



令和4年7月15日

報道機関 各位

熊本大学

1つの細胞の個性を タンパク質発現量から読み解く技術を開発

(ポイント)

- 1つの細胞に含まれる極微量のタンパク質を観察するために、前処理方法として油中液滴法を新たに開発しました。
- 油中液滴法を使うことで、従来法では困難だった1つの細胞に含まれる極微量タンパク質の大規模な分析を可能にしました。
- 細胞個々の特徴をタンパク質レベルで観察することで、将来的には抗がん剤耐性機構や細胞分化機構の解明に貢献できます。

(概要説明)

熊本大学大学院生命科学研究部の増田豪助教、大槻純男教授らのグループは、1つの細胞からタンパク質発現情報を大規模に取得できる新しい技術を開発しました。

タンパク質発現情報を大規模に取得するプロテオミクス^{*1}技術は近年、多くの生命科学研究に有用な分析手法です。例えば、がん細胞を正常細胞と比較することで、がん細胞に特徴的なタンパク質を見つけることができ、早期診断や治療標的探索などにつながります。しかし、同じがん細胞でもタンパク質の発現情報に個性があり、それが薬の効きやすさに影響を与えるため、がんの根治を難しくしています。薬の主な作用標的はタンパク質であるため、細胞個々のタンパク質発現情報を取得することが求められますが、現在行われているプロテオミクスでは1つの細胞に含まれる極微量のタンパク質を取り扱うことは困難です。その理由は、極微量のタンパク質が実験中に容器に吸着されて無くなってしまうためです。

そこで、私たちは「油中液滴法」を開発しました。油の中に形成した微少な水滴の中に極微量のタンパク質を閉じ込めて実験する方法です(図1)。水滴と容器が接する面積は従来の方法よりも小さくなるため、吸着損失を大幅に抑制することができました。これにより、1つの細胞からでもプロテオミクスを行うことができるようになりました。本研究成果は令和4年7月11日に「Analytical Chemistry」に掲載されました。

本研究は、文部科学省科学研究費助成事業(17K15042、19K05544)、JST A-STEP 育成 (JPMSTR20UM)、JST 創発的研究支援事業 (JPMJFR2055)、COCKPI-T Funding、JST-CREST(JP171024167)およびNIH(R01AR065459、R01GM129090)の支援を受けて実施したものです。

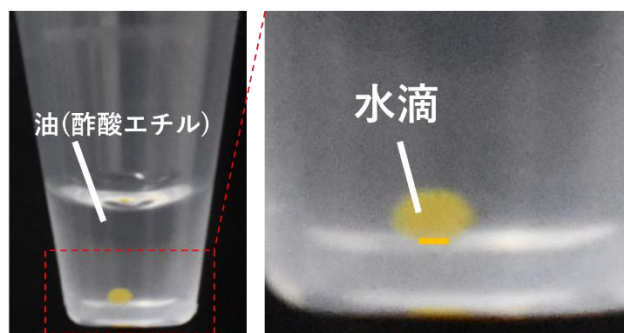


図1 油中液滴法

(説明)

[背景]

生命現象をより正確に理解するために、細胞個々の特徴や個性を観察する1細胞解析技術が様々な研究分野で注目されています。タンパク質は病態や発生など様々な生命現象に関係する重要な分子ですが、1つの細胞からタンパク質の発現情報を大規模に取得するプロテオミクス技術は確立していません。その原因として、タンパク質を増幅する技術が無いことと、極微量なタンパク質が実験中に容器などに吸着されて無くなってしまふことが挙げられます。つまり、吸着損失の抑制は1細胞プロテオミクスの実現には欠かせません。これまで1細胞プロテオミクス技術はいくつか報告されていますが、汎用性など技術的な課題がありました。

[研究の内容]

