高濃度トレハロース水溶液を活用した生体由来材料の微量スポット技術

MICROJET

White Paper

バイオデバイスにおける微量スポットの要求と課題

近年、臨床用のプロテインチップやイムノアッセイキットといったバイオデバイスにおいては、以下が求められています。

バイオデバイスの小型化による要求

- 機能性生体由来材料の安定化
- センサー部の高集積化

そのためには、生体由来材料を高密度かつ、スポット液量のばらつきを少なく高精度に配置することが求められます。
しかし、高密度に配置するためには液滴の小滴化が必要不可欠ですが、**小滴にするほど乾燥が問題**となることがあります。
例えば、デバイスに使用されるタンパク質を水溶液としてスポットし乾燥させると、タンパク質立体構造が壊れて失活してしまい、材料自体の機能が保持できなくなります。
このように生体由来材料の微量スポットにおいては、その機能を保持したまま、スポットの安定性も維持することが必要不可欠となります。
そのため、**機能やスポット安定性のための添加物**を加えて塗布する方法が用いられています。

バイオデバイスを作製する際に注目されている添加物

いくつかある添加物の中で、乾燥による失活を防ぐ材料として注目されているのが**トレハロース**です。
トレハロースは糖類の一種であり、他の糖類と比較して、タンパク質の親水基と強い結合力を持っています。
その特徴により、トレハロースを添加した溶媒は乾燥した後も生体由来材料の立体構造を保護する性質を持つことが知られています。

Figure 1.　トレハロース粉体

※ トレハロースとは

トレハロースはきのこ類や酵母などに含まれている自然界に存在する糖で、私たちの身近な食品の中にも存在します。トレハロースは「太古の昔から地球上に存在」しており、古くから生命とかかわっています。クマムシ、ワムシなどの微小動物、イワヒバなどの植物が砂漠などの厳しい環境の中で生き続けられるのは、トレハロースが生体内に存在するためであるといわれています。
トレハロースは、細胞やたん白質を凍結や乾燥によるストレスから保護する作用を有していることが、多くの研究者により実証されています。また、トレハロースは昆虫の体液に含まれており、飛翔のエネルギー源としても機能しています。現在、トレハロースは菓子や食品だけでなく化粧品、入浴剤、農業花卉園芸等々幅広く使用されており、海外での利用も増加しています。
（TREHA Webから一部引用）

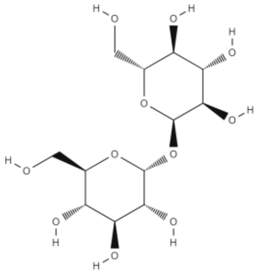

Figure 2.　トレハロースの構造式

バイオデバイスの高密度化への要求

バイオデバイスにおいては、デバイスの小型化によるセンサー部の高集積化、つまり機能性生体由来材料を高密度に配置することが重要です。また、センシング性能を保つために材料のスポッティング量のばらつきを少なく抑える必要があります。
この要求を満たす手法として近年注目されているのが、**インクジェット技術を応用した微量スポッティング法**です。
この手法を用いることで、高密度かつ高精度なスポットを実現できますが、ハンドリングする液量が微量になるため乾燥の影響が大きくなり、失活などが起こりやすくなります。

