

課題番号 : F-14-UT-0084  
 利用形態 : 機器利用  
 利用課題名(日本語) : 1細胞エピジェネティック解析に向けた動物細胞染色体の操作技術の開発  
 Program Title (English) : Development of Single-Cell Epigenetic Analysis Technique for Mammalian Chromosomes  
 利用者名(日本語) : オケヨ ケネディ, 鷲津 正夫  
 Username (English) : K.Okeyo, M. Washizu  
 所属名(日本語) : 東京大学大学院工学系研究科  
 Affiliation (English) : Graduate School of Engineering, The University of Tokyo

## 1. 概要(Summary)

遺伝情報の担い手である DNA は、動物細胞の場合 1 本が数 mm から数 cm に及ぶ。この長大な DNA は、ヒストンと呼ばれるタンパク質に巻き付き、クロマチンファイバーと呼ばれる DNA-タンパク質複合体を形成し、それが高度に折りたたまれて核内に格納されている。染色体の研究モデルとしてよく利用される分裂酵母は 3 本の染色体をもつが、そのうちの一本を伸長されて得られるクロマチンファイバーの長さが数百  $\mu\text{m}$  程度であり、比較的ハンドリングしやすい。これに対し、動物細胞のクロマチンファイバーは mm~cm オーダーと長く、その形態制御は容易ではない。本研究では、マイクロ流体デバイス内で染色体を断片化なしに単離し、さらに光ピンセットと流れ制御を用いることで、動物細胞のクロマチンファイバーの形態制御を行っている。本研究を通じて、これまで困難であった一細胞レベルでの染色体エピジェネティック解析を可能にしようとしている。

## 2. 実験(Experimental)

染色の単離およびその伸長化のプロセスを Fig. 1 に示す。流路に低張液を導入することで、浸透圧ショックによって細胞をバーストさせ、クロマチンファイバーを取り出す。次に、抗体修飾マイクロビーズでクロマチンファイバーを掴み、さらに光ピンセットを用い、クロマチンファイバーを流れのせん断力を受けやすい主流の位置に移動させる。塩濃度と流速を調節しながら、断片化無しにクロマチンファイバーを直鎖状に伸長化させる。なお、本研究で使用したデバイスは、フォトリソグラフィ法で作製したモールドを用い、PDMS を象りして作製した。モールド作製に使用したフォトマスクは東大 VDEC で作製した。

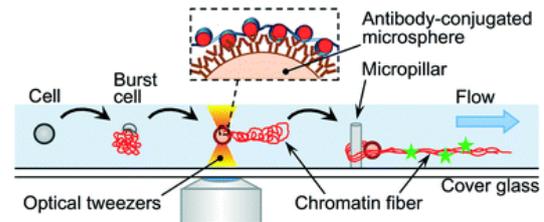


Fig. 1 Chromatin isolation and extension process

## 3. 結果と考察(Results and Discussion)

マイクロ流体デバイス内に導入した個々の細胞を浸透圧ショックでバーストさせ、個々に分かれた染色体を得ることができた (Fig. 2A, B)。次にこれら単離した染色体を、主流のせん断力を利用して伸長化させた (Fig. 2C)。これにより、長大な動物細胞の染色体をクロマチンファイバーに構造展開することに成功した。

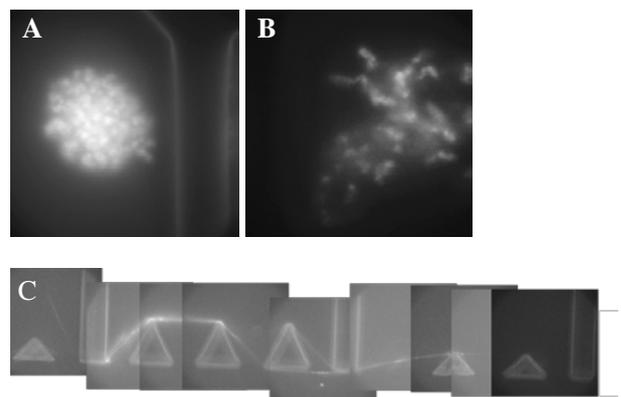


Fig. 2 Isolation and extension of chromatin fiber. (A) Isolated chromosomes 25 min after burst, (b) shear stress induced chromosome expansion (c) chromatin fiber extension at 1 M NaCl.

## 4. その他・特記事項(Others)

謝辞: 共同研究者である東京大学大学院工学系研究科機械専攻の小穴英廣准教授および伊藤哲久氏に謝意を表す。

## 5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

Oana et al., Lab Chip, 14, pp. 696-704 (2014)