

制御性T細胞サブセットの解析における マスサイトメトリー CyTOF® 技術の有用性

James Badger Wing 先生

大阪大学免疫学フロンティア研究センター
ヒト免疫学（単一細胞免疫学）
特任准教授



Figure 1. James B. Wing 先生とHelios, a CyTOF System

先生のご研究内容を教えてください。

私は主に制御性T細胞 (Treg) と、そのサブセットである濾胞性制御性T細胞 (Tfr) の役割に注目しています。これらの細胞は、自己免疫抗体の産生を防止することで濾胞性ヘルパーT細胞駆動型の抗体反応の制御において重要な役割を果たしています。

マスサイトメーターHelios™, a CyTOF® Systemを使い始めてから結果までどのくらいの期間を要しましたか？

初めてマスサイトメトリー（MC）を導入したのは2017年後半でした。予備検討を経て約1ヶ月で、有用な結果を得ることができました。新規ユーザーにとって最も重要なことは、染色パネルの設計とその評価実験だと思います。その後は、染色パネルを改良して継続的な実験が可能になりました。

CyTOFで用いるタンパク質マーカーの最大数はどのくらいですか？

現在、私の最大のパネルは46のタンパク質マーカーで構成されています。さらに追加のマーカーを検討しているので、今年はおそらく50になるでしょう。これは、Indium、Cadmium、Platinum、Palladium、といった非ランタノイド金属を使うことで可能になると考えています。

先生の研究においてCyTOFを選ぶ理由はどのような点ですか？

CyTOFを使う以前から細胞集団を幅広く観察して、さらに特定の集団について深く解析する必要がありました。多数のマーカーを使用することでこれを同時に行うことが可能になりました。これが、CyTOFを選択する主な理由でした。

従来からのフローサイトメトリー技術に対しCyTOF技術の魅力とは何ですか？

これにはいくつかのアドバンテージがあると考えています。まず最初に一度に多数のマーカーを検出できる、という点です。特定の環境で起こる現象について、フローサイトメトリー (FCM) では解析範囲は限定されてしまいますが、MCではより大きなイメージを得ることができます。さらにアルゴリズムを用いた分析により、FCMでは得ることができなかったであろう結果を得ることができました。FCMにおいては複数のパネルを使用していたとしても各パネル間の集団の相互関係を理解することは難しく、10マーカーのパネルが4つあったとしてもMCの1つの40マーカーのパネルに置き換えることはできません。

次に、サンプルのバーコード処理の有用性です。まず、金属ラベルの抗体で複数のサンプルを、バーコーディングします。その後それらのサンプルを混合し、残りの染色のステップを行います。このことによって実験者の技術的なノイズを取り除き、より精度の高い解析ができることになりました。これに対し、FCMではバーコーディングを行うために4-6チャンネルを使うことは難しいと考えられます。

三つ目として、コンペンセーションがほとんど必要とされないことです。コンペンセーションによってはアーティファクトが生じる可能性があるため、コンペンセーションがほとんど必要とされないことは大きなメリットになります。

MCは近い将来、どのようなアプリケーションが期待されますか？

MCは研究者が免疫系を理解するためのツールとしての重要な部分を担っていくと思います。FCMは、多数のサンプルを迅速に評価する能力から依然として非常に有用なツールですし、scRNAeqは限られた細胞数に対して大量のデータを提供することができます。MCでは、複雑なデータセットを生成しながら1回の実験で、数十万または数百万のイベントに対して、統計的に意味のある解析を幅広く、かつ深く掘り下げた評価を同時に可能にする、という意味で非常に有用なツールであると考えています。

References:

Sakaguchi S (2019) Differential control of human Treg and effector T cells in tumor immunity by Fc-engineered anti-CTLA-4 antibody. PNAS January 8, 2019 116 (2) 609-618

マルチパラメーター解析におけるCyTOF技術の魅力

ヘテロな細胞集団に対し、その亜集団をより広くかつレアな集団を、網羅的で機能的な解析を同時に行うためには、非常に多くの細胞表面や細胞内マーカーが必要になります。CyTOF技術では細胞における最大44項目のタンパクの発現を、同時にシングルセルレベルで測定可能です。CyTOF技術ではシグナルの検出に蛍光標識抗体ではなく、金属標識抗体を用います。抗体には、金属の安定同位体が標識されており、抗体を介して細胞にラベルされた金属をICP TOFF Massで検出することにより、目的タンパク質をシングルセルレベルで検出、測定をします。このことにより、44項目の抗体を同時に測定する場合であっても、蛍光フローサイトメトリーでは必須の、「コンペンセーション」は必要なく、従来では実現できなかったマルチパラメーター解析を可能にしています。