その対策として有効な手法の1つがトレハロースの添加であり、添加することでタンパク質などの機能を維持したまま高密度・高精度のスポットを実現することが可能です。

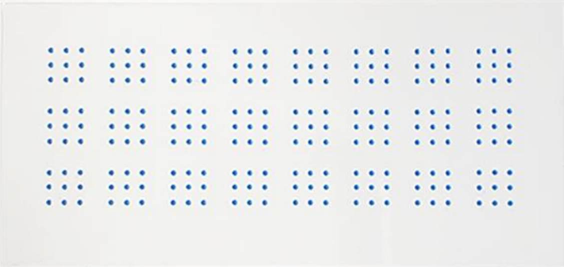

Figure 2.　インクジェット技術を用いた高密度・高精度バイオチップ

トレハロース水溶液の課題と解決策

インクジェット技術は、pl（ピコリットル）オーダーの高精度スポットを実現しますが、小滴化にともない、インクジェットヘッド部のノズルサイズが小さくなるため、ノズル先端部での乾燥の影響を受けやすくなります。しかしインクジェット法は、本来、高濃度の塗布に適していません。トレハロースを一定以上の濃度で添加し高濃度化すると、より乾燥しやすくなり、スポッティングの安定性を維持することが困難になります。
しかし、弊社ではノズル径が大きいライフサイエンス用インクジェットヘッドを独自開発し、高濃度・高粘度液のハンドリングを実現しています。そのため、従来のプリンタ用インクジェットヘッドでは機能の保持とスポットの安定性を両立することが難しいとされていた液でも、トレハロースの添加により、機能を保持しつつ、微量かつ高精度なスポットを可能としています。
弊社ライフサイエンス用インクジェットヘッドを用いて、**30 wt%の高濃度トレハロース水溶液を安定的に微量スポット**しました。下図をご参照ください。

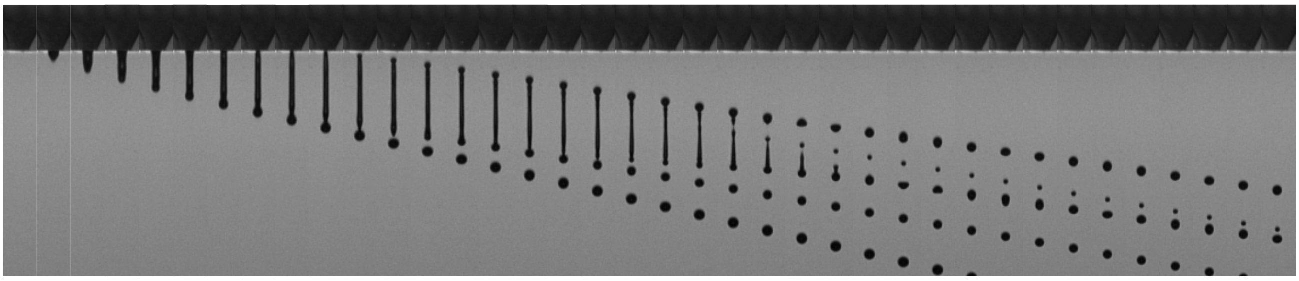

Figure 3.　トレハロース水溶液（濃度30%）におけるスポッティング液滴の飛翔過程
※ 液滴量約0.8 nl条件における10 μsecごとの飛翔過程を示す

1 mm

項目名	内容
使用装置	吐出実験キット IJK
使用インクジェットヘッド	GlassJet（IJHB-1000）
使用液	トレハロース水溶液
濃度	30 wt%
液滴量	0.8 nl

Table 1.　試験条件

トレハロースの飛翔
動画を見る
▶クリック

インクジェット 微量スポッティング法の特徴

インクジェット技術は微量スポッティングの手法として各分野で使用されていますが、ライフサイエンス分野ではノズルが詰まりやすい、安定的なスポッティングができないなどの理由によりあまり活用されていない状況でした。しかし、バイオデバイスの小型化と高集積化が進むにつれて、タンパク質などの微量スポット用途で注目されてきています。インクジェットは、ピエゾ（圧電）素子の変位を用いて小さな液室の中に圧力波を発生させ、それにより超微量な液滴を高速で On-Off 吐出する技術です。多くの人が“オフィスや家庭で使用しているカラープリンタ”を最初にイメージする通り、インクジェット技術の主な応用先はカラープリンタです。その後技術が進化し、現在ではplからnlオーダーのばらつきの少ないスポットができる点を活用し、ライフサイエンスをはじめとする各分野でデバイスなどの作製を行うために応用研究が活発になっています。

インクジェット微量スポッティング法の特徴

- plからnlオーダーという他のスポッティング法では実現できない超微量の液滴が生成できる
- 生成される各液滴のばらつきがCV値で2%以下と非常に小さい
- 必要な時に必要な量だけ液を吐出するため、液材の無駄を抑えられる

インクジェット微量スポッティングの実現

バイオデバイス用の試薬として用いられるトレハロースは、乾燥による生体由来材料の変性を防ぐため、多くの場合、10 wt%を超える濃度※1で添加されます※2 。このような高濃度溶液を使用する場合、ノズル先端での乾燥の影響を少なくするため、一般的には、高沸点の溶媒に変更するなどの対策が取られます。
しかし、生体由来材料の場合、変性などの懸念から高沸点溶媒への変更や添加は難しく、高濃度液での安定したスポッティングは困難とされていました。この課題をクリアしたのが、弊社が独自開発したインクジェットヘッドGlassJet®です。

