

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 8 月 25 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22079

研究課題名(和文) マイクロ流体破碎を用いた細胞膜の裏側解析技術

研究課題名(英文) An analytic method for the intracellular domain of cell membranes by microfluidic disruption

研究代表者

山口 哲志 (Yamaguchi, Satoshi)

東京大学・先端科学技術研究センター・准教授

研究者番号：80398106

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：光応答性細胞付着剤を修飾したマイクロ流路を用いて、細胞膜の裏側や細胞内小器官表面の膜タンパク質を網羅的に1細胞解析する技術を開発した。光応答性細胞付着剤表面に光を照射することで、流路の底面に1細胞アレイを構築した。高速の送液により細胞を破碎し、細胞底面の膜(細胞膜シート)のアレイを高効率に得る技術を開発した。電子顕微鏡観察により、このシート上では各種小胞や細胞骨格繊維が観察された。また、細胞の運動性に関わる受容体の細胞内ドメインのリン酸化を検出できた。破碎時の細胞間隔を狭めることで、細胞頭頂部のみを破碎できることを発見し、細胞内小器官を残したまま破碎する技術も開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞膜の内側や細胞内小器官表面に存在する膜タンパク質は、様々な生命現象や疾患に関わる。しかし、細胞膜透過性の無い抗体などの解析ツールや薬剤ライブラリを生きたままの状態で作動させられなかった。また、膜タンパク質への修飾や結合を1細胞レベルで解析出来なかった。本研究成果により、直前まで生きていた細胞の細胞膜の裏側や細胞内小器官表面に対し、界面活性剤や有機溶媒などで膜構造を壊すことなく、分子を作用させられるようになった。今後は、この革新的な技術によって標的膜タンパク質の修飾や局在、結合分子を可視化・同定することで、関連する分子システムの解明に貢献し、創薬標的の探索にも有効であると期待される。

研究成果の概要(英文)：We have developed a technique for high-throughput single-cell analysis of membrane proteins both on the inside of cell membranes and on the surface of intracellular organelles using microfluidic channels modified with a photo-responsive cell immobilization reagent. First, single-cell arrays were constructed at the bottom of the channels by irradiating light patterns onto the surface. The immobilized cells were disrupted by high-speed pumping in the channel, achieving efficient construction of arrays of the bottom cell membrane (cell membrane sheet). Electron microscopic observation revealed various vesicles and cytoskeletal fibers on these sheets. In addition, phosphorylation of intracellular domains of receptors involved in cell motility could be detected on the sheets. By narrowing the cell intervals, we found that only the cell parietal can be selectively disrupted, leading to cell disruption with remaining intracellular organelles intact.

研究分野：バイオプロセス工学

キーワード：膜タンパク質 1細胞解析 細胞膜 細胞内小器官 光応答性材料 細胞固定化剤 分子イメージング

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

細胞膜周辺の分子システムは、細胞外の環境と細胞内の分子システムとを繋ぐ重要なインターフェースであり、分子生物学の基礎研究から創薬までの幅広い分野で盛んに研究されている。細胞膜の表側(細胞外側)の分子に対しては、標識抗体や合成小分子薬剤などを直接作用でき、その動態や機能の解析、薬剤探索などが実施されてきた。一方、細胞膜の裏側(細胞内側)表面にこれらの分子ツールや薬剤候補化合物をアクセスさせるには細胞膜を透過させる必要がある。しかし、細胞膜は高度な選択性を有し、分子ツールや薬剤を細胞外から自由に透過させることはできない。従って、細胞膜の裏側の分子の解析や制御法の開発には大きな制限があるのが現状であった。

2. 研究の目的

本研究では、細胞付着剤を修飾したマイクロ流体デバイスを用いて細胞を瞬時に破碎し、直前まで生きていた細胞の細胞膜裏側の表面に直接、自由自在に分子ツールを作用させ、膜近傍の分子システムを単一細胞レベルで定量的に解析する技術の開発を目的とした。また、この技術を用いて、細胞の表現型と細胞膜裏側の分子状態との関係を 1 細胞解析することが可能であるかどうかも調べた。

