

補助事業番号 2024M-391

補助事業名 2024年度 高度な細胞利用社会を目指した高収率巨大DNA導入デバイス開発  
による細胞機能改変手法の創出 補助事業

補助事業者名 東京大学大学院工学系研究科 小穴英廣

## 1 研究の概要

本事業では、本事業者等の独自技術である高収率な電界集中型・電気細胞融合技術を応用・発展させ、巨大DNA分子を高収率に標的細胞へ導入すると共にその細胞動態を経時観察するマイクロ流体デバイスを開発する。そして、このデバイスを用いて細胞の機能改変の過程を明らかにする事を通じ、遺伝子治療をはじめとした細胞医療に適用可能な、巨大DNA導入に基づいた新規で高収率な細胞機能改変手法を創出することを狙っている。本事業においては、巨大DNA分子を封入したベシクルと標的細胞を1:1融合させるというDNA導入アプローチを取る点がユニークであり、DNA導入量やタイミングを制御して標的細胞へ導入できることから、細胞の機能変化を高収率で引き起こす実験パラメータの同定を効率的に行えるという優位性があり、従来では困難であった巨大DNAの細胞導入を容易にすると共に導入に伴う機能改変発現効率を飛躍的に高められることが期待される。

## 2 研究の目的と背景

細胞機能改変・制御技術は、医療分野のみならず育種、物質/エネルギー生産といった非常に幅広い分野において、今後更に高度化され利用が拡大していくと予想されている。そして近年では、最先端バイオテクノロジーの活用によって社会が直面する様々な課題の克服が進んだ、持続的で再生可能性のある循環型の社会の実現を目指す動きも出はじめている。ここで、高度な細胞機能改変を実現するため、複数の遺伝子を搭載するなどした巨大なDNA分子を細胞へ導入する技術の要請があるが、そのニーズを満たす技術は確立していない。このため、応用が先行している医療分野であっても、遺伝子治療を始めとした細胞医療は適用範囲が限られている。

そこで、本事業においては、巨大DNAを高収率で細胞へ導入し、その後の細胞の動態を1細胞レベルで経時観察する事ができるマイクロ流体デバイスを開発し、このデバイスを用いて細胞の機能改変の過程を明らかにする事を目的とする。本事業を通じ、遺伝子治療をはじめとした細胞医療に適用可能な、巨大DNA導入に基づいた新規で高収率な細胞機能改変手法を創出する事を目指す。

## 3 研究内容

### (1) 巨大DNA封入・均一粒径ベシクル調製技術構築

([http://www.bnti.t.u-tokyo.ac.jp/Rep\\_JKA2024.html](http://www.bnti.t.u-tokyo.ac.jp/Rep_JKA2024.html))

複数の遺伝子を搭載可能な長さ領域のDNAとして全長が48.5 kbのDNAを試料として用いた。均一粒径ベシクルは、まず、フローフォーカシング型のマイクロ流体デバイスを用いて水相にDNAを添加した油中水滴を作製し、次いで界面通過法によって得た(図1)。

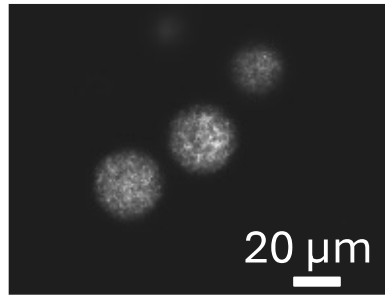


図1: 作製した巨大DNA封入・均一粒径ベシクルの蛍光顕微鏡像。ベシクルに内封されたDNAが蛍光色素によって可視化されているところ。

## (2) ベシクル-細胞融合-細胞動態経時観察デバイスの開発

([http://www.bnti.t.u-tokyo.ac.jp/Rep\\_JKA2024.html](http://www.bnti.t.u-tokyo.ac.jp/Rep_JKA2024.html))

DNA封入ベシクルと細胞を1対1で融合させると共に、その融合体を経時観察出来る仕様のマイクロ流体デバイスを開発した。このデバイスを用いることで、導入量やタイミングを制御して標的細胞へDNAを導入できることから、細胞の機能変化を高収率で引き起こす実験パラメータの同定を効率的に行うことができる。

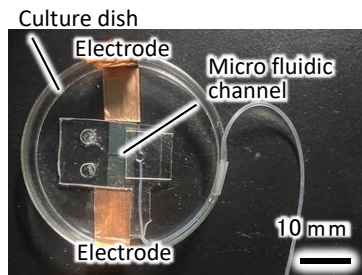
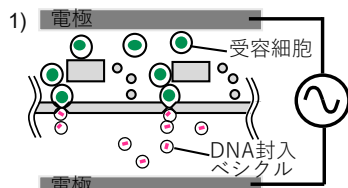
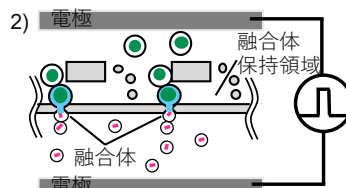


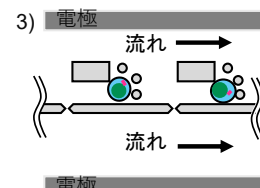
図2: 開発したマイクロ流体デバイスの概観（左図）。マイクロ流体デバイス内におけるベシクルと細胞の融合および経時観察の実験手順（下図）。



1) 電極  
誘電泳動による微細小孔を挟んだ受容細胞とベシクルのペア形成。



2) 電極  
融合によるDNAの導入。



3) 電極  
受容細胞の保持領域への誘導及び経時観察。

## 4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

細胞への巨大な遺伝子の導入・細胞機能改変の効率化が実現すれば、これまで治療（遺伝子導入）困難であった塩基対数が巨大な遺伝子の異常が原因である疾患への遺伝子治療適用の道が拓かれる。そして、治療法開発費の低減や開発期間の短縮化が期待できるため、遺伝子治療の対象となる疾患（患者が少なく現状では研究対象とならない疾患も含め）の範囲が広がることが期待される。したがって本研究は、将来的には、医療分野のみならず育種、物質/エネルギー生産といった非常に幅広い分野において、機能を改変された細胞が利用されるという社会の形成に貢献することが期待される。

## 5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

本事業者はこれまで、微細微細構造を有するマイクロ流体デバイスを用いた、高収率な細胞機能改変技術の開発に取り組んできている。本事業は、これまでの研究を応用発展させ、巨大なDNA分子を細胞へ定量的に導入する事を通じて高収率に細胞機能改変を行うことを目指したものとなっている。

## 6 本研究にかかわる知財・発表論文等

(1) 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第50回研究会(ポスター発表)

弦本賢斗, 黒澤修, 小穴英廣

生体適合性を有する均一粒径リポソームの作製とその細胞機能改変技術への応用

(2) 第47回 日本分子生物学会年会(ポスター発表)

巨大DNA封入・均一粒径リポソームと細胞との融合・経時観察マイクロデバイスの開発

秋山千裕, 弦本賢人, 黒澤修, 小穴英廣

## 7 補助事業に係る成果物

該当無し

## 8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名: 東京大学(トウキョウダイガク)

住 所: 〒113-8656

東京都文京区本郷7-3-1

担 当 者: 准教授 小穴英廣(オアナヒデヒロ)

担 当 部 署: 大学院工学系研究科(ダイガクインコウガクケイケンキュウカ)

E - m a i l: oana@mech.t.u-tokyo.ac.jp

U R L: <http://www.bntl.t.u-tokyo.ac.jp>