

高村 禪

北陸先端科学技術大学院大学 マテリアルサイエンス研究科
教授

多チャンネルプレーナ技術による生体組織分子解析とその神経疾患応用

§1. 研究実施体制

(1)「高村」グループ(北陸先端科学技術大学院大学)

① 研究代表者:高村 禪

(北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス研究科、教授)

② 研究項目

- ・PZT アクチュエータアレイの開発
- ・弁・ダイヤフラム機構開発
- ・アドレスタグ合成

(2)「宇理須」グループ(名古屋大学)

① 主たる共同研究者:宇理須 恒雄

(名古屋大学グリーンモビリティ連携研究センター、客員教授)

② 研究項目

- ・培養貫通プレートの開発と細胞質抽出実験
- ・神経細胞ネットワークの開発とハイスループットスクリーニングへの応用

(3)「石垣」グループ(名古屋大学大学院医学系研究科)

① 研究代表者:石垣 診祐 (名古屋大学大学院医学系研究科、特任助教)

② 研究項目

- ・培養組織の提供
- ・病態モデル細胞の構築

(4)「川原グループ」グループ(株式会社ワールドフュージョン)

① 研究代表者:川原 弘三 (株式会社ワールドフュージョン、代表取締役)

② 研究項目

- ・RNA データの解析

§2. 研究実施の概要

本研究では、組織切片や培養細胞ネットワーク等、生体組織中の 2 次元面内にある個々の細胞内の内容を抽出し、位置情報を保ったまま次世代シーケンサや質量分析器に渡すことで、mRNA や代謝物などの分子情報を 1 細胞・1 分子レベルで解析可能とするデバイスの開発を行っている。このために、各測定点に、微小なアクチュエータ等からなる細胞解析ユニットを構築する。

平成 27 年度は、細胞培養プレート上に配置した 1 細胞中の内容を貫通孔から抽出した際、抽出物中の mRNA を回収して定量的に解析できるかどうかを調べた。モデル細胞としてヒト胎児腎細胞由来の細胞(HEK293 細胞)を用い、これに蛍光タンパク質 GFP を発現させ抽出実験のマーカーとして利用した。図 1 に示す様に貫通基板上に細胞を導入し、1 次吸引として 5kPa の陰圧を印加し細胞を微細孔へトラップした。その後、15 kPa まで吸引圧力を増大させることにより、細胞の内容物を抽出した。この抽出物を回収し、逆転写反応と qPCR により GFP の mRNA 数を定量したところ、再現良く相当数の mRNA が検出され、本法により 1 細胞中の RNA を回収・定量できることが確認できた。

またこの作業を高密度で自動化するためにアクチュエータ材料であるチタン酸ジルコン酸鉛 (PZT) 膜とそれを制御するための薄膜トランジスタ (TFT) の集積化を計画している。PZT 膜と TFT アレイを集積化するには、TFT を劣化させない 450°C 以下の温度で PZT 膜を作成することが望ましい。しかしこれまでには圧電効果を示すペロブスカイト相の PZT を結晶化させるには 600°C 以上の熱処理が必要であった。今回、図 2 に示すように

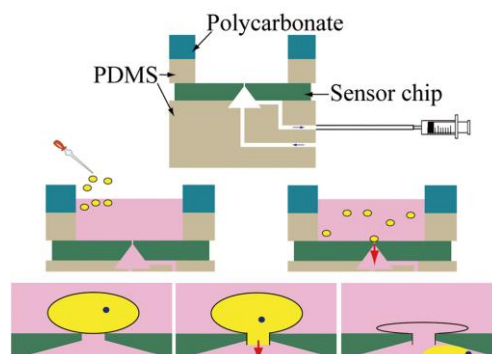


図 1. 微細孔によるの細胞内容物抽出。

この抽出物を回収し、逆転写反応と qPCR により GFP の mRNA 数を定量したところ、再現良く相当数の mRNA が検出され、本法

により 1 細胞中の RNA を回収・定量できることが確認できた。

スピコーティング	5000rpm × 60s
プレアニーリング	80°C × 3min
	250°C × 10min
UV/O ₃ 加熱処理	200°C × 10min
アニーリング (air)	RTA 450°C × 1h

図 2. PZT 膜低温焼結プロセスフロー。

今回、図 2 に示すように

最終熱処理の前にオゾン雰囲気中 200℃で紫外線照射処理を行うことで、450℃以下の熱処理のみで良好なペロブスカイト相の PZT 厚膜の作成に成功した。

また本解析ユニットが完成した際のテスト用サンプルとして、神経疾患モデル細胞の構築を行っている。今回その背景の検証のために、FUS 抑制マウスモデルの高次機能解析を行った。その結果、海馬特異的に FUS を抑制すると、情動を中心とする高次機能障害を呈することを見出し、論文発表を行った(Udagawa et.al, Nat Commun 6, pp.7098, 2015.)。