

オープンファシリティ管理運営技術職員の技術力向上を目的とした 細胞表面抗原解析実習および Cell Cycle 解析実習

○中村 葵^A、江端 新吾^{B,C}、岡 征子^D、武田 希美^D、吉沢 友和^A、
水口 幾久代^E、田中 稔^E

北海道大学創成研究機構グローバルファシリティセンターオープンファシリティ部門^A、北海道大学創成研究機構グローバルファシリティセンター^B、北海道大学大学力強化推進本部 URA ステーション^C、北海道大学創成研究機構グローバルファシリティセンター機器分析受託部門^D、名古屋大学大学院医学系研究科附属医学教育研究支援センター分析機器部門^E

1. はじめに

北海道大学は先端機器共用システムである「オープンファシリティ」を年々拡充し、機器共用の促進を進めてきた。オープンファシリティシステムの利用件数は12年間で15万件を突破している。北海道大学では機器共用の促進だけではなく、北海道大学が保有する高度な研究機器や分析技術を活用した、国際的な教育、人材育成拠点としても大きな役割を果たすことを目指して、平成28年1月1日付で北海道大学創成研究機構グローバルファシリティセンターが設立され、人材育成、リサイクル、産学共同という新たな3つの事業を柱とした取り組みを始めている。そして今回、技術職員の技術力の向上、研究教育支援の質の向上を目的とした「北大一名大技術人材交流プログラム」の一環として当センターの技術職員が名古屋大学大学院医学研究系研究科附属医学教育研究支援センターの技術職員と人材交流を行った。人材交流で得られた技術や知見、双方の技術職員の意見交換で得られた情報について発表する。

2. 人材交流プログラムの内容

今回の人材交流では、北海道大学のグローバルファシリティセンターオープンファシリティ部門でフローサイトメーターやセルソーターなどのフローサイトメトリーに関する装置の維持管理を行っている著者が、名古屋大学のフローサイトメーターを用いて細胞表面抗原解析と Cell Cycle 解析の実習へ参加した。

現在、当センターのオープンファシリティ部門では、フローサイトメーターを初めて利用する方を対象とした初回講習会を行っている。しかし、現在行っている講習会では、装置の操作講習のみにとどまっており、各アプリケーションに合わせた講習会は行っていない。一方、名古屋大学大学院医学系研究科の共同利用施設である分析機器部門では、各種主要メーカーのフローサイトメーターを揃えており、細胞表面抗原解析や Cell Cycle 解析などアプリケーションに対応した講習会を実施している。そこで名古屋大学で実施している、アプリケーション別の実習に参加し、講習会の How to や個別のアプリケーションに対してどのように対応しているのかを学んだ。

3. 細胞表面抗原解析実習

細胞表面抗原解析とは、細胞の表面に発現している抗原を、蛍光色素が標識された抗体を用いて、目的抗原の抗原抗体反応により蛍光を発した細胞の蛍光強度や分布のパターンについてフローサイトメーター（細胞や粒子の光散乱強度や蛍光強度を高速で電気的なシグナル情報に変換してコンピューター解析を行う機器）を用いて解析する方法である^{1)・2)}。

細胞表面抗原解析実習では、フローサイトメーターアナライザーBD FACS Cant2(3 レーザー-Violet、Blue、Red 搭載)を用いて、細胞表面解析のマルチカラー解析を行った。各蛍光色素の蛍光補正を行うために BD Calibrite™ (BD Bioscience)を用い、マニ

ュアル操作で蛍光補正を行う方法を学んだ。また、サンプルとしては IMMUNO-TROL™ Cells(ベックマンコールター)を用いて、試料作成方法および解析結果に対する解釈や評価方法を学んだ。

4. Cell Cycle 解析実習

Cell Cycle 解析の「Cell Cycle」とは「細胞周期」のことであり、細胞の増殖の際に見られる生活環を意味する。細胞周期は4つの時期(G1期、S期、G2期、G2期)があり、Cell Cycle 解析は細胞の核を蛍光染色し、各時期における細胞のDNA量についてフローサイトメーターで測定する手法である²⁾。近年、がん細胞への抗がん剤の評価や悪性進行度の評価などにこの手法が使われている³⁾。

Cell Cycle 解析ではフローサイトメーター アナライザーBD FACS Calibur (2レーザーBlue、Red搭載)を用いた。サンプルには仔牛の胸腺細胞を用いた。また、細胞周期解析ソフト ModFit を用いて解析し、解析したデータの解釈や評価方法を学んだ。

5. 共同利用施設でのバイオハザード対応について

名古屋大学の分析機器部門では昨年度より、感染リスクのある細胞、患者細胞(研究目的)の取り扱いを開始した。当センターのオープンファシリティ部門では、感染リスクのある検体の持ち込みを禁止している。患者細胞や感染リスクのある検体について名古屋大学ではどのような点に注意して取り扱い対処しているのか、また今後の課題についてお話をうかがった。

6. まとめ

細胞表面解析およびCell Cycle 解析は、フローサイトメーターの主要な解析方法である。名古屋大学の初回講習会では、フローサイトメーターの原理や機器の操作方法はもちろんのこと、市販の安定化したヒト赤血球及び白血球(リンパ球、単球、顆粒球)浮遊細胞や仔牛の胸腺細胞を用いた解析を行い、前処理の手順やデータの解釈まで行っていた。北海道大学のオー

プンファシリティでも、現在の初回講習会で市販の安定したヒト末梢血サンプルを用いた実習を行えば、非常に有意義な初回講習会になるであろう。感染性のあるサンプルの取扱については、当センターでは現時点で設備が対応していないため、すぐに対応するのは難しい。研究支援強化の為に、オープンファシリティでもクリーンベンチやオートクレーブ、安全キャビネットなどの設備を整え、取り扱えるサンプルの幅を広げて行く事が今後の課題である。

参考文献

- 1) 日本サイトメトリー技術者認定協議会編 『スタンダードフローサイトメトリー』 医歯薬出版株式会社 (2009)
- 2) 中内啓光、清田純 『直伝!フローサイトメトリー面白ほど使いこなせる!デジタル時代の機器の原理・操作方法と、サンプル調製およびマルチカラー解析の秘訣』 羊土社 (2014)
- 3) ベックマンコールター『サイトメトリードットコム アプリケーションノート 細胞周期解析』 <https://www.bccytometry.com>

参考文献および注

- 1) 日本サイトメトリー技術者認定協議会編 『スタンダードフローサイトメトリー』 医歯薬出版株式会社 (2009)
- 2) 中内啓光、清田純 『直伝!フローサイトメトリー面白ほど使いこなせる!デジタル時代の機器の原理・操作方法と、サンプル調製およびマルチカラー解析の秘訣』 羊土社 (2014)
- 3) ベックマンコールター『サイトメトリードットコム アプリケーションノート 細胞周期解析』 <https://www.bccytometry.com>

連絡先

E-mail : hollyhock0904@cris.hokudai.ac.jp