表面からの分離対象物である細胞の静止高さと磁場積について検討をした。実験の結果の写真を図7に示す。

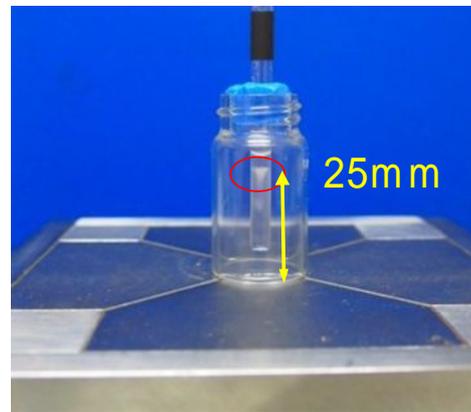


図7. 実験結果

磁気アルキメデス法を細胞に適用し、本研究課題で製作した実験装置で酵母細胞は磁場発生源表面から25mm上方に浮上し静止した。この位置での磁場積は $6.1\text{T}^2/\text{m}$ である。今回実験で使用した作業媒体濃度5wt.%に対して制御に必要な磁場積は $5.7\text{T}^2/\text{m}$ と計算により見積もられており、本実験装置で細胞の浮上位置を制御可能なことが確かめられた。しかしながら、今回分離領域として設定した領域は20mm四方の空間であり、詳細には計算値で4.9（中心）～ $6.1\text{T}^2/\text{m}$ （端部）の磁場領域であり、精密な分離には至っていない。細胞レベルで、かつ微細な分離対象物となると、より鋭い高勾配磁場を形成する磁場発生源の検討が今後必要となると考える。

#### (6) まとめ

設計した磁場発生源を用い、細胞の磁気アルキメデス法の適用が可能であることが確認された。研究課題における磁気セルソーターの課題点などの抽出は終了したが、実用化に向けた分離装置にまでは至っていない。しかし、本研究課題で製作した磁気アルキメデス分離装置（磁気セルソーター）は磁化率がもう1～2桁大きい分離対象物に対しては有効であり、本磁場発生源を使用し、磁化率差がほぼ無いプラスチック（ポリプロピレンとポリエチレン）の分離や、構造異性体の分離に適用可能であった。（構造異性体については分散状態の制御のために別の業媒体の使用している。）今後も、本実験装置に適用可能となる領域の分離対象物のサーベイや本装置を用いた高精度な磁気力制御についての研究を継続してゆく予定である。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計4件)

小林剛之, 三島史人, 秋山庸子, 西嶋茂宏, “磁気アルキメデス法を用いた構造異性体の分離”, 第91回2015年春季低温工学・超電導学会, 2015年5月27日

小林剛之, 三島史人, 秋山庸子, 西嶋茂宏, “磁気アルキメデス法による構造異性体の

分離”，第 92 回 2015 年度秋季低温工学・超電導学会，2015 年 12 月 3 日

三澤弘平，三島史人，秋山庸子，西嶋茂宏、  
“磁気アルキメデス法による難燃性/非難燃性プラスチックの分離に関する研究”，第 93 回 2016 年度春季低温工学・超電導学会，2016 年 5 月 30 日 - 6 月 1 日

三澤弘平，三島史人，秋山庸子，西嶋茂宏、  
“超電導磁石を用いた磁気アルキメデス法による難燃性/非難燃性プラスチックの分離”，金属・セラミックス超電導機器合同研究会，2016 年 6 月 28 - 29 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

本研究課題で製作した磁場発生源を北陸技術交流テクノフェアの福井工業大学ブース内にて紹介。

(2017 年 10 月 26-27 日：福井県産業会館)  
<http://www.fukui-ut.ac.jp/news/topics/entry-3233.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

三島 史人 (FUMIHITO MISHIMA)

福井工業大学・原子力技術応用工学科・教授  
研究者番号：80558263

### (2) 研究協力者

西嶋 茂宏 (NISHIJIMA SHIGEHIRO)

福井工業大学・原子力技術応用工学科・教授  
研究者番号：00156069

### (3) 松尾 陽一郎 (MATSUO YOUICHIROU)

福井大学・工学部工学研究科原子力安全工学講座・講師  
研究者番号：90568883