

遠心回転マイクロ流体デバイスを用いた一細胞レセプタータンパク解析

Single Cell Receptor Protein Analysis using Centrifugal Microfluidic Device

大阪大工¹, 大阪大医², 京都大農³ ◯岡嶋 孝明¹, Wilfred Villariza Espulgar¹, 高松 漂太²,

青木 航³, 斎藤 真人¹, 熊ノ郷 淳², 植田 允美³, 民谷 栄一¹

Osaka Univ.^{1,2}, Kyoto Univ.³, ◯Takaaki Okajima¹, Wilfred Villariza Espulgar¹, Hyota Takamatsu²,

Wataru Aoki³, Masato Saito¹, Atsushi Kumanogoh², Mitsuyoshi Ueda³, Eiichi Tamiya¹

E-mail: okajima@ap.eng.osaka-u.ac.jp

細胞表面のレセプタータンパクは細胞の増殖分化、代謝、遊走などの重要な細胞プロセスに関わっており、これらの機能発現状態の解析が重要である。レセプタータンパクは一細胞ごとに発現が異なっているので、その発現を一細胞レベルで網羅的に解析する一細胞レセプトーム解析技術の創成が不可欠である。一細胞のレセプタータンパク解析技術としてセルソーターがあるが、一細胞に発現する多種類のレセプターを網羅的に計測するには限界がある。本研究の目的は、一細胞に発現しているレセプタータンパク質を網羅的に解析する技術の開発である。そのために、蛍光標識抗体を細胞に結合させて解析し、レーザー照射によるフォトブリーチング後に、さらに別の抗体を結合させて解析するという操作を繰り返すことによって、一細胞の発現レセプターを繰り返し解析するシステムを構築した。

図1に、遠心回転マイクロ流体デバイスのデザインを示す。100 μ Lの細胞液 (2×10^5 cell/mL) を中心のインレットに注入し、1500 rpmで2分間回転させた。捕捉した THP-1 細胞に CD13 抗体 (APC) を結合させ、5分間のフォトブリーチングを行い、次に CD31 抗体 (Alexa647) を結合させ、共焦点蛍光顕微鏡で観察した結果を図2に示す。フォトブリーチング後の細胞でも蛍光標識抗体によるレセプタータンパク解析が行えることが示された。また、THP-1 細胞に CD3 抗体 (PE)、CD13 抗体 (APC)、CD31 抗体 (FITC) を同時に結合させ、観察した結果を図3に示す。フォトブリーチングを用いた繰り返し染色と多色の蛍光色素による同時染色を組み合わせることで、一細胞に発現する多数のレセプタータンパクを解析できることが示された。

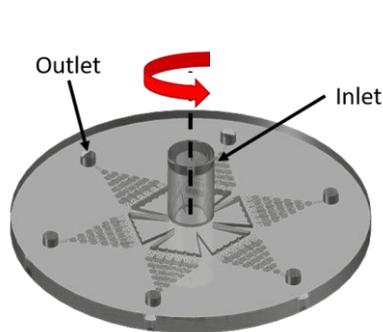


図1. 遠心回転マイクロ流体デバイスのデザイン。

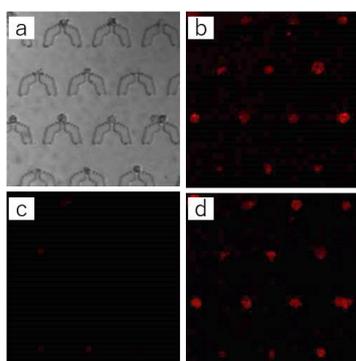


図2. 細胞の明視野画像(a), CD13による染色(b), 5分間のフォトブリーチング(c), CD31による染色(d)の結果。

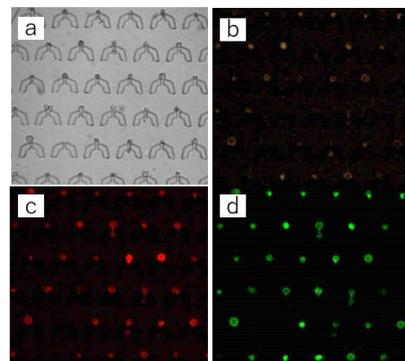


図3. 細胞の明視野画像(a)と CD3 (b), CD13 (c), CD31 (d)による染色の結果。