



(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なっています。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) 2021年度成果と今後の研究計画(中長期計画2025年度まで)

(A) ELASTomicsの開発

細胞膜の膜張力と遺伝子発現を1細胞解像度で計測するELASTomics (Electroporation-based Lipid-bilayer Assay for Surface Tension and transtomics)という新しい方法を開発した。この方法は、ナノスケールの集中電場を利用して細胞膜に可逆的に微小孔を形成する際、その半径が膜張力依存的に決まることを活用した方法である。微小孔を介してDNAタグがついた様々な大きさのデキストラン分子を細胞内部へ導入し、導入されたデキストラン分子の量と大きさ分布から膜張力を算出する。デキストラン分子の特定と定量はDNAタグの定量により実施し、1細胞の遺伝子発現解析との統合解析により膜張力と遺伝子発現を大規模に解析できる。これまでにがん細胞の悪性度および細胞の複製老化と膜張力の関係を探査し、細胞膜の力学的表現型を左右する責任遺伝子を探査した。

今後の計画 ELASTomicsを様々な細胞へ展開し、その有用性の範囲を探査する。

(B) 電気泳動解析と遺伝子発現解析を統合するカラーコードハイドロゲルビーズの開発

微小マイクロ流体システムから得られる細胞画像および電気泳動図と遺伝子発現データを統合するためのカラーコードハイドロゲルビーズを開発した。カラーコードハイドロゲルビーズは、DNAバーコードを表面に修飾した微小ハイドロゲルビーズであり、DNAシーケンス解析と蛍光計測の組み合わせによりその配列を特定できる。この方法により、最大で256通りの特定が可能である。

今後の計画 カラーコードハイドロゲルビーズを活用した細胞アッセイの有用性を示す。

(C) 1細胞の細胞質分子を電気泳動解析する並列化マイクロ流体システムの開発

1細胞の細胞質成分の抽出と電気泳動解析を並列化するマイクロ流体システムの開発を行った。開発したシステムは、1細胞ずつ操作する既報のマイクロ流路と異なり、細胞導入用のマイクロ流路から並列に48本の電気泳動用流路が枝分かれする形状をしている。並列する48本の電気泳動用流路全てを蛍光顕微鏡で観察するため、電動ステージで微小マイクロ流体システム全体を巡回しながら高感度カメラ(Orca Flash 2.8, Hamamatsu Photonics)で撮影した。取得した画像は1視野あたり $815\ \mu\text{m} \times 815\ \mu\text{m}$ であり、同一座標で撮影した連続フレーム間の相互相関係数から蛍光分子の移動距離を算出し、それを元に電気泳動図を再構成する方法を開発した。

今後の計画 カラーコードハイドロゲルビーズと並列化マイクロ流体システムを統合し、細胞画像、電気泳動解析および遺伝子発現解析を統合し、マルチオミクス解析を実現する。

(3) 研究室メンバー

(2021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(さきがけ専任研究員)

(特別研究員)

金子泰洸ポール

塩見晃史

鳥井孝太郎

西川香里

(大学院生リサーチ・アソシエイト)

土田新

(研究パートタイマー)

川崎 真由

渡邊 慶子

(アシスタント)

森田めぐみ

(テクニカルスタッフ)

(4) 発表論文等

論文

1. Akifumi Shiomi, Kohjiro Nagao, Nobuhiro Yokota, Masaki Tsuchiya, Utako Kato, Naoto Juni, Yuji Hara, Masayuki X. Mori, Yasuo Mori, Kumiko Ui-Tei, Motohide Murate, Toshihide Kobayashi, Yuri Nishino, Atsuo Miyazawa, Akihisa Yamamoto, Ryo Suzuki, Stefan Kaufmann, Motomu Tanaka, Kazuya Tatsumi, Kazuyoshi Nakabe, Hirofumi Shintaku, Semen Yesylevsky, Mikhail Bogdanov, and Masato Umeda, Extreme Deformability of Insect Cell Membranes is Governed by Phospholipid Scrambling, Cell Reports, Vol.35, Issue 10 (2021), 109219.

招待講演

1. Hirofumi Shintaku, Exploring transcriptional noise in subcellular compartments with on-chip electrophoretic fractionation of cytoplasmic versus nuclear RNAs, Human Cell Atlas Asia General Meeting 2021, 15th November (2021).
2. 新宅 博文, 核と細胞質に存在するトランスクリプトノイズの1細胞定量, 情報計算法学生物学会 2021年大会, オンライン, 2021年10月27日.
3. 新宅 博文, マイクロ・ナノ電気穿孔を用いた1細胞ダイナミクス分析, 日本機械学会 2021年度 年次大会, J301-01, オンライン(千葉), 2021年9月6日.

受賞

1. 塩見晃史, 金子 泰洸ポール, 西川 香里, 新宅博文, 日本機械学会 2021 年度年次大会 優秀講演論文表彰, 2022年1月18日
2. 塩見晃史, 日本生物物理学会 若手招待講演賞, 2021年11月26日

Supplementary



Group photo of RIKEN Microfluidics Hakubi Research Team

Laboratory Homepage

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

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