

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. 研究成果の概要

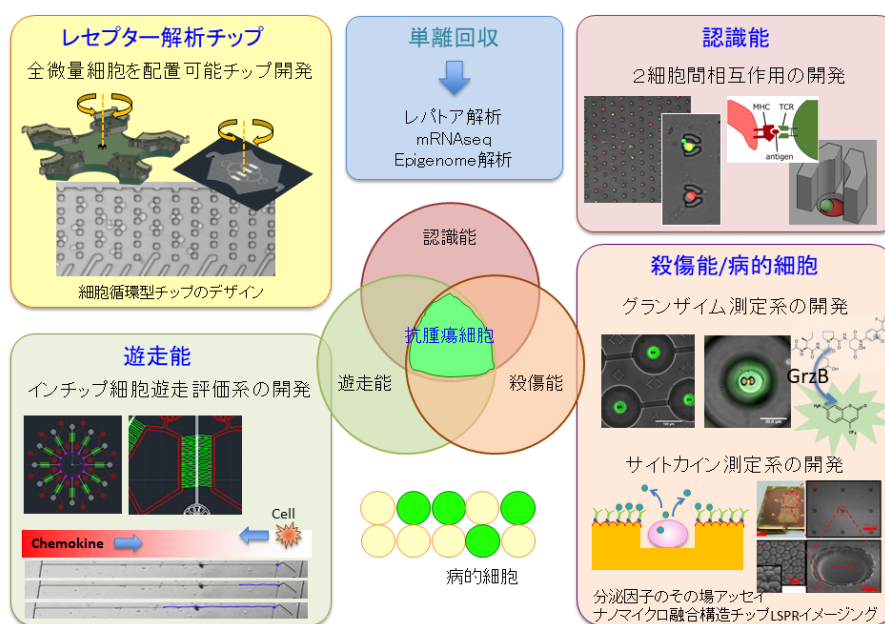


図. 1 細胞フェノーム解析に向けたチップデバイスシステム開発

本研究では、細胞が1細胞ずつ配置されたその場で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細胞フェノーム解析技術の創成を目指している。特に腫瘍や自己免疫疾患など、個々の病因・病態とその1細胞レベルの機能を、病的細胞への攻撃能や遊走能、認識能の解析と統合的な評価・理解によって治療効果向上への展開を目指している。そのため、網羅的に1細胞を操作できる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、さらには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の構築、シグナル分子としてのペプチド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、H30年度はベースとなる個々の要素技術開発に取り組んだ。

腫瘍攻撃の際に重要な Granzyme B 活性を1細胞ごとに評価可能なチップを開発し、NK細胞、T細胞などの個々の1細胞ごとに GZMB 活性差が生じていることを確かめた。また、細胞間伝達の機能解析を行うためのチップデバイスも開発し、T細胞と抗原提示細胞(APC)との特異的相互作用にともなう活性化も捉えることに成功した。電気化学発光(ECL)を利用した細胞分析に向けた検討も行い、金ナノ粒子(AuNP)触媒による高感度イムノアッセイ法も開発した[1]。一方、酵母ライブラリによる機能的 Nanobody 取得を実証し、さらに高感度カラムの開発によって Nanobody に付与したペプチドバーコードのスクリーニング評価も確立した。これにより我々の任意の認識分子取得コンセプトが機能することを確認した。今後、1細胞デバイスへの展開を検討していく予定である。またデバイス開発に先立ち、臨床面では、レポーター細胞を用いることに、SLEの増悪因子であるIFN- $\gamma$ 活性を初めてきれいに見ることに成功した。また、遺伝子編集技術を併用し、膜小胞によるIFN- $\gamma$ 誘導メカニズムを見出した[2]。さらに免疫療法を受けた肺癌患者検体を用いて治療抗体が結合したTリンパ球のみを回収し、解析する技術を報告している[3]。これらの成果を現在開発中のチップデバイスに適用し、1細胞レベルの解析へ展開していく予定である。

#### 【代表的な原著論文】

- (1) Y. Higashi, et al, Chemically Regulated ROS Generation from Gold Nanoparticles for Enzyme-Free Electrochemiluminescent Immunosensing, *Anal. Chem.*, 90 (9), 5773-5780 (2018)
- (2) Kato Y. et al. Apoptosis-derived membrane vesicles drive the cGAS-STING pathway and enhance type I IFN production in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 77, 1507-1515, 2018
- (3) Osa A et al. Clinical implications of monitoring nivolumab immunokinetics in non-small cell lung cancer patients. *JCI Insight*. 2018 Oct 4;3(19). pii: 59125.

## § 2. 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