プロテオミクスデータを取得するには、細胞から抽出したタンパク質を質量分析計^{*2}に導入できる状態に調製する必要があります。今回開発した油中液滴法は、この試料調製工程で使われる方法です(図2)。油中液滴法は、試料調製工程におけるタンパク質溶液と容器が接する面積を小さくすることができるため、吸着損失のリスクを大幅に抑制できます。油中液滴法と従来の方法で微量試料を調製すると、質量分析計で検出される量が約6倍に増加しました。一方で、脂溶性の高いタンパク質は水滴から油に移動したため、回収率改善効果が低下しました。そこで、脂溶性タンパク質を水滴中に留まらせるために水滴に疎水性ビーズを添加したところ、回収率が約1.5倍に改善しました。タンパク質回収率が増加したことで、1つの細胞から約400種類のタンパク質を定量できるようになりました。

油中液滴法は、油中に形成した液滴内でプロテオミクスの前処理を行う世界で初めての方法です。セルソーター^{*3}で1つの細胞を油に滴下することができるうえ、液体ハンドリングロボットで半自動化することもでき、高速かつ大容量に処理するスループット性も汎用性も高い方法です。

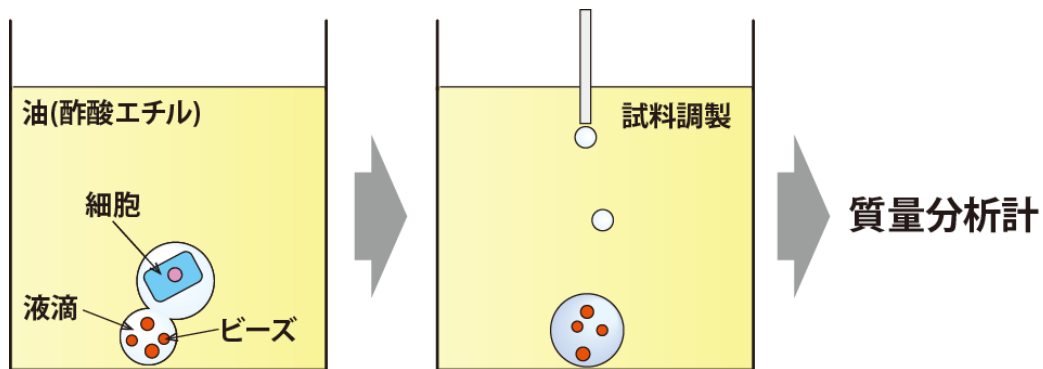


図2 油中液滴法を使った試料調製

[展開]

1細胞をはじめ、これまで量が少なくデータを取得できなかった希少な試料についてもプロテオミクスを行える点で幅広い研究の発展に貢献できます。また、タンパク質発現の観点から細胞の個性を明らかにできるようになるため、新しい生命現象を発見できる可能性があります。がん細胞の個性を解析できれば、抗がん剤耐性を生み出す原因の探索につながります。また、分化や発生における細胞の個性を観察することが可能になれば、特定の細胞への分化誘導法の確立などにも貢献できます。

[用語解説]

- ※1 プロテオミクス：細胞や組織中に含まれるタンパク質を網羅的に観察する技術や研究分野。
- ※2 質量分析計：プロテオミクスで用いられる高精度に質量を測定できる分析機器。タンパク質の同定や定量に使われる。
- ※3 セルソーター：細胞の大きさや発現するタンパク質の違いによって分取することができる装置。

(論文情報)

論文名：Water droplet-in-oil digestion method for single-cell proteomics
 著者：Takeshi Masuda, Yuma Inamori, Arisu Furukawa, Maki Yamahiro, Kazuki Momosaki, Chih-Hsiang Chang, Daiki Kobayashi, Hiroto Ohguchi, Yawara Kawano, Shingo Ito, Norie Araki, Shao-En Ong, Sumio Ohtsuki
 掲載誌：Analytical Chemistry
 doi：10.1021/acs.analchem.1c05487
 URL：https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.analchem.1c05487

【お問い合わせ先】

熊本大学大学院生命科学研究部
 微生物薬学分野
 担当：助教 増田 豪
 電話：096-371-4329
 e-mail：tmasuda@kumamoto-u.ac.jp