

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		1細胞プロテオーム解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Single-cells proteome analysis			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓)ウキタ	名)ヨシアキ	研究期間 B	2014 ~ 2015 年
	漢字 CB	浮田	芳昭	報告年度 YR	2014 年
	ローマ字 CZ	Ukita	Yoshiaki	研究機関名	山梨大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		浮田芳昭 山梨大学・総合研究部			
概要 EA (600字～800字程度にまとめてください。) ベシクルの開発に於いてはリン脂質の2分子膜からなるリポソームの開発に取り組んだ。eggPC, DOPC, の2種類のリン脂質を用いて液滴法によるリポソーム作成を検討し作成条件を検討した。検討した作成法は静置水和法と液滴移行法の2種類である。まず、静置水和法ではグルコースやスクロース水溶液を用いて脂質膜を水和させてリポソームを調整した。これにより安定なマルチメラジャイアントリポソームを得た。さらに、グルコースとスクロースの混合比を変化させることでリポソームの比重を調整し、溶媒中で受ける浮力を調節できることを確認した。さらに均一サイズ液滴をテンプレートとすることで均一なリポソームの作成を試みた。マイクロ流体デバイスにより均一サイズの W/O エマルジョンを生成し、これを脂質を溶解したオイル相を水相と積層した2相系に連続注入する実験を行った。この結果マイクロ流路内での液滴の融合が観察され液滴の安定性に課題があることが示唆された。また、2相系に適用された水滴は1部オイル相から水相に移行しリポソームを形成する様子が観察された。今後収率の向上のためにさらなる最適化が必要である。 抗体固相化ポリスチレン微粒子の調整法を確立し液相中反応により検量線を得られた。径 20 μ m ポリスチレン微粒子に抗 MouseIgG 抗体を物理吸着し、MouseIgG を溶かしたリン酸緩衝液中に均一に分散し MouseIgG を作用させ、蛍光色素 (FITC) を標識した抗体を作用させると、MouseIgG の濃度に応じて蛍光量が応答することを確認した。					
キーワード FA		1細胞解析	マイクロ流体デバイス		

(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}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
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}

For the attempt of the development of vesicles, the lipid bilayer based vesicle were developed. Two types of lipids (eggPC, DOPC) were chosen as the start material of the liposomes, and these were applied for two types of liposomes preparation schemes, simple swelling of lipid film method and droplet transfer method. In the case of swelling method, aqueous solutions of glucose and sucrose were used to prepare liposomes and stable multilamellar giant liposomes with size greater than several tens micrometer were successfully synthesized. Moreover the density of the liposomes were tuned by changing the mixing ratio of the glucose and sucrose solution to obtain various buoyancy in medium solution. Synthesis of monodispersed liposome is attempted by means of droplet transfer method. Microfluidic device is developed to generate monodispersed water droplet. The generated water droplets were applied on to the two phase system that consist of water phase and oil phase. As the result the generated water droplet intends to merge in the microfluidic device therefore there is still some important subject to improve the stability of droplet. On the other hand we observed the successful transfer of the water droplet from oil phase to water and conversion to liposome, wile further improvement of transfer rate have to be investigated.

For the demonstration of cell analysis we developed antibody modified polymer microsphere using polystyrene microbead and obtained calibration curve of antigen. Polystyrene microbead with 20 um diameter is immobilized with anti mouse IgG antibody and the bead is suspended in the antigen solution to capture the antigen and fluorescently labeled antibody is applied to consist immunocomplex. The increase of fluorescence signal is successfully confirmed and calibration curve is obtained.