

民谷 栄一

大阪大学大学院工学研究科
教授

細胞膜レセプタータンパクの1細胞統合解析技術の開発

§ 1. 研究実施体制

(1) 民谷グループ

- ① 研究代表者: 民谷 栄一 (大阪大学大学院工学研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・細胞膜レセプタータンパクの1細胞機能解析マイクロ流体デバイスの構築

(2) 植田グループ

- ① 主たる共同研究者: 植田 充美 (京都大学大学院農学研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・レセプター探索のための抗体タンパク創成に関する研究およびリガンド探索に関する研究

(3) 高松グループ

- ① 主たる共同研究者: 高松 漂太 (大阪大学医学部呼吸器・免疫内科 助教)
- ② 研究項目
 - ・1細胞計測システムを用いた癌や免疫細胞特性の非侵襲的計測方法の確立

§ 2. 研究実施の概要

本研究では、細胞が1細胞ずつ配置されたその場でレセプタータンパクのダイナミクスを捉えるナノバイオセンシングを活用した1細胞レセプター解析技術の創成を目指している。そのため、網羅的に1細胞を操作できる遠心マイクロ流体細胞デバイスの開発、その場バイオセンシングのための局在表面プラズモン共鳴(LSPR)・電気化学発光(ECL)・ラマン分光イメージングなどによりリアルタイム計測を可能にする1細胞バイオセンサーチップ、ペプチドバーコードを用いたレセプタータンパク認識抗体ライブラリやシグナル分子としてのペプチドの探索のためのプラットフォームの開発、各種チップと連動したイメージングシステムの開発、およびこれらを用いた診断応用検討に取り組んでいる。これらの実現に向け、H29年度はベースとなる個々の要素技術開発に取り組んだ。

遠心マイクロ流体デバイスは、流体の時空間的制御に加え、シリンジポンプ等の別機構が不要でコスト減になるなどのメリットが期待できる。下図に示すように、一つのチップで最大11718細胞を捕捉できる遠心型チップを試作した。また網羅的一細胞レセプター蛍光イメージングシステムおよび計測ソフトウェアを構築し、THP-1細胞およびCD3抗体とCD13抗体を指標にレセプター解析を行ったところ、細胞種判別がオンチップ解析可能なことを確かめた。今後、計測項目数を増やし、実試料等への応用検討を進めていく。また、ECLやLSPR手法を用いた1細胞その場計測に向けた検討も行った。ルミノールを用いたECLに着目し、血清中の糖化アルブミンをモデルに検討を行ったところ、糖化アルブミンを検出下限0.1 μM で検出できた [1]。また、ラベルフリー計測が可能なLSPRを利用するため、1細胞捕捉のためのマイクロウェルと、その周囲にプラズモン励起させるナノピラー形状が配置されたLSPRナノピラー/マイクロウェル融合チップを作製することができた[2]。次年度以降、構築したECL技術について1細胞解析への展開を図っていく。一方、レセプター網羅解析するためのレセプタータンパク認識抗体ライブラリ構築に取り組んでいるが、ライブラリ分析のために高感度のナノLC-MS/MSシステムを開発する必要がある。独自のモノリスカラムを用いて高感度プロテオーム解析のためのLC/MSパラメーター最適化法を構築することができた [3]。

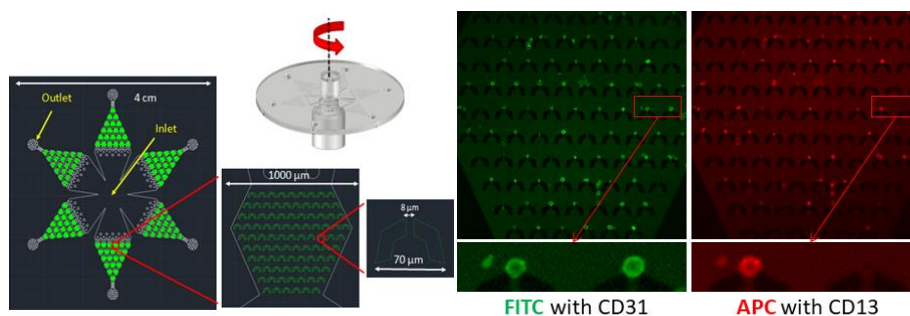


図. 試作した遠心型1細胞チップと1細胞THP-1の免疫染色蛍光画像

[1] One-step nanoimprinted hybrid micro-/nano-structure for in situ protein detection of isolated cell array via localized surface plasmon resonance, R.A.M. Ali, W.V. Espulgar, W. Aoki, S. Jiang, M. Saito, M. Ueda, and E. Tamiya, *Jpn. J. Appl. Phys.*, 57, 3S2 (2018)

[2] Sensitive Detection of Glycated Albumin in Human Serum Albumin Using

Electrochemiluminescence, Y. Inoue, M. Inoue, M. Saito, H. Yoshikawa and E. Tamiya, *Anal. Chem.*, 89, 5909, 2017

[3] Definitive screening design enables optimization of LC–ESI–MS/MS parameters in proteomics, S. Aburaya, W. Aoki, H. Minakuchi, M. Ueda, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 81, 2237, 2017