

2021 年度  
創発的研究支援事業 年次報告書

研究担当者	増田 豪
研究機関名	熊本大学
所属部署名	大学院生命科学研究部
役職名	助教
研究課題名	高分解能な空間プロテオミクス技術の開発
研究実施期間	2021 年 4 月 1 日～2022 年 3 月 31 日

### 研究成果の概要

高分解能な空間プロテオミクス技術を開発するために、フェーズ I では 1 細胞のプロテオミクス技術の確立を行う。2021 年度では、次の 3 点について実施した。① 高回収率な独自前処理技術である油中液滴法の最適化、② 液体ハンドリングロボットを用いた前処理工程の半自動化、③ 油中液滴法用容器の開発。

① 油中液滴法の最適化では、液滴への細胞導入方法、細胞からタンパク質を抽出する方法、添加するビーズの種類および安定同位体標識方法を最適化した。最適化された油中液滴法を用いることで、回収率が約 10 倍に向上した。

② 液体ハンドリングロボットを用いた前処理工程の半自動化では、バイオテック社の EDR-24LX を用いて実施した。プレートシールの貼付けおよびインキュベーションはマニュアル操作で行うが、前処理試薬添加から試料の混合を自動化できた。2 枚の 96-well plate に導入された試料を同時に処理することが可能となり、各工程における試料導入時間は約 10%に短縮された。また、液体半リングロボットが試料調製を行うため、ヒトのケラチン等のコンタミを抑制する効果も期待された。

③ 油中液滴法用容器の開発では、試料液滴と容器との接面積を縮小しタンパク質およびペプチドの回収率向上を目的としている。物質材料研究機構と共同で行い、酢酸エチル中でも安定な超撥水基材を開発した。次年度に 1 細胞プロテオミクスに使用可能な形態に改良する。

最適化された油中液滴法と液体ハンドリングロボットを用いて 1 細胞プロテオミクスを行った。1 細胞から約 800 種類のタンパク質が同定できた。同定されたタンパク質には、中心炭素代謝経路の酵素群やリボソームタンパク質をはじめ発現量が多いタンパク質が含まれていた。同時に、発現量が少なくプロテオミクスでは検出が難しい膜貫通タンパク質も含まれていた。細胞表面抗原は細胞の種類を特徴づける重要な分子である。油中液滴法を用いることで、幅広い種類のタンパク質の発現プロファイルを 1 細胞から得られることが示された。