

課題番号 : F-14-UT-0155  
利用形態 : 機器利用  
利用課題名(日本語) : マイクロドロップレットチャンバーを利用したデジタルバイオロジー  
Program Title (English) : Digital Biology using Micro Droplet Chambers  
利用者名(日本語) : 小野 堯生、張 翼、大林 祐介、野地 博行  
Username (English) : Takao.Ono, Yoku. Cho, Yusuke.Obayashi, and Hiroyuki.Noji  
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)

本研究は、「生体分子1分子計数・ダイナミクス計測法」を確立する。具体的には1分子デジタル ELISA 法を中心に、タンパク質や DNA 数を直接数え上げ、絶対定量することで細胞機能との相関を明らかにしていく。一方で様々な種類の DNA や RNA を含むライブラリから、1つの DNA, RNA からのタンパク質発現を行う、スクリーニングのための方法も開発する。このような、生体分子を 0 と 1 の状態で表すことができる状態での計測を開発し、デジタルバイオロジーの裾野を広げる。そのために、ミクロンサイズの W/O Droplet が 100 万個並んだアレイを利用して1分子感度を有する様々な検出を行う。

## 2. 実験(Experimental)

利用した装置:

- 高速大面積電子線描画装置
- マスク・ウェーハ自動現像装置

チャンバーアレイを作成するためのガラスマスク作製のため、高速大面積電子線描画装置を用いて、クロム蒸着されたガラス上にパターン描画。

その後、マスク・ウェーハ自動現像装置群を用いて現像し、ガラス上のクロム層をエッチングし、ガラスマスクを作成した。このマスクを使用してチャンバーアレイ作成を行っている。

## 3. 結果と考察(Results and Discussion)

デジタル計数法を行うためには、フェムトリットルオーダーの均一な微小溶液を数万個以上同時に作製し、取り扱わなければならない。このような微小溶液を作製する方法として、我々は以前にドロップレットチャンバーというものを開発した。これはマイクロメートルサイズの親水/疎水パターンが施されたガラス基板上に微小 Water-in-Oil ドロップレットアレイを作製する方法である。ガラス基板に水相を滴下した後油を滴下すると親水部のみに水が保持され、均一な微小溶液が形成される。また、このドロップレ

ット中において  $\beta$ -gal の 1 分子酵素アッセイにも成功している。

本年度は、 $\beta$ -gal のみならず、インフルエンザウイルスの 1 粒子検出に取り組んだ。その結果、感染性を有する粒子数より、ウイルス粒子全体の数がおおよそ 100 倍程度多いことが分かった。このことは、ウイルスのほとんどが感染性を持っていないことを示している。近年、このような報告が他のグループからもなされるようになり、ウイルス感染を理解する上で非常に興味深い結果となっている。また、本法によって、病院などで行われる簡易検出より 10 倍から 100 倍程度の高感度化も達成した。

## 4. その他・特記事項(Others)

競争的資金

科学研究費補助金、CREST、先端計測  
共同研究者

飯野亮太(岡崎統合バイオ)、田端和仁(東京大学)、渡邊力也(東京大学)、Soo Hyeon Kim(東京大学)、千葉陵太郎(アボットジャパン)

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

- (1) Watanabe R, Soga N, Yamanaka T and Noji H, High-throughput formation of lipid bilayer membrane arrays with an asymmetric lipid composition, Scientific Reports. (2014)
- (2) Watanabe R, Soga N, Fujita D, Tabata KV, Yamauchi L, Kim SH, Asanuma D, Kamiya M, Urano Y, Suga H and Noji H, Arrayed Lipid Bilayer Chambers Allow Single-Molecule Analysis of Membrane Transporter Activity, Nature Communications. (2014)

## 6. 関連特許(Patent)

なし