

マイクロファブリケーションを用いた単一細胞実時間発現解析

●安田 賢二

東京大学大学院・総合文化研究科、スタンフォード大医学部

〈研究の目的と進め方〉

時々刻々変化する mRNA あるいは微量調節タンパク質の発現を、細胞状態と対応づけるために単一細胞レベルで細胞内状態を時系列解析し、それに由来する微量タンパク質の細胞機能における生理的意味を解明する新たな手法を提案することを目的とする。具体的には、単一細胞内での mRNA の発現解析（人為的導入・発現を含む）を、細胞の状態と対応させて行うことのできる細胞ハンドリング技術・解析技術について原理検討を行いたい。単一細胞の顕微蛍光観察技術とマイクロファブリケーション技術を組み合わせた新技術を開発することによって、細胞群の状態を観察しつつ、特定の状態にある細胞を操作抽出した後に、一過的に発現する微量 mRNA を同定し、これらの情報を比較することで細胞のダイナミクスとの関連を明らかにするという点で、その重要性、緊急性、新規性が高い。また、本研究においては、バイオチップ技術において未だ未開拓な試料調製・前処理技術の確立にも重点を置き、組織細胞群レベルからの単一細胞の抽出・単一細胞内の細胞質成分の分離精製技術が 1 細胞レベルの分子生物学あるいは生物物理学にあらたなアプローチ法を提供することを目指す。

〈研究開始時の研究計画〉

上記目的を達成するために、本研究では、まず顕微解析システム内に、1細胞をハンドリングする一連のツールを組み込んだマイクロチップの試作を行う。具体的には、マイクロファブリケーション製作技術および水処理／親水処理技術による微量液滴操作技術、セルソーター技術の開発、集束光による光ピンセット・局所加熱技術、超音波輻射圧による攪拌・捕獲・濃縮・流動技術、電場による遺伝子泳動技術等の試料ハンドリング技術と、細胞内への mRNA 等のインジェクション技術を盛り込んだマイクロチップと、そのチップ中の単一細胞を操作・観察する顕微鏡システムとからなる。

〈研究期間の成果〉

H12年度は、上記1)の「1細胞連続培養観察装置系」を開発した。装置は、スライドガラスに径30ミクロン程度の穴をマイクロ加工技術で掘り、この中に大腸菌を1匹閉じ込めた後、半透膜で上面をシール（ガラスと半透膜とはビオチン・アビジン結合で接着）したもので、さらにこの半透膜の上に培養液還流槽を設けることで、一定の培養溶液条件下での 1 細胞の活動を連続で顕微鏡観察できるものである。さらに光ピンセットと組み合わせることで特定の細胞を選択することも可能である。実際、本装置を用いることで、大腸菌 1 細胞の成長（伸長）速度、分裂周期を測定したり、細胞数を増やして相互衝突することが成長・細胞分裂にどのような影響をもたらすか、単離した 1 細胞が分裂してできた子細胞と親細胞との成長速度・分裂周期の違いなど従来の測定では計測できなかった 1 細胞の振る舞いを測定し、同一の遺伝子を持つ細胞相互の機能の違い等も測定できる装置の開発を推進した。

〈国内外での成果の位置づけ〉

本提案は、残念ながら本[ゲノム]課題には、初年度のみ採択されただけで、1年のみの提案となってしまった。しかし、JST大型プロジェクト（JST権利化試験、JSTプレベンチャー、JST先端計測、NEDOプロジェクト）に採択され、別予算ではあるが、目的は達成されつつある。また、この成果に基づき、研究の一部は、Stanford大学でも評価され、研究が更に展開されつつある。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

上に述べたように、研究テーマは、最初の1年のみの採択（すなわち、1年未満）であったため、このプロジェクト中では、結果を出すことができなかった。新しい技術を開発する課題については、せめて2年は、研究継続の機会を与えられなければ成果を出すことは難しい。

〈今後の課題〉

本課題については、初年度のみで終了したため、課題については、すでに別プロジェクトにて達成しており、本予算に基づいた今後の課題については無い。

〈研究期間の全成果公表リスト〉