3. 研究の方法

(1) 細胞破碎方法

我々は申請前のプロジェクトにおいて、マイクロ流体を用いて細胞を瞬時に破碎し、細胞膜の裏側表面が露出したシート状の細胞膜(細胞膜シート)だけを基板に残す方法を見出した。具体的な方法は、以下の通りである。(1)マイクロ流路の底面にポリエチレングリコール(PEG)と脂質から成る細胞付着剤(PEG脂質)を用いて細胞を並べて固定化する。(2)大きな流速で緩衝液を流し、マイクロ流体のせん断応力によって細胞を瞬時に破碎する。(3)細胞膜表面を解析するための抗体などの分子ツールを直ちに作用させ、顕微鏡観察によって解析する。この方法では、基板に平行な層流が細胞側面だけを切断するため、細胞底面の膜は影響を受けず、無傷の細胞膜シートが得られ、直前まで生きていた細胞の細胞膜の裏側分子を解析することが可能となる。実際に、この細胞膜シート上に蛍光標識抗体を作用させると、膜タンパク質の細胞内ドメインが染色され、細胞膜裏側の分子の翻訳後修飾を解析できることが示されている(Izuta, *et al, Sci. Rep.*, 2017, 7, 14962)。

(2) 細胞配置方法

我々は光応答性の PEG 脂質を開発し、細胞を光パターンニングする技術も開発してきた(Yamahira, *et al, Macromol. Biosci.*, 2014, 14, 1670-1676)。この技術を用いて 1 細胞アレイを作成し、細胞の運動性や膜タンパク質の細胞内トラフィッキングの 1 細胞定量解析に成功してきた(Tan, *et al, Lab Chip*, 2017, 17, 1933-1938)。そこで、この技術を用いて細胞を 1 細胞ずつ並べて破碎し、均一なサイズの細胞膜シートアレイを作成する。具体的には、(1)マイクロ流路の底面に光応答性の PEG 脂質を修飾する。(2)光の微細パターンを底面に照射することで、1 細胞ずつ附着できる微小な面積の細胞附着スポットのアレイを構築する。(3)細胞を流路内に播種し、数分静置して細胞をスポットに附着させた後、附着していない細胞を洗い流す。以上の方法で、流路底面に望みの間隔で配置した 1 細胞アレイを構築し、細胞破碎工程に供する。

(3) 細胞解析方法

細胞の表現型と細胞膜裏側の分子状態との関係を 1 細胞解析するワークフローを確立するために、モデル細胞として、ロイコトルエン B4(LTB)受容体を発現するマウス proB 細胞株(BaF3)を用いる。この LTB 受容体は免疫細胞の遊走と脱顆粒に関与する。最近、LTB の感作濃度に応じて受容体の細胞内ドメインが二段階にリン酸化され、そのリン酸化の数の変化が二つの細胞機能の発現に関与していることが報告された(Nakanishi, *et al, Sci. Signal.*, 2018, 11, aao5390)。そこで、上記(2)の方法によって、LTB を感作させたモデル細胞を並べた 1 細胞アレイを流路内に構築する。形態変化の観察後、上記(1)の方法で細胞を破碎し、抗リン酸化チロシンや抗リン酸化スレオニン抗体を作用させて、受容体の細胞内ドメインのリン酸化を計測する。個々の細胞に対して、細胞の形態変化と細胞膜裏側のリン酸化の画像解析を行い、両者の関係を調べた。

4. 研究成果

(1) 光分解性細胞付着剤の改良

これまで細胞破碎時に用いてきた細胞付着剤(PEG脂質)と比較して、1 細胞アレイの構築のために用いてきた光分解性 PEG 脂質は細胞付着力が弱く、細胞破碎時に必要な高速送流の 10 分の 1 の流速でほとんどの細胞が外れてしまうことが分かった。そこで、細胞付着力の強い光分解性 PEG 脂質の開発を行った。細胞を附着する際に細胞膜と相互作用する脂質部位と、光分解性リンカーとの間の構造を変えた小ライブラリーを合成し、細胞付着力の強い光分解性 PEG 脂質

