

高村 禪

北陸先端科学技術大学院大学
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 (名古屋大学革新ナノバイオデバイス研究センター、特任教授)
- ② 研究項目
 - ・培養貫通プレートの開発
 - ・細胞抽出実験

(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物を抽出し、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。

本年度は、まず細胞の内容物が、チップ上に形成された微細な貫通孔から、吸引により抽出可能なことを確認した。早急に確認するために、新たな貫通プレートの開発を待たず、宇理須らが開発済みのプレーナーパッチクランプ用基板を流用・改造して用いた。又抽出に必要な、圧力等のおおまかな条件を調べることも目的とした。

マウス胚性細胞株 P19 細胞に、蛍光タンパク質である Venus(YFP の変異体)をプラスミドを用いて遺伝子導入し、標的細胞を作製した。この標的細胞を微細貫通孔上へ吸引(5 kPa)により誘導する(図1左)。配置を確認後さらに吸引圧力を増大(15 kPa)させる事で標的細胞の内容物を微細孔へ抽出する(図1右)。この吸引前後の蛍光強度を比較することにより、細胞内容物の抽出率を計算すると 80%と見積もられた。今回の算出法では、細胞内の蛍光物質の量を、自家消光や吸収の影響で低く見積もっている可能性があり、実際の抽出率はもう少し高いと考えられる。抽出率や最適な吸引圧力等は細胞の種類によっても異なると考えられるが、今回の結果によれば、現実的な条件で、ある程度の質の抽出が可能であることが示唆された。

本年度は、これに加えて、細胞解析ユニットを開発するための基礎プロセスの開発も行っている。具体的には、多数の微細貫通孔を持つ細胞培養プレートをリーズナブルな価格で作成するためのプロセス開発、効率的にアクチュエータアレイを作成するための PZT 膜の作成プロセスの開発、これらを制御するためのアクティブマトリックスの開発、アドレスタグの合成法の開発に着手した。並行して、ALS 病理モデル組織の開発も行っている。

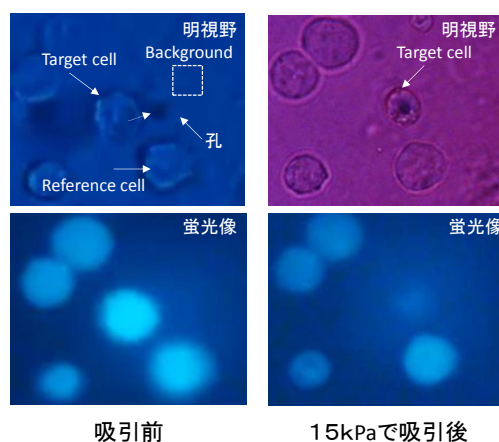


図1. 細胞内容物の抽出の確認。蛍光物質 Venus を発現させたマウス胚性細胞株 P19 細胞の蛍光強度が吸引後減少している。これは細胞内容物が微細孔へ抽出されているからと考えられる。抽出率は蛍光強度変化より 80% 以上と見積もられる。