

## プレーナーパッチクランプによる単一細胞からの細胞内容物の抽出

## Extraction of the cytoplasm from single cell using planar patch clamp arrangement

名大工<sup>1</sup>, 名大医<sup>2</sup>, JST-CREST<sup>3</sup>, 東北大<sup>4</sup>, 北陸先端大<sup>5</sup>○宇野 秀隆<sup>1,3</sup>, 王 志宏<sup>1,3</sup>, 石垣 診祐<sup>2,3</sup>, 石塚 徹<sup>4</sup>, 高村 禪<sup>3,5</sup>, 宇理須 恒雄<sup>1,3</sup>Nagoya Univ. Sch. Eng<sup>1</sup>, Nagoya Univ. Sch. Med.<sup>2</sup>, JST-CREST<sup>3</sup>, Tohoku Univ.<sup>4</sup>, JAIST<sup>5</sup>○H. Uno<sup>1,3</sup>, Z-H. Wang<sup>1,3</sup>, S. Ishigaki<sup>2,3</sup>, T. Ishizuka<sup>4</sup>, Y. Takamura<sup>3,5</sup>, T. Urisu<sup>1,3</sup>

E-mail: hideuno@gym.nagoya-u.ac.jp

同一の組織内において形態学的に均一と考えられる細胞であっても、各細胞の遺伝子発現プロファイルはそれぞれ異なり、それぞれの細胞の性質に反映する。こうした細胞の多様性は腫瘍や神経変性を含む多くの病気の病理機構に深く関与することが知られている。従って、単一細胞の持つタンパク質やRNA等の生体分子の特性を分析し、さらに明確化する事は、難病の原因・発症・進行メカニズムなどを明らかにできる可能性を有している。プレーナーパッチクランプを用いる単一細胞分析は、個々の細胞の位置情報を保持し、一度に膨大な数の生きた細胞の分子情報を網羅的に処理できることが大きな利点である。

本研究では、プレーナーパッチクランプ単一細胞解析技術の開発をめざして、プレーナーパッチクランプ基板を用いて単一の細胞体より細胞内容物の抽出を試みた。抽出実験テスト細胞としてマウス胚性腫瘍細胞(P19 細胞)を用いた。細胞内容物に蛍光タンパク質 GFP の改変型である Venus を遺伝子発現させ抽出実験のマーカースとして利用した。細胞はまず一次吸引 (5 kPa) により、プレーナーパッチクランプチップの微細貫通孔 (2  $\mu\text{m}$ ) 上へ配置した。その後、細胞膜破壊を目的に二次吸引として 15 kPa まで吸引圧力を増大させることにより、細胞の位置を保持した状態で、細胞内の Venus 蛍光強度の急速な減衰を確認した。この蛍光強度の減衰は細胞膜が微細貫通孔地点での吸引圧力により細胞膜が破壊され細胞内用物が抽出された結果である。我々はさらにこの抽出溶液を回収し、Venus の mRNA を逆転写し、リアルタイム PCR を用いた定量解析を準備中である。詳細については当日報告する。

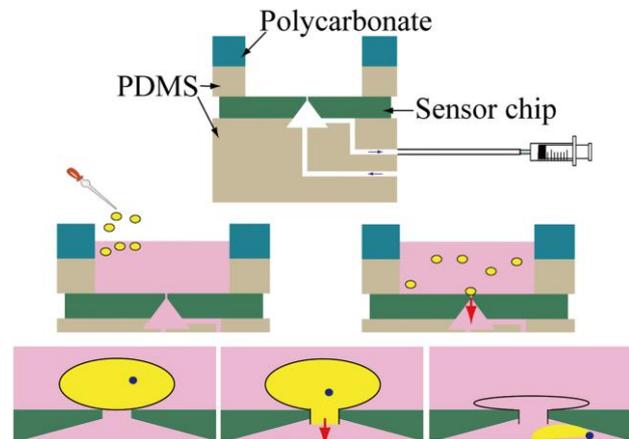


Fig. 1 Principle of extraction

of the cytoplasm from a single cell.

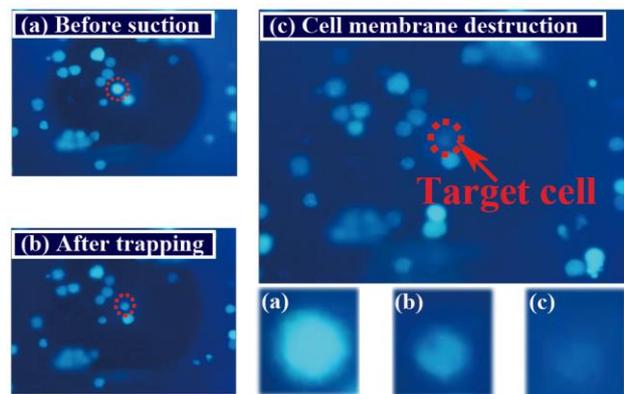


Fig. 2 Observation of the fluorescence reduction with a single cell on the micro-pore of the patch clamp chip by suction.