を探索した結果、エチレングリコールのオクタマ を挿入したものが最も強く、これまで細胞破碎に用いてきた通常の PEG 脂質と同等の細胞付着力を有することが分かった (図 1)。このように、高速送流に耐えられる細胞付着力を有する光分解性 PEG 脂質を開発することに成功した (Jarzemska, et al, *Biomater. Sci.*, 2019, 7, 4514–4518; 特許出願済)。

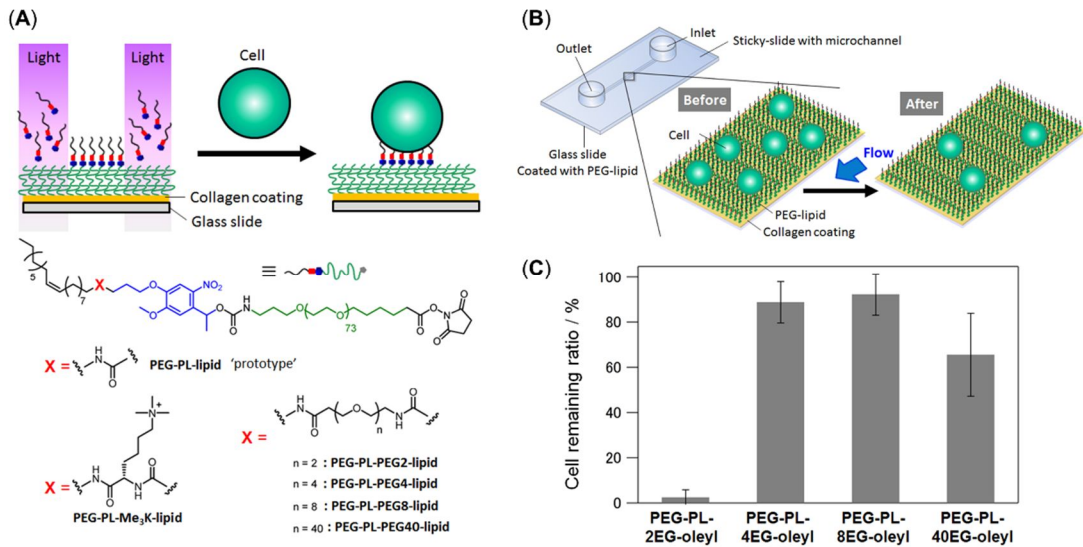


図 1. 細胞付着力の高い光分解性 PEG 脂質の開発 . (A) 光分解性 PEG 脂質を用いた細胞の光配置の概念図と付着力改善のための候補分子ライブラリの構造的 . (B) 細胞付着力を評価するマイクロ流路系の概念図 . (C) 候補分子 (一部) を修飾した表面上での細胞残存率 .

(2) 1 細胞アレイ上での細胞破碎の観察

細胞膜裏側の 1 細胞レベルの定量的な解析を可能にするため、光活性化型の PEG 脂質 (論文 revise 中) を用いて 1 細胞アレイを作成し、細胞破碎を介して細胞膜シートアレイを形成することを目指した。光活性化型 PEG 脂質は、照射を施した領域にのみ強固に細胞を付着させることができる。そこで、マイクロ流路の底面に光活性化型 PEG 脂質を修飾し、細胞サイズのスリット (直径 : 10 ~ 18 μm) を様々な間隔 (25 ~ 400 μm) で照射し、細胞を播種した。10 分静置後、流路内に生理条件のリン酸緩衝液 (PBS) を流したところ、非照射領域の細胞が洗浄され、1 細胞アレイが構築できた。本実験には、細胞の破碎と膜シートへの変換を確認するために、細胞質を緑色蛍光色素 (Calcein-AM) で

