

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 (理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター 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 (東京大学医学部附属病院 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

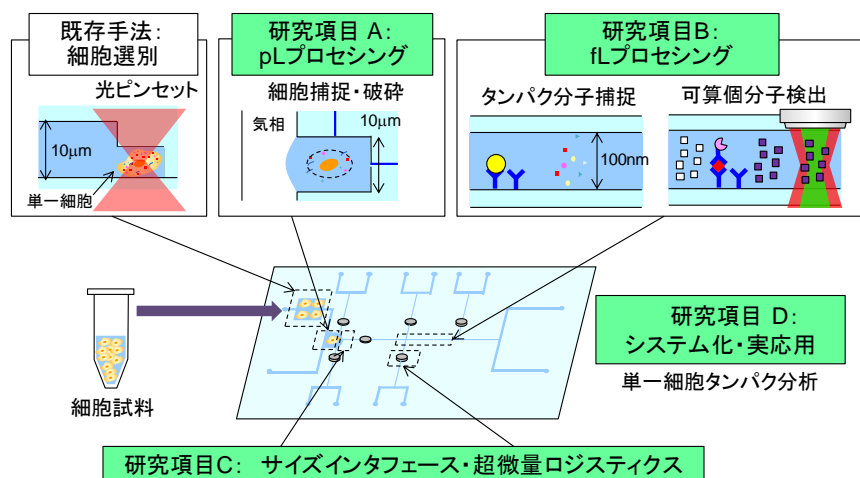


図 本研究の目標

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化学的増幅が困難なタンパクに対して1細胞レベルの極限分析デバイスを実現し、単一細胞研究に実用することを目的としている。

平成29年度は、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)について当初目的をほぼ達成し、さらに研究を進める中で新たに生じた課題に取り組んだ。また、当初計画より1年早く昨年度から着手しているシステム化・実用化(研究項目D)については、昨年度に引き続き本年度も追加支援を頂いて研究をさらに加速・推進した。その結果、pLの細胞プロセッシングからfLの分子プロセッシングまで全てを統合集積化した単一生細胞タンパク分析デバイスの動作検証にはじめて成功するなど、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、液体の濡れのピン止め効果を利用した体積pLのチャンバーを新たに開発して、チャンバー内の細胞プロセッシングで問題となっていた液体のリークを防止した。これにより、単一細胞中の目的分子を逃さず全て拡張ナノ流路に導入することを可能にした。

研究項目Bでは、拡張ナノ空間を利用したELISAデバイスの洗浄方法を開発して、10回程度までの繰り返し測定を検証した。これにより、同一の単一細胞タンパク分析デバイスの繰り返し利用によるキャリブレーションや複数細胞の分析を可能にした。

研究項目Cでは、ガラスの微小変形を利用した拡張ナノ流路開閉バルブを昨年度までの厚さ数10µmのガラスシートではなく数100µmのガラス基板に作製することに成功した。これにより、単

一細胞タンパク分析デバイスへのバルブの実装を可能にした。

研究項目 D では、本年度採択された追加支援を活用して、fL-pL の極限化学プロセッシングを統合集積化した単一細胞タンパク分析デバイスの開発を加速・推進した。多数のマイクロ・拡張ナノ流路で構成され集積回路のように複雑化したデバイスでの流体制御法を開発して、単一生細胞タンパク分析デバイスの動作をはじめて検証した。

代表的な原著論文:

Kentaro Shirai, Kazuma Mawatari, Ryoichi Ohta, Hisashi Shimizu, Takehiko Kitamori, "A single-molecule ELISA device utilizing nanofluidics," *Analyst*, pp. 943-948, 2016.