

北森 武彦

東京大学大学院工学系研究科
教授

拡張ナノ流体デバイス工学によるピコ・フェムトリットル蛋白分子プロセッシング

§ 1. 研究実施体制

(1) 「デバイス開発」グループ

① 研究代表者: 北森 武彦 (東京大学大学院工学系研究科、教授)

② 研究項目

- ・ pL 空間を用いた細胞プロセッシング法、fL 空間を用いた分子プロセッシング法、サイズインターフェース・超微量ロジスティクスなど、要素技術の開発
- ・ 単一細胞タンパク分析システムの開発
- ・ 研究全体の統括

(2) 「化学プロセス設計」グループ

① 主たる共同研究者: 蓑田 亜希子 ((国研)理化学研究所ライフサイエンス基盤技術センター、ユニットリーダー)

② 研究項目

- ・ 単一細胞タンパク分析の化学プロセスの設計
- ・ pL 空間を用いた単一細胞捕捉、細胞膜破碎・核破碎の検証
- ・ fL 空間を用いた目的タンパク分子捕捉の検証

(3) 「デバイス実応用」グループ

① 主たる共同研究者: 吉崎 歩 (東京大学医学部付属病院、講師)

② 研究項目

- ・ 単一細胞タンパク分析システムの実応用
- ・ 自己反応性 B 細胞の機能解明

§ 2. 研究実施の概要

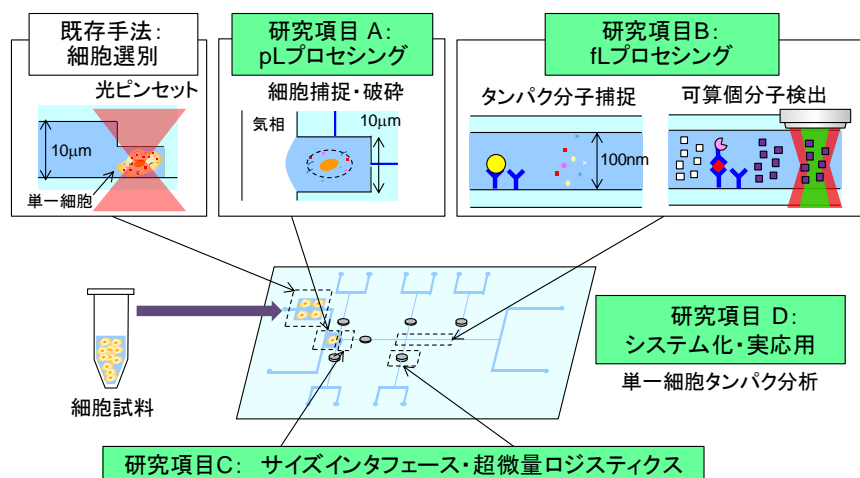


図 本研究の目標

現在単一細胞分析の方法論・機器開発における最も大きな課題は、人(ユーザー)から単一細胞だけではなく、少数分子に至るまで6桁に及ぶサイズ階層の乖離と、極微小空間における化学プロセッシングや超高感度検出の困難さである。本研究では、図に示すように、細胞プロセッシング(pL)／分子プロセッシング(fL)を、研究代表者ら独自の的方法論であるマイクロ流体デバイス／拡張ナノ流体デバイスにより実現して、乖離しているサイズ階層を接続するサイズインターフェース、さらには極微小空間で分取試料を輸送するための超微量ロジスティクスを開発する。これらをシステム化して単一細胞タンパク分析デバイスを実現し、単一 B 細胞研究に実応用することを目的としている。

平成 28 年度は、前年度に引き続き、研究期間前半の目的である単一細胞タンパク分析の要素技術開発(研究項目 A、B、C)に注力した。さらに、本年度に採択された追加予算を活用して、単一細胞分析デバイスの開発(研究項目 D)を加速した。また、本研究の新たな展開として、拡張ナノ免疫分析(ELISA)の方法論を応用して簡便かつ短時間で高感度な分析を実現する薄層液体 ELISA を開発した。これらの結果、単一生細胞分析システムの構築、体積 fL の拡張ナノ空間へのメスピペットの機能の集積化、また、薄層液体 ELISA の原理検証など、当初計画を上回る特筆すべき成果を得た。以下、各項目について述べる。

研究項目 A では、pL プロセッシングを再検討し、体積 pL のチャンバー、拡張ナノ ELISA(研究項目 B)、フィルタリングインターフェース(研究項目 C)を集積化した単一細胞プロセッシングデバイスを作製した。

研究項目 B では、拡張ナノ ELISA において非特異吸着に由来する単一分子レベルの偽信号(アーチファクト)をゼロにまで抑制することで、単一・可算個タンパク分子での検量線を得た。これにより、世界ではじめて単一・可算個でのタンパク分析を実現した。

研究項目 C では、pL チャンバー内に構築したナノピラーアレイにより細胞溶解液に含まれる核や残渣を除去して目的分子を拡張ナノ流路に導入するマイクロ／拡張ナノフィルタリングインター

フェースを創成し、フィルタリングを実証した。これにより、サイズが 100 nm と極めて小さい拡張ナノ流路を詰まらせることなく、単一細胞を溶解してその中の目的分子を拡張ナノ流路で分析することがはじめて可能になった。一方、拡張ナノ流路開閉バルブの研究では、ガラスの微小変形に合わせた拡張ナノ空間の形状の加工を実現して、バルブ閉時のリーク流量が fL/s、耐圧 500 kPa 以上という、分析に必要な性能をはじめて達成した。

研究項目 D では、本年度に採択された追加予算を活用して、単一生細胞から拡張ナノ流路に試料をサンプリングしてその中のタンパク分子を分析する単一生細胞分析デバイスとシステムを開発した。この中で、分析における試料の体積規定の機能を拡張ナノ空間に組み込んだ fL メスピペットを提案しこれを実現した。一方、本 CREST 研究の新たな展開として、拡張ナノ ELISA の方法論を応用して、簡便で短時間になおかつ高感度な分析を実現する新規 ELISA (薄層液体 ELISA) を提案し、これを原理検証することにはじめて成功した。本手法は、医療診断に革新的な方法を与えるとともに、医療現場でより広く利用可能な診断システムの実現に繋がると期待される。

代表的な原著論文

Ling Lin, Kazuma Mawatari, Kyojiro Morikawa, Yuriy Pihosh, Ayumi Yoshizaki, Takehiko Kitamori, “Micro/extended-nano sampling interface from living single cell,” *Analyst*, 142, pp. 1689-1696, (2017), accepted as Back Cover.