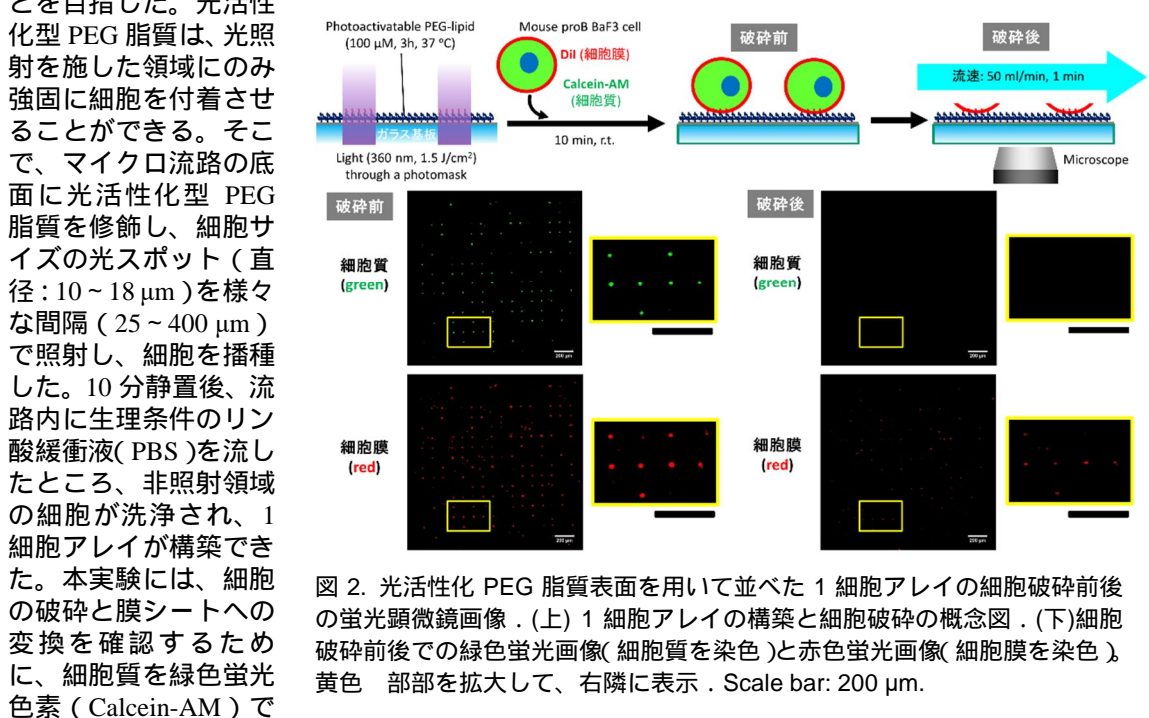


図 2. 光活性化 PEG 脂質表面を用いて並べた 1 細胞アレイの細胞破碎前後の蛍光顕微鏡画像 . (上) 1 細胞アレイの構築と細胞破碎の概念図 . (下) 細胞破碎前後での緑色蛍光画像 (細胞質を染色) と赤色蛍光画像 (細胞膜を染色) . 黄色 部部を拡大して、右隣に表示 . Scale bar: 200 μm.

染色し、細胞膜を赤色蛍光色素 (DiI) で染色したマウス proB 細胞株 BaF3 細胞を用いた。流速を 50 μl/min に上げて細胞を破碎したところ、細胞が配置されていた場所で緑色蛍光が消失し、暗い赤色蛍光のみが残存した (図 2)。共焦点レーザー顕微鏡を用い、蛍光の積層画像を取得し、側面からの像を観察したところ、細胞破

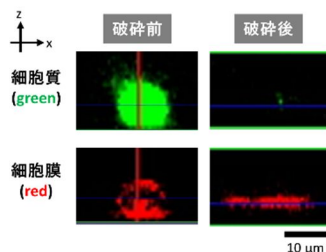


図 3. 細胞破碎前後での共焦点 3D 画像 (x-z 平面画像:側面観察画像) 蛍光は図 2 と同じ . Scale bar: 10 μm.

