

2023 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	慶應義塾大学
所属部署名	大学院政策・メディア研究科/先端生命科学研究所
役職名	特任講師
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	2023 年 4 月 1 日～2024 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情報を取得するには、組織切片を数千個に切り分けてパラレルにそれらを前処理できる高回収率な方法が必要である。そのために、前年度から継続して基盤技術である油中液滴法を自動化できるシステムの構築を行った。また、高感度に質量分析するために測定方法の改良も行った。

① 液体ハンドリングロボットを用いた前処理工程の一部自動化。

前処理工程で最も時間を要する工程は、前処理用プレートから試料の回収と混合である。本工程を液体ハンドリングロボットである 24LX で行い、手動で行った際のペプチド回収率を安定同位体標識試薬を用いて比較した。その結果、回収後のウェルの洗浄を 2 回行うことで、回収率は 24LX と手動で有意な差は見られず、有意に 1.5 倍以上変動したペプチドはわずかに 1492 種類のペプチドの内 5 種類だけだった。前年度に確立した油中液滴法と組み合わせることで、前処理時間が 25%短縮され、8 枚の 384-well plate(308 細胞/plate)に分取した 1 細胞をパラレルに前処理することが可能となった。

② 質量分析における感度の向上

安定同位体標識されたペプチド試料を質量分析する場合、data dependent acquisition (DDA) モードで測定される。DDA ではノイズにも反応してデータを取得するため、ペプチドにかけられる測定時間が短くなり感度と同定数が低かった。そこで、parallel reaction monitoring (PRM) モードでのデータ取得方法を確立した。PRM モードでは、あらかじめ検出するイオンを決定するため、PRM モードではノイズを検出することが劇的に減る。ペプチドイオンにかけられる測定時間を長く確保できるため、感度も約 10 倍に向上した。また、PRM では欠損データが少なくデータの再現性が高かった。

上記 2 点の実施事項に加えて、前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基材の開発を行った。開発基材を用いることで、回収率が約 1.5 倍に向上した。