

「統合1 細胞解析のための革新的技術基盤」
平成26年度採択研究代表者

H26年度
実績報告書

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 (東京大学医学部附属病院、助教)
- 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

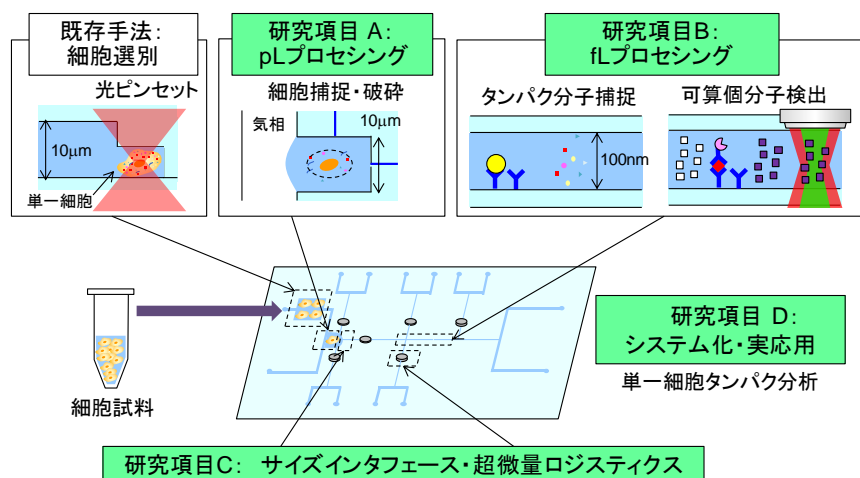


図 本研究の目標

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 26 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)に取り組んだ。また、研究期間後半に取り組むデバイスシステム開発(研究項目 D)についても、光ピンセットを用いた自己反応性 B 細胞選別システムの開発に着手した。研究開始後からのチーム内ミーティングにおいて、単一細胞タンパク分析デバイスの設計レビューを計 5 回実施した。これにもとづき、本研究推進のための設備を整備し、図に示す pL プロセッシング(研究項目 A)及び fL プロセッシング(研究項目 B)に必要な化学の単位操作(細胞捕捉・破碎、分子捕捉、検出など)や流体操作についての検討や基礎的な実験を実施し、凡そ当初計画通りの進捗を達成した。その中で、単一細胞分析デバイスの実現に不可欠な流体素子である流路開閉バルブ(研究項目 C)の動作原理を検証できた点は、当初計画を上回る特筆すべき成果といえる。以下、各研究項目について述べる。

研究項目 A では、単一細胞を捕捉・破碎・溶解する pL プロセッシングを検討するためのマイクロチップを設計・作製し、単一細胞チャンバー(体積 33 pL)への単一細胞の捕捉と気液界面ラプラス圧による捕捉液相の保持を検証した。

研究項目 B では、単一細胞分析デバイスの実応用として想定する自己反応性 B 細胞の機能解析に向けた拡張ナノ ELISA で用いる抗体やプロトコルについて検討した。

研究項目 C では、単一細胞分析デバイスの実現に不可欠な流路開閉バルブを開発し、バルブの動作原理を検証した。これにより、流路の切替や単位操作(混合、反応、分子捕捉、etc.)の集積化など高度な流体制御がはじめて可能になった。

研究項目 D では、光ピンセットを用いた自己反応性 B 細胞選別システムの開発に向けて既存の設備を整備し、自己反応性 B 細胞選別デバイスを設計した。

平成 27 年度は、本年度の単一細胞分析デバイスの基礎検討と検証実験の成果にもとづき研究を推進する。