碎前は細胞質を有する半球状の細胞が、破碎後に底面の膜のみに変換されていることが示された(図3)。これらの結果より、光活性化型 PEG 脂質表面上で、1細胞ごとの細胞膜シートのアレイが構築できることが示された。

(3) 1細胞アレイ上での細胞破碎条件の検討

1細胞アレイの細胞間隔と細胞膜シートへの変換効率との関係を調べた。その結果、細胞間隔が短いと、細胞質の緑色蛍光が少量残存し、細胞膜の赤色蛍光も細胞破碎前と変わらない程度であった(図4A, 細胞間隔 25 μm)。これより、細胞膜が部分的に損傷し、細胞質成分がある程度放出されるが、細胞膜は全体的に残存していると考えられ、底面の細胞膜のみの細胞膜シートには変換されていないことが示唆された。そこで、細胞破碎後に、緑色蛍光が消失し、赤色蛍光が存在する場所を、細胞膜シートに変換された場所として、各条件において変換効率を計測した(図4B)。その結果、細胞間隔が 50 μm 以上の場合、80%以上の細胞が細胞膜シートに変換されることが分かった。これは、細胞間隔が十分に広いと、細胞の側面に強いせん断応力がかかるが、細胞間隔が狭いと、細胞の頭頂部にのみストレスがかかる

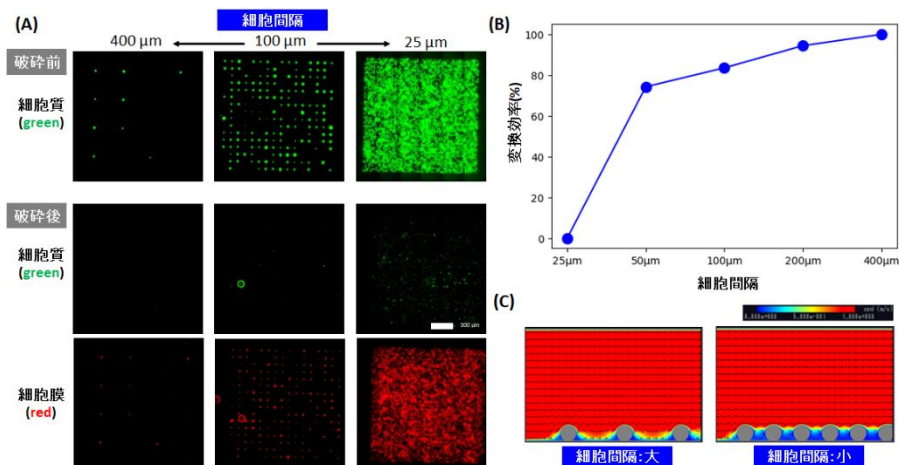


図 4. 種々の細胞間隔における細胞膜シートへの変換。(A) 細胞破碎前後での蛍光顕微鏡画像。染色は図2と同じ。(B)細胞間隔と細胞膜シートへの変換効率の関係。(C)流体シミュレーションによる流速の空間分布。

からであると考えられた。実際に、流体シミュレーションを行ったところ、この考察が妥当であることが示された。一方で、細胞間隔が広いと、一度に解析できる細胞数が少なくなる(表1)。これより、細胞集団の網羅的な解析を行うためには、50 μm が最適な細胞間隔であることが分かった。

表 1. 細胞間隔と解析細胞数の関係

細胞間隔 (μm)	解析細胞数(1 フレーム)
50	427
100	127
200	34
400	9

また、細胞固付着表面の大きさの影響も調べたところ、付着表面が広過ぎると1スポットに複数細胞が密に付着されるため変換効率の下がり、狭過ぎると細胞が表面から脱離し、細胞膜シートが形成できなかった。従って、最適な大きさが存在した(BaF3細胞の場合は、直径10および12 μm)。このような最適な条件で得られた単一細胞由来の細胞膜シートは、細胞サイズや形状(円形)が均一であった。

以上のように、細胞付着表面の間隔と大きさを照射条件によって最適化することにより、80%以上の変換効率で、均一なサイズと形状の細胞膜シートアレイを構築することができた。

