

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
  - ・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
  - ・RNA 抽出実験

### (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 29年度は、これまでに作成した第1世代の細胞内容物抽出ユニットをベースに、mRNA 回収率に及ぼす要因を調査し、様々なケースで回収率と再現性の向上を達成した。

また、高密度の第2世代の抽出機構を作成するために、450°C以下の低温で PZT 圧電膜を結晶化させるプロセス[1]を用いて、ダイアフラムアクチュエータアレイを、個別制御用の酸化薄膜トランジスタアクティブマトリックス上に一体集積化することに成功した(図1)。

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。FUS 抑制マウスにおいて、シナプス後膜におけるスパインの成熟異常が高次脳機能に関与することとそのメカニズムの詳細を明らかにし、論文化を行った[2]。また、実際の培養貫通プレート上で、神経疾患モデルであるラット由来の初代培養神経細胞を長期間培養することに成功し、さらにラット FUS 遺伝子に対する shRNA を発現する lentivirus を作成・精製し感染させることで、viability を阻害することなく FUS 発現を抑制できた(図2)。さらに、細胞培養プレートを用いた培養型プレーナリーパッチクランプの改良により、高品質のイオンチャンネル電流の計測に成功した(図3)。

### 代表的な原著論文

- [1] Shimura, R., Tue, P.T., Tagashira, Y., Shimoda, T., Takamura, Y., "Solution-based process with thermal UV treatment for fabrication of piezoelectric PZT films for an actuator array at temperatures under 450 °C", *Sensors and Actuators A: Physical* 267, 287-292, 2017.
- [2] Yokoi, S., Udagawa, T., Fujioka, Y., Honda, D., Okado, H., Watanabe, H., Katsuno, M., Ishigaki, S.\*, and Sobue, G. 3'UTR length-dependent control of SynGAP isoform  $\alpha 2$  mRNA by FUS and ELAV-like proteins promotes dendritic spine maturation and cognitive function. *Cell Rep* 20, 3071-3084, 2017 (\*corresponding author).

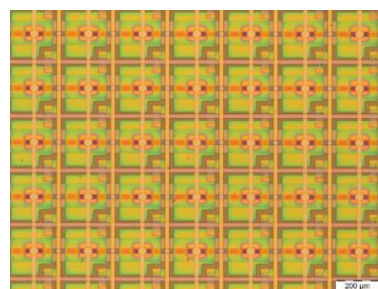


図1 TFT アクティブマトリックス上に作成した PZT アクチュエータアレイ

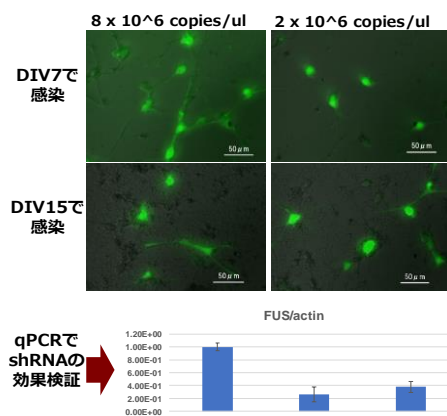


図2 開発した培養貫通プレート上で培養中の神経疾患モデル細胞

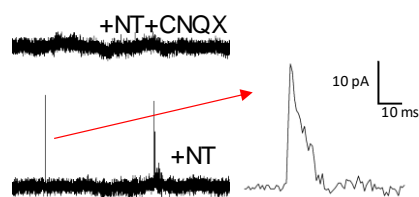


図3 開発した培養貫通プレート上で得られたチャンネル電流波形