Helios, a CyTOF system における実験ワークフロー

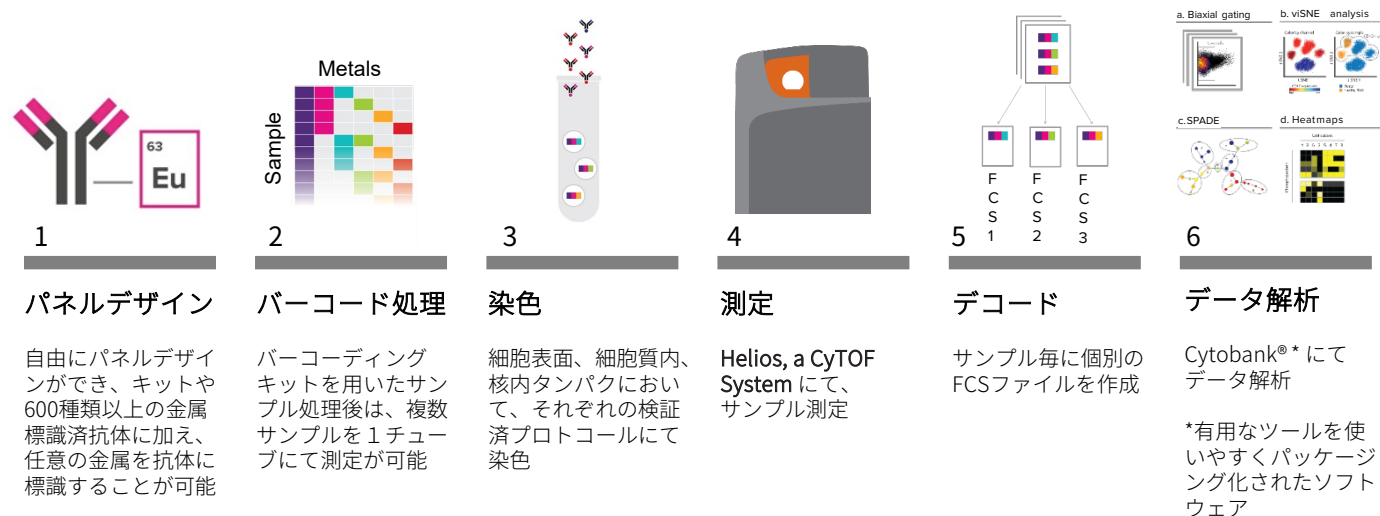


Figure 2. Helios, a CyTOF System ワークフロー

Ordering information

製品名	製品番号	価格 (税別)
Helios, a CyTOF System	107001	¥96,000,000
Premium Cytobank アカデミア向けライセンス (1年間)	401011	¥299,000
Premium Cytobank 企業向けライセンス5 users (1年間)	401017	¥2,822,500

お問い合わせ

フリューダイム株式会社
〒103-0001

東京都中央区日本橋小伝馬町15-19ルミナス
4F 電話: 03-3662-2150, FAX: 03-3662-2154

URL: <https://www.fluidigm-japan.com>

Eメール: info-japan@fluidigm.com

Learn more at:

fluidigm-japan.com



For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

Information in this publication is subject to change without notice. Patent and License Information: fluidigm.com/legal/notices. Limited Use Label License: The purchase of this Fluidigm Instrument and/or Consumable product conveys to the purchaser the limited, nontransferable right to use with only Fluidigm Consumables and/or Instruments respectively except as approved in writing by Fluidigm. Trademarks: Fluidigm, the Fluidigm logo, Cell-ID, CyTOF, EQ, Helios, and Maxpar are trademarks and/or registered trademarks of Fluidigm Corporation in the United States and/or other countries. All other trademarks are the sole property of their respective owners. ©2019 Fluidigm Corporation. All rights reserved. 05/2020