(4) 細胞膜シートの電子顕微鏡観察

流速を調製して、細胞膜シートへの変換効率が30%程度になる条件で細胞を破碎し、走査型電子顕微鏡(SEM)観察を行った。SEM観察の前に、共焦点レーザー顕微鏡観察を行い、アレイのどの位置に、細胞膜シートや部分的に破碎された細胞、未破碎の細胞が存在するのかを予め確認しておいた。SEM観察の結果、細胞膜シートのアレイが観察された(図5A黄色矢印、図5B)。高倍率で細胞膜シートの表面を観察したところ、細胞膜の裏側で出芽するクラスリン被覆小胞(図5C)やカベオラ被覆小胞(図5D)、アクチンフィラメントと思われる細胞骨格繊維

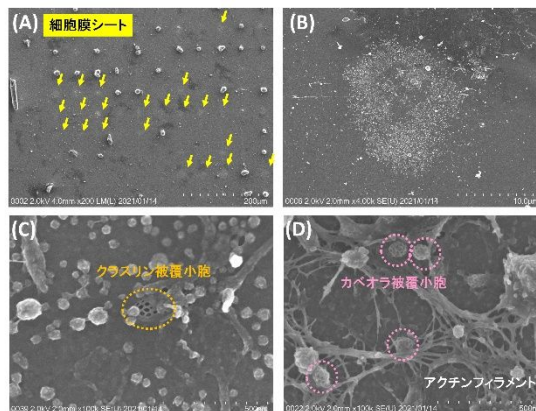


図 5. 細胞破碎後の SEM 画像。(A) 低倍率 (B)中倍率 (C,D)高倍率。

に結合して輸送される小胞(図5D)が観察された。このように、本手法によって、1細胞ずつ並べた細胞の底面の膜が損傷を受けることなく露出され、細胞膜裏側の構造体を観察できることが示された。

(5) 部分的に破砕された細胞の観察

上記の細胞破砕後の蛍光顕微鏡観察において、微量の緑色蛍光が残存して細胞膜が大部分残っている場所(部分的に細胞が破砕された場所)をSEM観察したところ、細胞核のような物質を観察することができた(図6A)。報告されている細胞核のSEM画像と同様に、核膜孔や表面に付着しているリボソームなどが観察された。これより、細胞膜を部分的に破砕することにより、細胞内小器官を解析できる可能性が示唆された。

そこで、上記の通り、細胞間隔を狭めて、細胞の頭頂部のみにもストレスを与える方法で、部分的に細胞を破砕した。細胞膜と細胞質に加えて、細胞核も蛍光染色し、共焦点顕微鏡で側面画像を観察したところ、部分的に破砕された細胞では、核が存在することが分かった(図6C)。さらに、蛍光標識抗体を用いた分子イメージングの結果、ミトコンドリアも残存しており、直前まで生きていた細胞のミトコンドリア表面の分子を可視化できることが示された(図6D)。このように、当初の研究計画にはなかったが、細胞破砕条件を詳細に検討した結果、細胞内オルガネラ表面の分子解析も可能であることが示された。

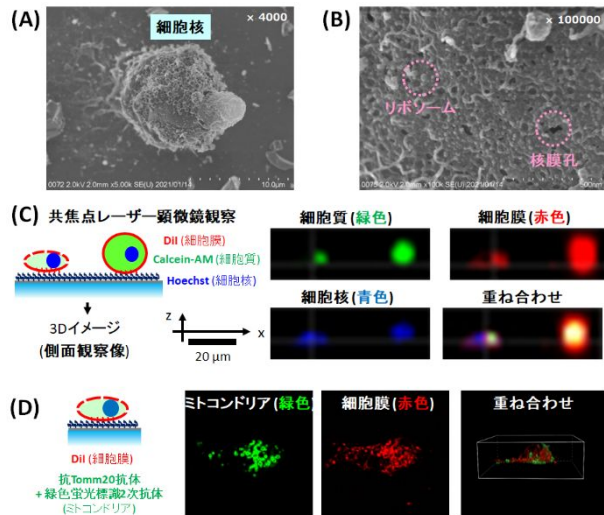


図6. 部分的に破砕された細胞の顕微鏡観察。(A,B) SEM観察画像。(C)共焦点レーザー顕微鏡観察の3Dイメージの側面観察画像。染色は図2と同じで、細胞核の染色を加えた。(D)ミトコンドリア上のTomm20を緑色蛍光染色抗体で標識した共焦点3D画像。

