	研究代表者	東京工業大学・科学技術創成研究院・准教授 沖野 晃俊（おきの あきとし） 研究者番号:60262276
	研究課題 情報	課題番号：22H04973 キーワード：一細胞分析、大気圧プラズマ、メタロミクス、金属元素分析 研究期間：2022年度～2026年度

なぜこの研究を行おうと思ったのか（研究の背景・目的）

●単一細胞分析の進展

近年、ヒトの臓器などに含まれる細胞を、多数の細胞の平均ではなく、細胞単位で遺伝子やタンパク質を分析する、「単一細胞分析」の研究が世界中で進められている。その結果、細胞が予想以上に多様であることや、同じ種類の細胞でも個性に大きな違いがあることなどがわかってきた。その成果は、生命現象の研究だけでなく、医療へも応用され始めている。

一方、細胞に含まれる微量な金属は、がんやアルツハイマーなどの様々な病気の発生の、健康の維持に大きな役割を果たしていることがわかってきた。しかし現在のところ、数万から数100万個といった多くの細胞中に、どれだけの金属元素が含まれるかが測定され、医学や生命科学の研究に使用されている。これは、単一細胞中の複数の微量元素を超高感度に測定できる装置が存在しないためである。

●この研究で実現したいこと

現在の一般的な金属元素分析装置では、図1の黒い点線で書かれている、多くの細胞の金属元素の平均の濃度が測定されている。しかし、この平均値が青線のような細胞ごとのばらつきによるものか、オレンジのように2つに分けられるものか、赤線のように特別な値を含むものかといった、分布の情報が全くわからない。例えば、この特異値が異常細胞によるものかもしれない、その中に様々な病気のヒントがあるかもしれない。

図1のような金属元素の分布を明らかにできる装置を開発する事がこの研究で実現したい事である。そして、その装置で分析できる細胞内微量金属の情報を用いて、単一細胞のメタロミクス(生体金属支援機能科学)の研究を本格的に開始する。

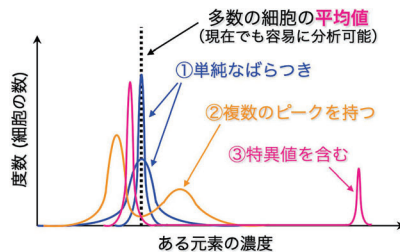


図1 ひとつの細胞内の金属元素濃度の度数分布

●開発する「メタルサイトメーター」

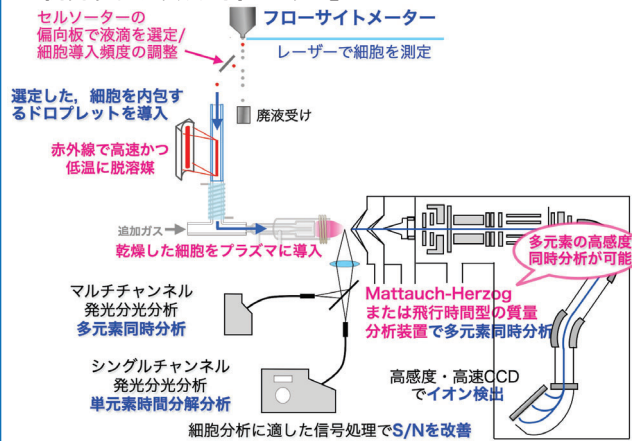


図2 開発するメタルサイトメーターの全体像

図2に開発する装置の全体像を示す。この装置には、研究代表者がこれまでの研究で開発してきた単一細胞のドロプレット試料導入法(1つの細胞を小さな液滴に入れて飛ばす)、細胞の高感度分析のための脱溶媒(その液滴を乾燥させる)、超高速データ取得法(超高速で信号を取り入れて、信号処理をする)を統合し、かつ液滴の赤外線加熱などの様々な新しいアイデアを取り入れて装置を開発する。

さらに、1秒間に10,000個以上の細胞から測りたい細胞だけを取り出せる、セルソーターを持つフローサイトメーターを直接接続して使用する事で、1秒間に最大500個の細胞を高い信頼性で分析する事をめざす。

