

馬場 健史

九州大学生体防御医学研究所
教授

細胞チップ MS システムを用いた1細胞マルチ分子フェノタイピング

§ 1. 研究実施体制

(1)「馬場」グループ

① 研究代表者:馬場 健史 (九州大学生体防御医学研究所、教授)

② 研究項目

課題①:細胞分離・特性計測プラットフォーム開発

・ナノピペットシステムの開発

課題②:高感度マルチ分子フェノタイピング基盤技術開発

・分析システムの高感度化開発:カラム内径のダウンサイジング

・分析システムの高感度化開発:イオン化・MS 部分

・高感度メタボローム分析技術の開発:試料プロセスの微小化

・微量試料直接導入システムの開発

(2)「松本」グループ

① 主たる共同研究者:松本 雅記 (九州大学生体防御医学研究所、准教授)

② 研究項目

課題①:細胞分離・特性計測プラットフォーム開発

・ナノピペットシステムの開発

課題②:高感度マルチ分子フェノタイピング基盤技術開発

・分析システムの高感度化開発:カラム内径のダウンサイジング

・分析システムの高感度化開発:イオン化・MS 部分

・高感度プロテオーム分析技術の開発:試料プロセスの微小化

・微量試料直接導入システムの開発

(3)「山村」グループ

① 主たる共同研究者:山村 昌平 ((国研)産業技術総合研究所健康工学研究部門、主任研究員)

② 研究項目

課題①:細胞分離・特性計測プラットフォーム開発

- ・1 細胞チップの開発
- ・1 細胞チップにおける特性計測技術の開発
- ・1 細胞回収技術の開発

(4)「糸井」グループ

① 主たる共同研究者:糸井 弘人 ((株)島津製作所分析計測事業部ライフサイエンス事業統括部 MS ビジネスユニット、ビジネスユニット長)

② 研究項目

課題②:高感度マルチ分子フェノタイピング基盤技術開発

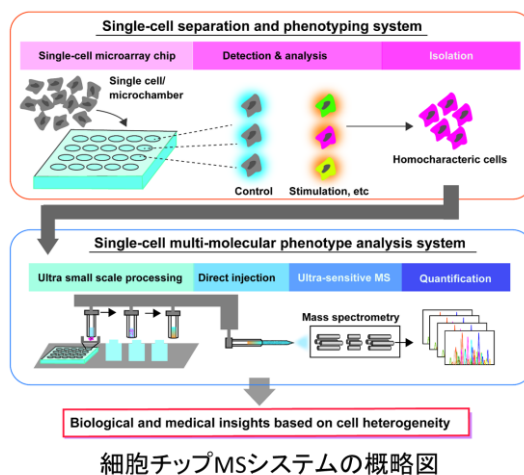
- ・分析システムの高感度化開発:マイクロ流路分離デバイスの開発

§ 2. 研究実施の概要

平成 28 年度は細胞チップ MS システム (図) を開発するために、課題①「1 細胞分離・特性計測プラットフォーム開発」、課題②「高感度マルチ分子フェノタイピング基盤技術開発」の各研究題目について検討を行った。

課題①においては、山村 G によって、1 細胞チップのマイクロチャンバー径 (微小穴) のデザインや表面処理などを変更しながら 1 細胞チップを試作した。続いて、がん細胞を用いて 1 細胞チップの性能を評価したところ、高い精度で単一がん細胞を分離配置することに成功した。また、抗体染色によって細胞チップ上で 1 細胞レベルでの機能性評価、および細胞チップ上の特定の 1 細胞を回収するための回収システムの開発にも着手した。また、ナノピペットシステムの開発については、馬場 G と松本 G が連携しながら要素技術の検討を行い、ナノピペットシステムの試作に成功した。

課題②では、分析システムの高感度化開発に向けて、カラム内径のダウンサイジング (馬場 G・松本 G)、マイクロ流路分離デバイスの開発 (糸井 G)、イオン化・MS 部分 (松本 G・馬場 G) の検討を行い、高感度メタボローム・プロテオーム分析のための試料プロセスの微小化 (馬場 G・松本 G)、微量試料直接導入システムの開発 (松本 G・馬場 G) を実施した。カラム内径のダウンサイジングについては、ゾルーゲル法による内径 50 μm のモリスシリカーキャピラリーを作製し、カラム内径のダウンサイジングによって MS での感度が向上することを確認した。イオン化・MS 部分の高感度化においては、有機溶媒雰囲気への導入やイオン源加熱効果の検証を実施することで高感度化に重要な装置パラメータを見出した。高感度メタボローム分析においては、三連四重極型質量分析をベースとして研究を進めるため、各代謝物に固有の MS パラメータを最適化するとともに親水性代謝物の保持が良好なカラム担体の探索を実施した。また、微量細胞からのプロテオミクスの前処理法を開発するために、ナノピペットデバイスを構成する試料調製用キャピラリー内部に設計する充填剤の種類や反応溶媒等を検証し、微量試料を分析系へ直接導入するシステムを考案した。さらに、iMPAQT 法を用いた感度評価を行なったところ、1 細胞あたり 10^5 分子程度の存在量のタンパク質を 10~100 細胞相当の試料から定量可能であることが判明した。



代表的な原著論文

Matsumoto M, et al., A large-scale targeted proteomics assay resource based on an *in vitro* human proteome. *Nat Methods*. 14, 3, 251-258, 2017.