

課題番号 : F-18-UT-0038
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : マイクロ流体デバイスを用いた1細胞由来染色体の識別技術の開発
Program Title (English) : Development of identification technology of a chromosome with using microfluidic device
利用者名(日本語) : 村山航, 臈吹尚広, 小穴英廣
Username (English) : Wataru Murayama, Naohiro Ibuki, Hidehiro Oana
所属名(日本語) : 1) 東京大学大学院工学系研究科
Affiliation (English)) : 1) Department of Mechanical Engineering, The university of Tokyo
キーワード/Keyword : マイクロ流体デバイス、染色体、dCas9、リソグラフィ・露光・描画装置

1. 概要(Summary)

細胞には、遺伝情報の記録媒体として DNA が存在する。DNA はヒストンというタンパク質に静電相互作用によって巻き付き、DNA-ヒストンの複合体であるクロマチンを構成している。ヒストンがメチル化などの化学修飾を受けることでクロマチンが凝縮し、遺伝子の発現が抑制されることが知られている。このため、クロマチン凝縮領域の分布を解析する研究が数多くなされている。しかし、クロマチンは力学的ストレスに弱く、ピペッティングなどの実験操作によって容易に断片化してしまう。そこで当研究室では、マイクロ流体デバイスを用いることで、特定の番号の染色体を識別した上で、クロマチンの断片化を抑えつつ、その染色体の凝縮領域の分布を「その場で」解析する技術を開発している。また、本研究で使用するマイクロ流体デバイスは、電子線描画装置で作製したクロムマスクを用いて、フォトリソグラフィによって PDMS 製のデバイスを作製している。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

- ・超高速大面積電子線描画装置
- ・マスク・ウエーハ自動現像装置群

【実験方法】

※B) C)の工程をプラットフォーム支援機関で実施した。

- A). L-edit でマイクロ流体デバイスのデータを作製。
- B). 高速大面積電子描画装置で A) のデータを元にしてクロムマスクにマスクデータを描画。
- C). クロムマスクをマスク・ウエーハ自動現像装置群で現像。
- D). シリコンウエーハに SU8 をスピコートし、露光装置でマスク上のパターンをシリコンウエーハに転写。
- E). シリコンウエーハを現像し、PDMS に転写してマイクロ流体デバイスを作製。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

Fig.1 に、作製したマイクロ流体デバイスの概形を示す。マスクには 2 本の主流路と、主流路に沿ったマイクロポケット、クロマチンを固定するためのマイクロピラーが描画されている。

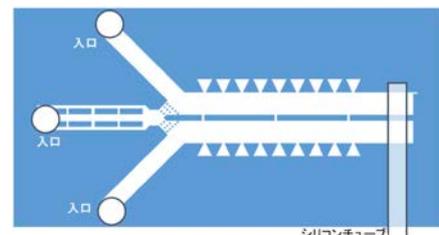


Fig. 1 : General form of microfluidic device

このデバイスを使用し、動物細胞からの染色体単離および特定番号の染色体識別を実現した(Fig.2)。

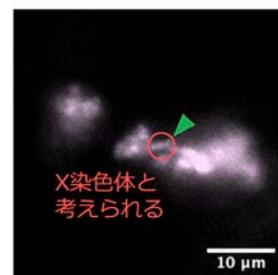


Fig. 2 : The fluorescence observation image of X chromosome visualized with dCas9-GFP

今後、先行研究において確立された染色体の伸展技術を用いて、特定の染色体のみが有する性質についての評価を行う予定である。

4. その他・特記事項(Others)

なし

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

なし

6. 関連特許(Patent)

なし