

新宅マイクロ流体工学理研白眉研究チーム

理研白眉研究チームリーダー 新宅 博文 (D.Eng.)



(0) 研究分野

分科会:工学

キーワード: マイクロ流体、一細胞解析、界面動電現象、核酸、次世代シーケンシング

(1) 研究背景と研究目標

本研究チームではmicro/nanoスケールにおける流れおよび物質輸送に関する研究を行っています。我々は特に電場により生じる流れ、すなわち界面動電現象を利用したマイクロ流体システムを開発し、生化学分析や細胞工学への応用を目指しています。最近我々は、電気穿孔および等速電気泳動を用いて一細胞の細胞質および核を数十秒で分画する技術を開発し、同じ一細胞の細胞質RNAおよび核RNAを次世代シーケンシングで分析することを可能にしました。この技術を用いて細胞内におけるRNAの局在や核-細胞質間の輸送を明らかにすることを目指しています。

(2) 2019年度成果と今後の研究計画(中長期計画2025年度まで)

成果: 我々は電場を活用して1細胞から細胞質成分を抽出するマイクロ流体技術を開発しており、これを応用した1細胞電気泳動解析の確立を目指している。本年度は、細胞質成分の抽出におけるRNA分子の流動現象について力学的観点から考察した。ここでは慢性白血病由来のK562細胞株を用いて、抽出過程におけるRNA分子の挙動を観察した。細胞質のRNA分子の状態として溶液中に分散した状態と、粒子状に凝集した状態の二状態が観察され、それぞれが異なる流動現象を示すことがわかった。具体的には分散状態のRNA分子は粒子状のそれと比較して短時間で細胞外へ抽出され、その抽出過程は単調かつ再現性の高いものであった。一方で粒子状に凝集したRNA分子は間欠的な抽出過程を示し、細胞ごとにばらつきを示した。この抽出過程に観察された細胞ごとのばらつきの由来を明らかにするため、細胞の顕微鏡画像から取得した形態情報と抽出の時定数を相関解析し、粒子状のRNA分子はミトコンドリア由来のRNA分子であり、それらの局在状態が抽出過程を左右することがわかった。さらに数値解析からRNA分子の抽出過程は電気泳動に支配されており、分子拡散による影響は相対的に小さいことがわかった。自由溶液中におけるRNA分子の電気泳動移動度がその長さに依存しないことを勘案すると、電気泳動を活用した本開発方法がRNA分子の長さに依存しない均一な抽出を実現する方法であることを示唆している。

今後の研究計画: 1細胞の細胞質成分の電気泳動解析を並列で実現するマイクロ流体システムを開発する。マイクロ流体システムは48個の1細胞の並列解析を実施する。これを達成するため、我々は、複数の細胞を含む細胞分散溶液を導入すると、水頭差による受動的な流れで細胞を誘導し、電気泳動解析用のマイクロ流路1つずつに1細胞を捕捉するマイクロ流路構造を開発する。また、48の電気泳動解析用マイクロ流路に対して均一に外部電場が与えられる構造を設計する。これに加えて、本マイクロ流体システムの制御装置を開発する。制御装置は流れおよび電場を順次制御し、蛍光顕微鏡画像から電気泳動図を再構成する。さらに、電気泳動解析と遺伝子発現解析を接続するためのカラーコードビーズを開発する。カラーコードビーズとは蛍光特性とDNAバーコードが対応する微小ビーズであり、オンチップで計測する細胞の蛍光画像、電気泳動図と次世代シーケンス解析の接続を可能にする。具体的には、あらかじめマイクロ流路にカラーコードビーズを導入し、48の電気泳動解析用マイクロ流路出口に配置する。それぞれのカラーコードを蛍光顕微鏡画像から読み出し、細胞画像、電気泳動図およびカラーコードを紐付けする。カラーコードは微小ビーズ生産の段階でDNAバーコードとあらかじめ紐付けされているため、次世代シーケンス解析を用いた遺伝子発現解析と同時にDNAバーコードを読み出すことで、細胞画像、電気泳動図および遺伝子発現解析結果の全てが紐付けできる。これら異なるモダリティから得られる情報を統合し、多角的に細胞状態を定量する方法を構築する。

(3) 研究室メンバー

(2019年度)

(理研白眉研究チームリーダー)

新宅博文

(研究員)

小口祐伴

(特別研究員)

Mahmoud Atta、金子泰洗ポール

(テクニカルスタッフ)

西川香里、

Sangamithirai Subramanian
Parimalam

(大学院生リサーチ・アソシエイト)