(6) 1細胞アレイ上での細胞の機能解析

野生型のLTB受容体(BLT1)と、リン酸化を受けるC末端細胞内ドメインのチロシンとスレオニン残基をアラニンに置換した変異体のBLT1を発現するBaF3細胞を用いた。細胞をLTB4(100nm)で40分間感作させた後、上記の方法で迅速に固定化し、細胞の形態変化を観察した。時間変化画像を1細胞解析した結果、野生型の方が大きく形態変化を見ることが分かった(図7)。これは、細胞の運動性に由来すると考えられる。このように、BLT1の細胞内ドメインのリン酸化に関わる細胞の表現型を可視化する系を構築した。

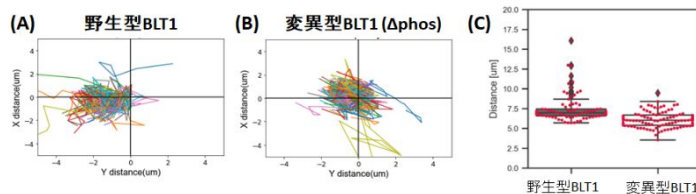


図7. LTB4で感作したBLT1発現BaF3細胞の1細胞形態変化解析。(A)野生型BLT1発現細胞および(B)変異型BLT1発現細胞の細胞中心の移動の時間軌跡。(C)細胞中心の積算移動距離

(7) 細胞膜シート上での受容体のリン酸化の可視化

LTB4で感作させたBLT1発現BaF3細胞の1細胞アレイ上で細胞を破砕し、得られた細胞膜シート上で、受容体の細胞内ドメインのリン酸化の可視化を試みた。BLT1の細胞外ドメインにHAタグを導入しておき、内部標準として蛍光標識抗HA抗体でBLT1を染色した。細胞破砕後、抗リン酸化チロシンや抗リン酸化スレオニン抗体を作用させ、西洋わさびペルオキシダーゼ(HRP)標識二次抗体と、HRP近傍を緑色蛍光染色するEMERS試薬とを順次作用させることで、リン酸化部位を緑色蛍光標識した。この細胞膜シートを超解像顕微鏡(ニコン社N-SIM)を用いて観察し、3D画像を作成したところ、赤色蛍光上にリン酸化された部位の緑色蛍光が検出された(図8)。

