

2022 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	2022 年 4 月 1 日～2023 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実現するためには、数千個の 1 細胞をパラレルに前処理できるハイスループットな方法が必要である。2021 年度に開発した油中液滴法を用いることで 1 細胞から約 800 種類のタンパク質を定量することが可能となったものの、マニュアル操作が多いため一度に前処理できる 1 細胞の数は 1000 個が限界だった。そこで、2022 年度は油中液滴法の自動化・ハイスループット化を行った。

- ① 油の種類の変更：油中液滴法では油として酢酸エチル (EtOAc) を用いていた。EtOAc は揮発しやすく除去しやすい。一方で、前処理中に揮発していくため何度も添加する必要があり、前処理の自動化が困難だった。そこで、油の種類をヘキサデカンに変更した。ヘキサデカンを用いた油中液滴法でもプロテオミクスができることを確認した。このことからヘキサデカンは油中液滴法の自動化に有効であると考えられた。
- ② 脱塩カラムの変更：従来は試料溶液に溶存している EtOAc を遠心濃縮操作で除去した後、ペプチドを逆相カラムで精製していた。しかしながら、ヘキサデカンは揮発しないため EtOAc と同じ方法では除去できない。そこで、逆相カラムではなくスルホン化逆相カラムを用いて脱塩を行ったところ、油を含む水滴からペプチドを回収できた。本方法により、操作時間が大幅に短縮化できただけなく回収率も増加した。

また、2021 年度に引き続き物質材料研究機構と共同で油中液滴法に適した超撥液基材の開発を行った。ヘキサデカンを用いた油中液滴法で開発した基材を用いることでペプチドの回収率が改善した。さらに、応用研究として、臨床検体および核に適用し油中液滴法が幅広い試料に有用であることが示された。