GlassJet®は、各種生体由来材料を微量かつ安定的にスポットすることを実現し、**30 wt%の高濃度トレハロース水溶液もスポット可能**です。
GlassJet®は、5〜1,000 plの吐出量に対応したラインナップがあり、ノズル径が大きいヘッドでは、ノズル先端部における溶媒揮発の影響を受けにくく、幅広いサンプル液の吐出が可能です。

※1 カラープリンタで使用されている水性カラーインクは、溶質濃度を15 wt%以下と低濃度化し、グリセリンなどの高沸点溶媒を数十%添加することで安定性を保っています。

※2 Jai K. Kaushik & Rajiv Bhat (2003) Why Is Trehalose an Exceptional Protein Stabilizer? Journal of Biological Chemistry, Vol. 278, No. 29, Issue of July 18, pp. 26458–26465, DOI: 10.1074/jbc.M300815200

ライフサイエンス専用 “ GlassJet® ” ヘッド

- マイクロプレート内に収まる超小型形状［ 先端サイズφ2 mm以下 ］
- 低〜高粘度・高表面張力液（抗体液、抗原液など）を吐出可能
- ノズル詰まりしにくい大径ノズル、大滴吐出［ 最大1 nl ］
- デッドボリュームを極小化［ 30 µl ］
- 少量でも取り扱い可能な液吸い上げ対応［ 100 µlの液から実験可能］

www.microjet.co.jp/inkjethead/single/glassjet_series/

Figure 4. GlassJet®ヘッド

Appendix：インクジェット微量分注装置〝 LaboJet®-Bio 〞

〝 LaboJet®-Bio 〞は、ライフサイエンス研究開発分野向けに独自開発した装置です。
バイオマテリアル溶液の微量ハンドリングに特化し、ピエゾインクジェット方式の高精度スポッティングシステムを採用しています。
ライフサイエンス用 GlassJet®を搭載し、過去の実験などで得られたノウハウをもとに、乾燥対策の様々な機能を有しています。

装置特徴	1. バイオチップ・センサーの試作を卓上で実現 2. 最大4種類(オプション)のマテリアルを非接触で高精度スポッティング 3. 吸い上げ、洗浄機能により最大96種類の液種を操作 4. plからnlオーダーで自在に塗布量を多段階デジタル制御 5. Made in Japanの信頼性と安心のサポート体制
用途例	・各種バイオチップ、センサーデバイス作製 ・ハイスループットスクリーニング、コンビナトリアル化学 ・ラテラルフローアッセイ ・マイクロウェル、Micro-TAS、など微細孔への液注入 ・DNA、タンパク、抗体、酵素、試薬のスポッティング
URL	www.microjet.co.jp/productinfo/biotechnology/labojet-bio/

Figure 5. インクジェット微量分注装置 LaboJet®-Bio

Company Profile

社名	株式会社マイクロジェット
URL	www.microjet.co.jp
設立	1997年9月1日
本社	長野県塩尻市大門五番町79-2
東京支社	東京都国分寺市南町3-11-17　尾崎ビル2階
事業内容	• インクジェット産業応用の研究開発支援 • バイオ、エレクトロニクス、3Dプリンタ分野の研究開発用機器の開発 • インクジェット受託試験、試作、工法開発の受託 • 技術コンサルティング • 技術セミナーの開催 • 技術専門書籍の企画・販売
事業沿革	ライフサイエンス分野 2009年　自社製バイオ用ピエゾインクジェットヘッド GlassJet®販売開始 2010年　バイオ研究開発用インクジェット装置 BioPrinter®販売開始 2014年　世界初バイオチップ製造用インクジェット装置 NanoJet®販売開始 2016年　インクジェット式１細胞分離装置 Single Cell Printer販売開始 2017年　ディスポーザブルピエゾインクジェット PipeJet販売開始
受賞歴	2015年　「nanotech大賞2015 日刊工業新聞社賞」受賞：nanotech展主催 2016年　「はばたく中小企業300社」受賞：経済産業省主催 2017年　2017年度「蔵前ベンチャー賞」受賞：一般社団法人蔵前工業会主催

©2022 MICROJET Corporation. 無断複写・転載を禁じます。
The trademarks used herein are the property of MICROJET Corporation or their respective owners.