

## Journal Club (2023 年 10 月 16 日) まとめ

担当: 古賀 大介

### 発表論文:

Florian A. Rosenberger, Andreas Mund & Matthias Mann

Spatial single-cell mass spectrometry defines zonation of the hepatocyte proteome

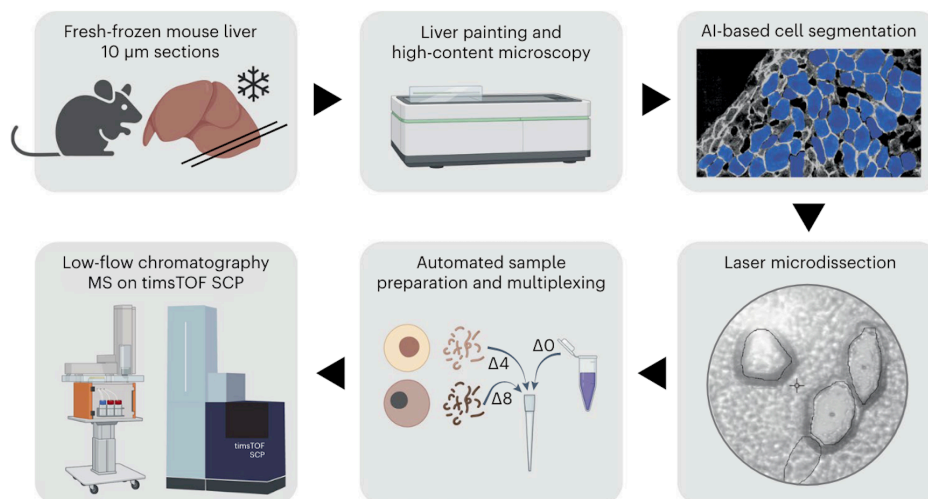
Nature Methods, 02 October 2023

doi: 10.1038/s41592-023-02007-6

### 研究目的および概要:

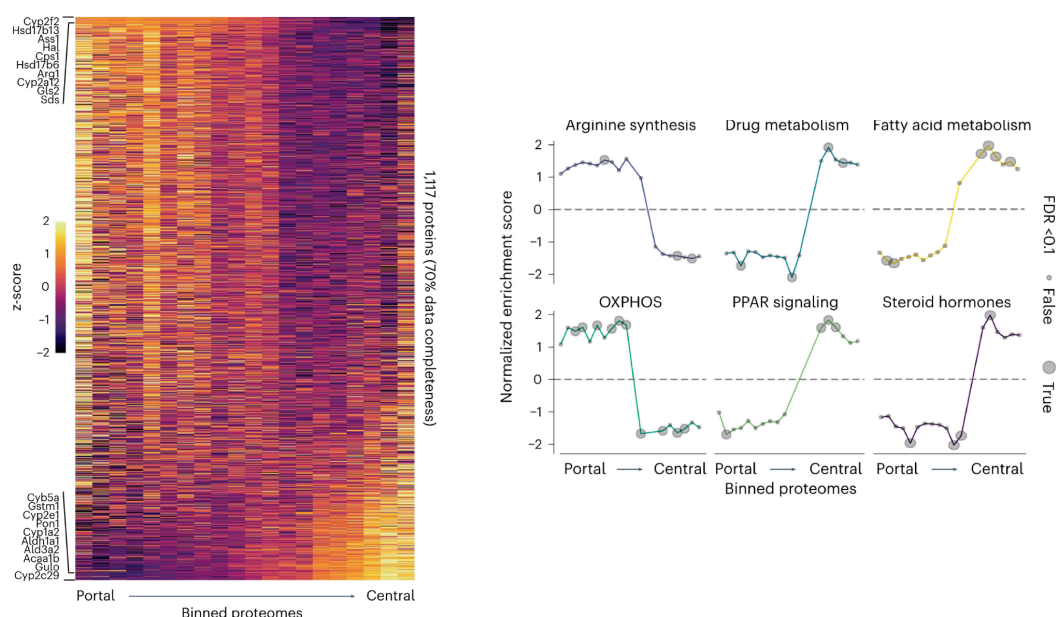
Proteomics の手法として単一細胞レベルで蛋白量を定量する single-cell proteomics が開発されているが、培養細胞への適用に留まっており、また位置情報を保持した spatial proteomics も開発されているが分解能は数十細胞単位が限界であった。今回、筆者らが過去に開発した spatial proteomics の手法と、同じく筆者らが開発した高感度 LC-MS/MS を融合し、spatial single-cell proteomics 解析を実現した。

(図 1)



マウスの肝臓の凍結切片から、deep learning モデルを用いて細胞の領域を検出し、laser microdissection により細胞を 384-well プレートに自動回収した。筆者らが過去に最適化したプロトコルを用いて高濃度のサンプルを調製可能なプロトコルを調製し、同じく筆者らが開発した高感度の LC-MS/MS システムを用いることで、シングルセルからも蛋白定量が可能な実験系を確立した。また、ラベリングを用いた multiplex により bulk のリファレンスサンプルと 2 細胞分のサンプルを同時測定することで、スループットを向上させた。(図 1)

(図 2)



平均値で 1,712 種類の蛋白を 1 細胞から検出できた。

肝細胞を portal vein から central vein までの間の位置によってすると、細胞が位置する区画によって、発現している蛋白が異なっていた。Gene set enrichment analysis を行うと、portal vein 側または central vein 側で特定の蛋白セットが特異的に高発現していることを示した。(図 2)

### 先行研究と比べて何がすごい？ 技術やアプローチのキモはどこ？：

- 初めて single-cell spatial proteomics を実現した。
- 筆者らが過去に継続的に開発してきた、高度な single cell proteomics, spatial proteomics の技術を統合した。
  - Deep visual proteomics (DVP) と呼ばれる、AI による細胞の検出と、laser microdissection による抽出を自動化した spatial proteomics のワークフローを開発。
  - diaPASEF と呼ばれる、サンプルのほぼ 100% をシグナル検出に利用できる測定系の開発。
  - HPLC からのサンプル押し出しスピードを従来より遅くするシステムの開発。
  - 細胞を回収したプレートの中でサンプル調製できるシステムによるサンプルのロス低減。
  - サンプルを濃縮する技術の開発。

### どうやってこの手法/仮説の有効性を検証したのか：

- 検出された蛋白にはヒストンが多いものの、多様な転写因子も検出された。
- 肝細胞での蛋白定量を行い、既知の portal - central axis に従う発現変化が検出できていることを確認した。

**その他、議論した内容:**

- 用途は?
- 高度な機器と蓄積されたノウハウのもとで実現可能な技術であり、論文を読んで真似することは経済的、技術てきなハードルが著しく高い。
- RNA-seq との比較についての言及が全く無い。RNA-seq と相関があるということになれば、技術導入のハードルの高さから、「RNA-seq で十分」と思われることを避けたのかも知れない。

**この研究をさらに発展させるとしたら:**

- この技術を用いて、新規の生物学的な知見を得る。