●プラズマを用いた微量元素分析法

水は零下では氷であるが0℃を超えると水になり、100℃を超えると水蒸気になる。さらに加熱すると、水蒸気の一部はイオンと電子になり、これをプラズマと呼ぶ。我々の周囲にもプラズマ存在し、自然界ではオーロラや雷がプラズマであり、人工的なものではネオンサインや自動車のヘッドライト、蛍光灯の内部もプラズマである。プラズマは光やイオンを発生する特徴がある。また、プラズマは燃焼では得られない、5,000℃以上の高温を容に実現できる。このため、高温のプラズマ中に物質を入れると、物質は蒸発し、原子化する。そして、原子はそれぞれの元素ごとに決まった波長(色)の光を発生する。また、一部の原子はイオンになる。この光やイオンを測定する事で、その物質の中にどんな種類の元素がどれだけの量含まれているかを分析するのがプラズマ元素分析法である。例えば、イオンを測定するプラズマ質量分析装置では、1ppt (10⁻¹²)以下の濃度の元素までを分析できる。これは、50mプールに溶かしたスプーン1杯の食塩を容易に分析できる超高感度である。この装置は40年以上前から市販され、環境分析、半導体製造、食品分析、犯罪捜査などの様々な分野で広く使用されている。本研究では、この装置を大幅に改良した単一細胞分析システムを開発する。

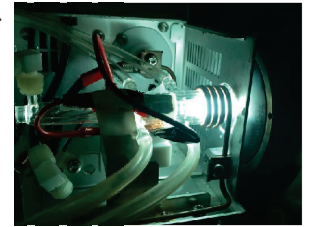


図3 高温プラズマ質量分析装置

この研究によって何をどこまで明らかにしようとしているのか

●単一細胞中超微量元素分析装置：メタルサイトメーター

この研究では、研究代表者の複数のオリジナル技術を使用した、「単一細胞中超微量元素分析装置(メタルサイトメーター)」を開発する。まず、毎秒数万個の細胞をリアルタイムで分類できるフローサイトメーターで細胞の種類ごとに分ける。そして、目的の細胞だけをセルソーターで取り出して約6,000℃の高温プラズマに導入して分析する。この際、細胞は直径0.1mmほどの微小な水滴の中に入れてプラズマに入れられるが、これまでの研究によって、この水が分析の感度を悪化されることが明らかになっているので、この水滴をヒーターや赤外線で加熱して水分を蒸発させてから、乾燥した細胞だけを高温プラズマ中に導入する。

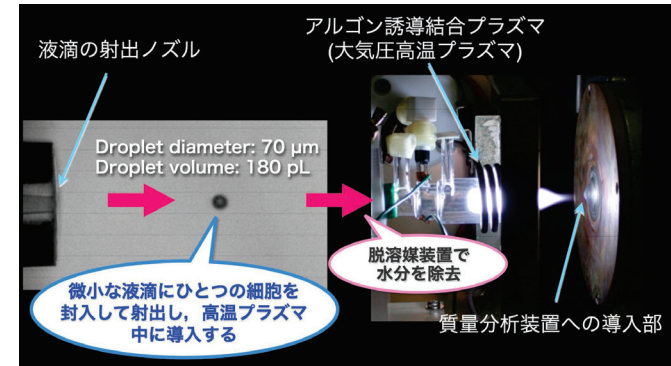


図4 開発する装置のイメージ

また、ひとつの細胞は2回測定できないので、カルシウムなどの多量元素から亜鉛やセレンなどの極微量元素までを一度に全て測定する必要がある。そこで、比較的高濃度な元素は、プラズマから発生される光を用いて発光分光分析を行う。低濃度の元素は、プラズマ中で生成されたイオンを質量分析装置に導入して1アトグラム(1×10⁻¹⁸グラム)以下までの質量分析を行う。分析速度は、質量信号の時間的重複が生じない、1秒間に50細胞を目標とする。

そして、開発した装置を用いてがん細胞や免疫細胞(ヒト由来あるいはヒトiPS細胞由来)の単一細胞内超微量元素分析を実施し、各種金属元素のばらつきや偏在について初めて詳細な評価を行い、各種細胞の機能との関係を解析する。つまり、単一細胞メタロミクス研究を初めて実現する。そして、微量元素の偏り等を指標として、細胞単位での薬効評価を行う系を確立し、がん治療や再生医療を中心とした医学・薬学・農学・生命研究の一つの基盤をなす分析装置と技術を確立する。