

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		ナノ粒子を標識として用いた微小空間での1細胞発現 mRNA 無増幅定量計測技術の開発			
研究テーマ (欧文) AZ		Quantitative detection of expressed mRNA in a single cell using nano-particle labels			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓)キム	名)ヒョン Chol	研究期間 B	2008 ~ 2009 年
	漢字 CB	金	賢徹	報告年度 YR	2010年
	ローマ字 CZ	KIM	HYONCHOL	研究機関名	財団法人神奈川科学技術アカデミー
研究代表者 CD 所属機関・職名	金 賢徹 財団法人 神奈川科学技術アカデミー・常勤研究員				
概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)					
<p>個々の細胞の内部では様々な生体分子が動的な結合・解離を繰り返しており、その結果が細胞の性質として反映される。したがって、これら生体分子の結合・解離状態、数と空間局在分布を計測することは、生命の本質を理解する上で必須の事項である。本研究では、標的分子の空間局在分布を1細胞単位で網羅的に計測することを可能とするために、様々な粒径・元素のナノ粒子を作製して標的分子を網羅的かつ選択的に標識し、電界放出形走査電子顕微鏡(FE-SEM)でその存在位置と種類を高空間分解能で定量計測する方法の開発を行った。</p> <p>はじめに様々な生体分子を同時標識するための金属ナノ粒子ラベル作製方法を開発した。ポリスチレン球の表面を真空蒸着法により様々な金属で被覆することにより、粒径が揃った15種類以上の金属ナノ粒子を作製することに成功した。また、有機物分解処理を行い鑄型ポリスチレン球を分解することにより、FE-SEM 観察に適した中空キャップ状のナノシェルを作製することに成功した。</p> <p>次に作製した金属ナノ粒子を用いて、標的生体分子を高感度且つ選択的に標識する技術を開発した。金属ナノ粒子のさらに表面に薄い金の層を形成することにより、これまで分子修飾が困難であった素材の粒子表面に生体分子を固定化する方法を開発した。DNA を使用して従来の蛍光標識法と比較した結果、金属ナノ粒子を標識として利用することにより感度が1,000倍、S/N比が100倍程度向上することを確認した。</p> <p>最後に標識した金属ナノ粒子の種類をFE-SEM 反射電子計測により識別する技術を開発した。観察時加速電圧と各元素間の輝度比の関係を調べ、少なくとも6種類以上の金属素材を同時識別できることを確認した。</p> <p>本研究で開発した要素技術を組み合わせることにより、今後1細胞内に存在する生体分子の空間局在分布を網羅的に可視化し定量計測することができると期待している。</p>					
キーワード FA	1細胞レベル計測	無増幅分子発現解析	金属ナノ粒子	走査型電子顕微鏡	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Quantitative evaluation of a gold-nanoparticle labeling method for detecting target DNAs on DNA microarrays							
	著者名 ^{GA}	H. Kim, H. Takei, K. Yasuda	雑誌名 ^{GC}	Sensors and Actuators B: Chemical					
	ページ ^{GF}	6~10	発行年 ^{GE}	2	0	1	0	巻号 ^{GD}	144 (1)
雑誌	論文標題 ^{GB}	Production of Size-Controlled Nanoscopic Cap-Shaped Metal Shells							
	著者名 ^{GA}	H. Kim, H. Takei, K. Yasuda	雑誌名 ^{GC}	Japanese Journal of Applied Physics					
	ページ ^{GF}	1~2	発行年 ^{GE}	2	0	1	0	巻号 ^{GD}	49 (4) 048004
雑誌	論文標題 ^{GB}	Quantitative backscattered electron imaging of field emission scanning electron microscopy for discrimination of nano-scale elements with nm-order spatial resolution							
	著者名 ^{GA}	H. Kim, T. Negishi, M. Kudo, H. Takei, K. Yasuda	雑誌名 ^{GC}	Journal of Electron Microscopy					
	ページ ^{GF}	1~7	発行年 ^{GE}	2	0	1	0	巻号 ^{GD}	doi:10.1093/jmicro/dfq012
雑誌	論文標題 ^{GB}	Production of Nanoparticles Using Several Materials for Labeling of Biological Molecules							
	著者名 ^{GA}	H. Kim, H. Takei, K. Yasuda	雑誌名 ^{GC}	Japanese Journal of Applied Physics					
	ページ ^{GF}	1~7	発行年 ^{GE}	2	0	1	0	巻号 ^{GD}	49 (8) 087001
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

Living system is composed of many and various cells, and the dynamic self-organization of an assembled cellular system dictates response of the living organism. In the process, a few "characteristic" cells often play a major role, therefore, identification of those "characteristic" cells are crucial for understanding of responses by living organisms. To identify such cellular properties, expressions of key biomarkers in a cell should be minutely studied.

In this study, a method to measure numbers and spatial distributions of expressed biomolecules in a cell was developed. In this method, biomolecules were labeled using nano-particles (NP) composed of various sizes and materials. The NP labels were produced by coating surfaces of polystyrene beads with various metals using thermal deposition method. Moreover, void cap-shaped NPs, which are suitable for the nanoscale label in field emission scanning electron microscopy (FE-SEM), were also produced with an application of UV-ozone oxydization to remove polystyrene bead cast.

The labeling abilities of produced NPs were tested using DNA hybridization system. The DNAs were immobilized on surfaces of various metal NPs by forming thin gold layer onto the metal NPs. Abilities of target DNA detection of NP labeling method were compared with that of fluorescent labeling. In result, detection sensitivity and S/N ratio of NP labeling were 1,000 and 100 times higher than that of fluorescent labeling, respectively.

For the characterization of metal NP kinds, intensities in a FE-SEM backscattered electron (BE) image were used. By using BE observation mode of FE-SEM, at least six kinds of metal NPs were simultaneously discriminated.

The developed method would achieve simultaneous measurement of exhaustive molecular expression in a single cell.