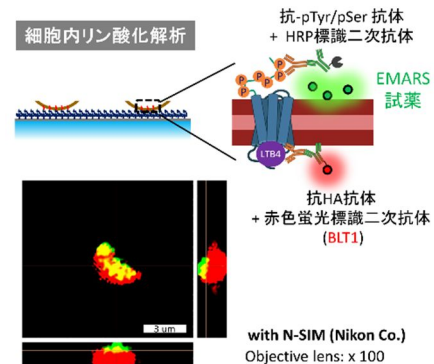


図8. LTB4で感作したBLT1発現BaF3細胞の細胞膜シート上でのリン酸化観察。(上)実験系の概念図。(下)超解像度顕微鏡による蛍光像。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yamaguchi Satoshi, Takasaki Yumi, Yamahira Shinya, Nagamune Teruyuki	4. 巻 11
2. 論文標題 Photo-Cleavable Peptide-Poly(Ethylene Glycol) Conjugate Surfaces for Light-Guided Control of Cell Adhesion	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Micromachines	6. 最初と最後の頁 762 ~ 762
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/mi11080762	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Jarzebska Natalia Teresa, Yamaguchi Satoshi, Izuta Shin, Kosaka Takahiro, Yamahira Shinya, Nagamune Teruyuki, Okamoto Akimitsu	4. 巻 7
2. 論文標題 Photo-responsive materials with strong cell trapping ability for light-guided manipulation of nonadherent cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomaterials Science	6. 最初と最後の頁 4514 ~ 4518
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C9BM01200A	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yamaguchi Satoshi, Takamori Satoshi, Yamamoto Kazuho, Ishiwatari Akira, Minamihata Kosuke, Yamada Eriko, Okamoto Akimitsu, Nagamune Teruyuki	4. 巻 32
2. 論文標題 Sterically Bulky Caging of Transferrin for Photoactivatable Intracellular Delivery	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioconjugate Chemistry	6. 最初と最後の頁 1535 ~ 1540
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.bioconjchem.1c00159	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Satoshi Yamaguchi, Kazuki Chujo, Noriyuki Ohashi, Kosuke Minamihata, Teruyuki Nagamune	4. 巻 28
2. 論文標題 Photo-degradable protein-polymer hybrid shells for caging living cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemistry A European Journal	6. 最初と最後の頁 e202103941
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/chem.202103941	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 山平真也, 山口哲志, 長棟輝行	4. 巻 51
2. 論文標題 光応答性PEG 脂質を用いた1 細胞精密分離	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 分離技術	6. 最初と最後の頁 5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 山口哲志	4. 巻 38
2. 論文標題 細胞の付着と脱離を光制御できる細胞培養基板	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 バイオインダストリー	6. 最初と最後の頁 26-36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 山口哲志, 小阪高広, 山平真也, 岡本晃充
2. 発表標題 異種細胞の精密配置が可能な光反応性高分子表面の開発
3. 学会等名 第30 回バイオ・高分子シンポジウム
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 梅田侑生, 山口哲志, 山平真也, 中村元直, 岡本晃充
2. 発表標題 細胞膜裏側の定量的 1 細胞解析のための細胞膜シートアレイの開発
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 Yamaguchi Satoshi
2. 発表標題 Photo-responsive cell immobilization reagents for cell manipulation on solid phase
3. 学会等名 The 18th Asian Pacific Confederation of Chemical Engineering Congress (APCCHE 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Yamaguchi Satoshi
2. 発表標題 Photo-responsive cell immobilization tools for single-cell manipulation
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 山口哲志
2. 発表標題 光応答性細胞固定化剤の設計と創出
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 山口哲志
2. 発表標題 細胞の接着と脱離を光制御できる細胞培養基材
3. 学会等名 JST 新技術説明会 (招待講演)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 山口哲志, 中村聖, 梅田侑生, 岡本晃充
2. 発表標題 細胞内動的分子標識を志向したケージド直鎖アルキンの開発
3. 学会等名 第31回バイオ高分子シンポジウム
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 小阪高広, 山口哲志, 山平真也, 岡本晃充
2. 発表標題 光応答性細胞固定表面を用いた免疫細胞とがん細胞の単一細胞間相互作用観察
3. 学会等名 第70回高分子討論会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 Takahiro Kosaka, Satoshi Yamaguchi, Shin Izuta, Shinya Yamahira, Akimitsu Okamoto
2. 発表標題 Photo-reactive surface for the single cell analysis of intercellular communication
3. 学会等名 Pacifichem2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 Shinya Yamahira, Satoshi Yamaguchi, Yuji Heike, Teruyuki Nagamune
2. 発表標題 Photo-activatable poly(ethylene glycol)-lipid surface for single-cell manipulation
3. 学会等名 Pacifichem2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 山口哲志, 梅田侑生, 山平真也, 岡本晃充
2. 発表標題 細胞膜のマイクロ流体剥離技術を用いた細胞内1細胞解析
3. 学会等名 化学工学会第87年会
4. 発表年 2021年～2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 生体物質固定化材料	発明者 山口哲志, 上原廉二朗, 岡本晃充	権利者 国立大学法人東京大学
産業財産権の種類、番号 特許、2019-222051	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関