

高村 禪

北陸先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科  
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

- ① 研究代表者: 高村 禪 (北陸先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科、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
  - ・RNA 抽出実験

### (2) 「宇理須」グループ

- ① 主たる共同研究者: 宇理須 恒雄 (名古屋大学未来社会創造機構、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
  - ・RNA 抽出実験
  - ・播種培養技術開発とチャンネル電流計測
  - ・ヒト iPS から運動ニューロンや大脳皮質神経細胞ネットワークへの分化誘導技術の開発

### (3) 「石垣」グループ

- ① 主たる共同研究者: 石垣 診祐 (名古屋大学大学院医学系研究科、助教)
- ② 研究項目
  - ・培養組織の提供
  - ・病態モデル細胞の構築
  - ・RNA 抽出実験

(4)「川原」グループ

① 研究代表者:川原 弘三 ((株)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

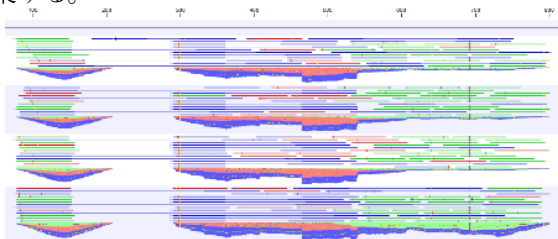
本研究では、組織表面や切片、培養細胞ネットワーク等、2次元面にある個々の細胞中の mRNA や代謝物を、細胞の位置情報を保ったまま抽出し、次世代シーケンサや質量分析機により 1 分子レベルで解析可能とするデバイスの作成を目的としている。このために、各測定点に微小なアクチュエータ等からなる細胞解析ユニットを構築する。

平成 28 年度は、外部圧力制御による第 1 世代の抽出機構を作成し、これを用いて細胞培養プレート上に配置した 1 細胞中の内容物を貫通孔から抽出し、どのような条件でどの程度抽出可能であるか定量的に評価した。評価は、前年度も用いた qRT-PCR に加え、次世代シーケンサを用いて評価し、また細胞外からのコンタミの程度も評価した。図1は、4つの EGFP 発現 HEK293 細胞の内容物を、1 細胞毎に本法により回収し、次世代シーケンサで解析した例である。EGFP 遺伝子へマッピングしたところ、再現のよいプロファイル解析が可能であることが実証できた。また、最も良い条件では 1 細胞より最大 14000 遺伝子が検出できることを確認したが、これは従来の 1 細胞解析法と比べても比較的良い値である。

また、高密度の第 2 世代の抽出機構を作成するために、平成 27 年度までに開発した 450°C 以下の低温で PZT 圧電膜を結晶化させるプロセスを用いてダイアフラムアクチュエータアレイ(図2)を作成した。さらに、これを個別に制御するために印刷技術を用いたアクティブマトリクスアレイの開発を行った[1]。また、効率よく RNA/DNA を取り扱うために、water in oil 型の均一な液滴を高速で生成する方法を開発し、ビーズやゲルの封入も確認した[2]。並行して、本デバイスで解析する予定の神経疾患モデル細胞の構築も進めている。これまで行ってきた、FUS 抑制マウスモデルの高次機能解析および FUS とタウの関連性についてそのメカニズムの詳細を明らかにし、論文化を行った[3]。

### 代表的な原著論文

- [1] Phan Trong Tue, et al., "Combustion synthesized Indium-Tin-Oxide (ITO) thin film for Source/Drain electrodes in all solution-processed oxide thin film transistors", Applied Physics A, 122: 623, 2016.
- [2] Bineet Sharma, et al., "A bulk sub-femtoliter in vitro compartmentalization system using super-fine electrosprays", Scientific Reports, 6:26257, 2016.



4つの EGFP 発現 HEK293 細胞から回収した mRNA 断片の EGFP 遺伝子へのマッピング  
図1 チップ上に形成した貫通孔より回収した 1 細胞中の mRNA の NGS 解析例

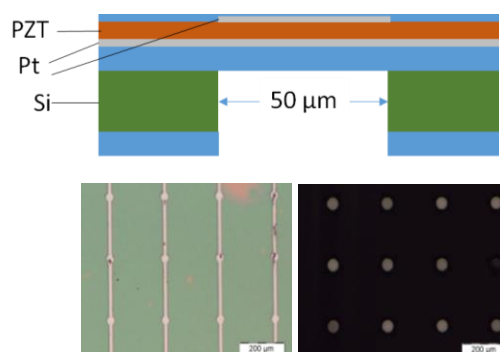


図2 低温焼成 PZT 膜を用いて作成した PZT ダイアフラムアクチュエータアレイ

- [3] Shinsuke Ishigaki, et al. "Altered Tau Isoform Ratio Caused by Loss of FUS and SFPQ Function Leads to FTLD-like Phenotypes", *Cell Rep* 18, 1118-1131, 2017.