

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設計

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設計

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 (産業技術総合研究所健康工学研究部門
研究グループ長)

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)「向」グループ

① 主たる共同研究者:向 紀雄 ((株)島津製作所分析計測事業部 ビジネスユニット長)

② 研究項目

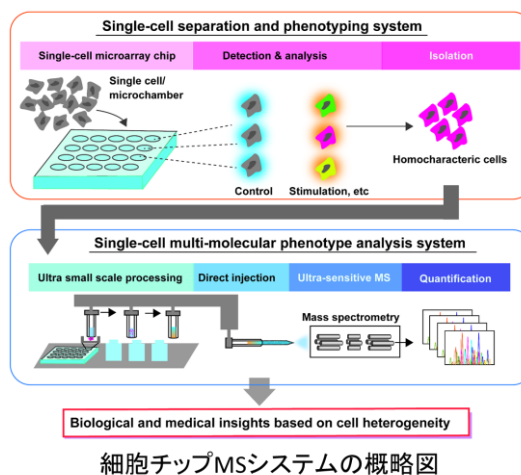
課題②:高感度マルチ分子フェノタイピング基盤技術開発

- ・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 29 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」、および課題②「高感度マルチ分子フェノタイピング基盤技術開発」の以下の各研究題目に取り組んだ。

課題①においては、山村 G によって、1 細胞マイクロアレイチップのデザイン、表面処理などの諸条件を検討し、約 80% のマイクロチャンバー導入率で 1 細胞に分離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取り組み、浮遊系および接着系細胞を 1 細胞チップ上で分離、配置し、抗体染色した後、標的の 1 細胞のみをピコピペットのマイクロキャピラリーによって回収することに成功した。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 が連携しながらフューズドシリカキャピラリー内にて、細胞の回収、溶解、酵素消化を行い、分析カラムへの導入までを完全インライン行うことが可能なナノピペットシステムの構築にした。

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 (向 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 以下のモノリスシリカ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、MS へのイオン導入効率を向上させるためのイオン導入・脱溶媒ユニットを試作し、質量分析計の改良に取り組んだ。高感度メタボローム分析においては、細胞単離・溶解・試料導入といった一連の少数細胞試料調製技術を新たに開発し、これを nano-LC/MS/MS による高感度代謝物計測技術と統合した動物 1 細胞メタボローム分析システムを開発した。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。

【H29 年度の代表的な原著論文】

- ・ Hara T. et al. Chromatographic Properties of Minimal Aspect Ratio Monolithic Silica Columns. *Anal. Chem.* 89, 20, 10948-10956, 2017.