土田新

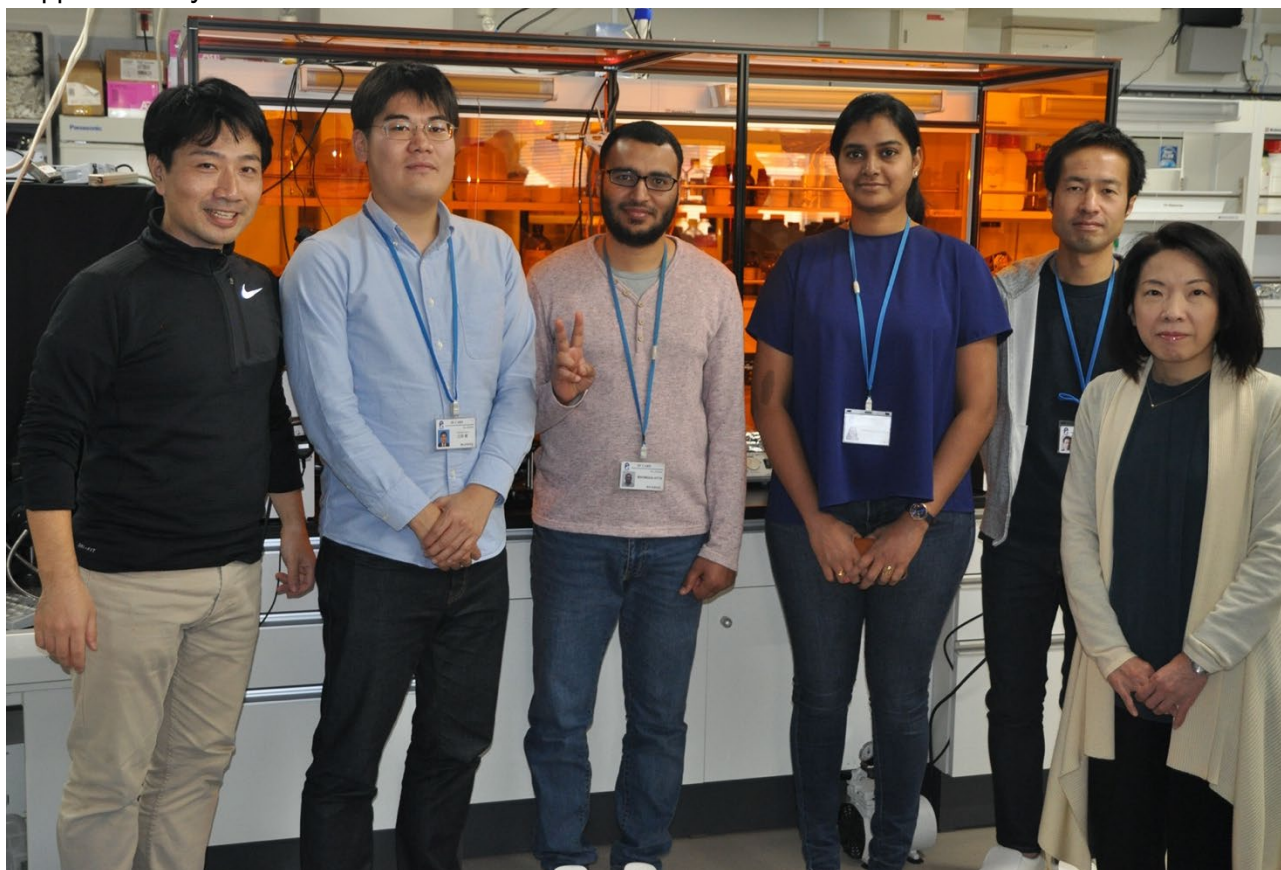
(アシスタント)

森田めぐみ

(4) 発表論文等

1. “Distinct Kinetics in Electrophoretic Extraction of Cytoplasmic RNA from Single Cells”, Mahmoud N. Abdelmoez Yusuke Oguchi, Yuka Ozaki, Ryuji Yokokawa, Hidetoshi Kotera, and Hirofumi Shintaku, **Analytical Chemistry** Vol. 92, No. 1, pp. 1485-1492 (2020).
2. “SINC-seq法による1細胞多階層解析”, 新宅博文, 小口祐伴, 飯田慶, **実験医学** (羊土社) Vol.37, No.20(増刊)Vol. 6, No. 4, pp.3533-3538 (2019).

Supplementary



Laboratory Homepage

https://www.riken.jp/research/labs/hakubi/s_microfluid/index.html

<https://www.hshintaku.com/>