

未来社会創造事業 探索加速型  
「共通基盤」領域  
年次報告書(探索研究期間)

令和3年度 研究開発年次報告書
--------------------

令和2年度採択研究開発代表者

[研究開発代表者名：和泉 自泰]

[九州大学 生体防御医学研究所 准教授]

[研究開発課題名：1 細胞定量分子フェノタイプ解析に向けた微量試料自動前  
処理装置の開発]

実施期間：令和3年4月1日～令和4年3月31日

## §1. 研究開発実施体制

### ①「和泉」グループ

- ・研究開発代表者:和泉 自泰 (九州大学 生体防御医学研究所、准教授)
- ・研究項目

#### ①:1 細胞ピッキング装置を用いたナノウェルプレート内での微量試料調製法の開発

- ①-1:ナノウェルプレート的设计
- ①-2:微量試料自動前処理装置の開発
- ①-4:1 細胞定量メタボローム解析に向けた安定同位体カクテルの開発
- ①-5:ナノウェルプレート内でのプロテオミクスおよびメタボロミクスの前処理プロトコルの開発

#### ②:Nano-LC/MS/MS システムへの微量試料自動全量導入法の開発

- ②-1:ナノウェルプレートを設置するためのサンプルトレイの改良
- ②-2:微量試料全量導入ニードルの開発

#### ③:1 細胞定量分子フェノタイプ解析による細胞多様性評価

- ③-1:がん細胞の1細胞定量分子フェノタイプ解析

### ②「松本」グループ

- ・研究開発代表者:松本 雅記 (新潟大学 医歯学総合研究科・オミクス生物学分野、教授)
- ・研究項目

#### ①:1 細胞ピッキング装置を用いたナノウェルプレート内での微量試料調製法の開発

- ①-3:1 細胞定量プロテオーム解析に向けた安定同位体カクテルの開発
- ①-5:ナノウェルプレート内でのプロテオミクスおよびメタボロミクスの前処理プロトコルの開発

### ③「平藤」グループ

- ・研究開発代表者:平藤 衛 (ヨダカ技研株式会社、代表取締役)
- ・研究項目

#### ①:1 細胞ピッキング装置を用いたナノウェルプレート内での微量試料調製法の開発

- ①-1:ナノウェルプレート的设计
- ①-2:微量試料自動前処理装置の開発

#### ②:Nano-LC/MS/MS システムへの微量試料自動全量導入法の開発

- ②-1:ナノウェルプレートを設置するためのサンプルトレイの改良
- ②-2:微量試料全量導入ニードルの開発

## §2. 研究開発成果の概要

近年の様々な技術革新に伴い、1細胞レベルでの核酸情報の取得が可能となってきている。一方で、タンパク質や代謝物の1細胞解析は未だ発展途上の段階である。本研究では、これまで申請者らが開発してきた1細胞プロテオーム・メタボローム解析（分子フェノタイプ解析）システムの課題であった「定量性」および「スループット」を向上させるために、「① 1細胞ピッキング装置を用いたナノウェルプレート内での微量試料調製法の開発」および「② Nano-LC/MS/MSシステムへの微量試料自動導入法の開発」を行い、「③ 1細胞定量分子フェノタイプ解析による細胞多様性評価」に取り組む（図1）。

探索研究期間では、1細胞定量分子フェノタイプ解析を実現可能とするための各種要素技術および1細胞単離・微量試料自動前処理装置プロトタイプ機の開発を行う。また、開発する解析システムのスループットは、現状システムのスループットを4倍向上させた20分析/1日の達成を目指す。さらに、国内の共同研究者らと1細胞あるいは微量組織試料を用いた定量分子フェノタイプ解析の応用研究を進め、当該システムの有用性・実用性を評価する。

2021年度は、「① 1細胞ピッキング装置を用いたナノウェルプレート内での微量試料調製法の開発」、「② Nano-LC/MS/MSシステムへの微量試料自動導入法の開発」の項目を中心に九大、新潟大、ヨダカ技研で情報を共有しながら開発を進めた。さらに、2022年度に予定していた「③ 1細胞定量分子フェノタイプ解析による細胞多様性評価」についても、前倒しで研究開発を開始した。各研究開発項目で設定したマイルストーンに対して、目標値以上の成果が得られたことから、当初の計画以上に研究開発が進展しているといえる。

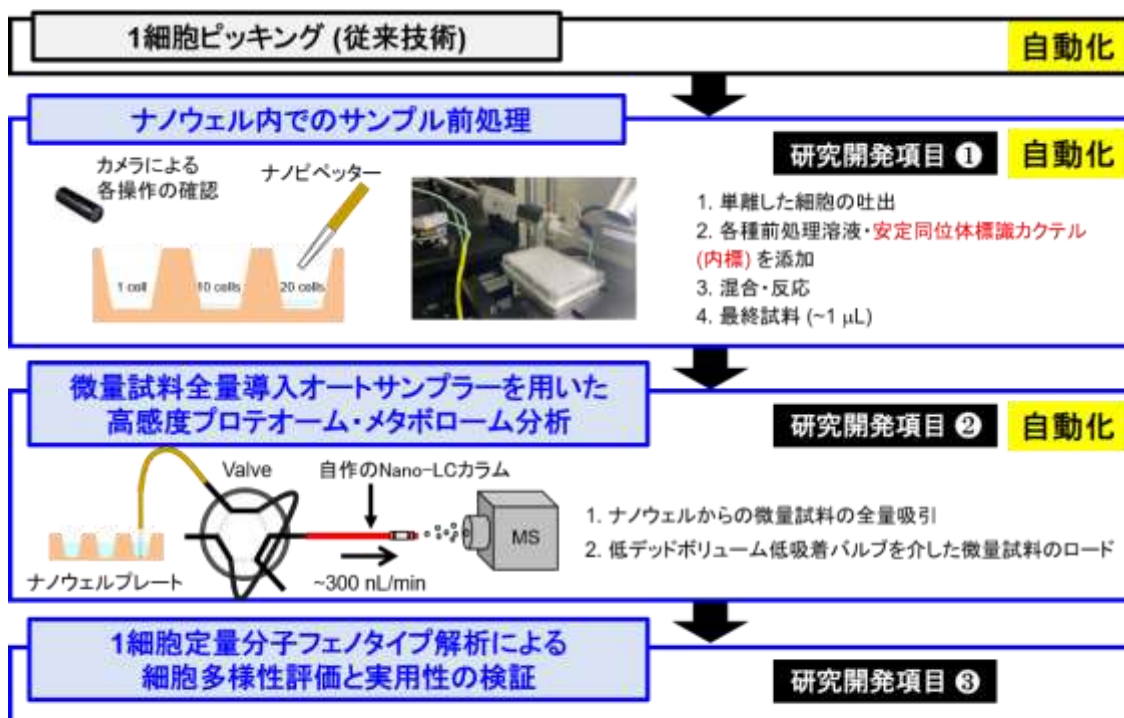


図1. 1細胞/微量組織定量分子フェノタイプ解析を加速させるための開発課題

## 【代表的な原著論文情報】

### 1. 次世代シリカモノリスカラムの開発と評価 (研究論文 8)

概要: 微量試料に含まれるタンパク質 (ペプチド) や疎水性の代謝物の高感度分離分析には内径の狭いカラムを用いた nano-LC 技術が重要となる. 本研究では, キャピラリー内でのモノリス型シリカ分離媒体の調製法を改良することで, 保持係数を高めたポリオクタデシルメタクリレートモノリスカラム (ODM カラム) の開発に成功した. 今後, 当該カラムを用いた超微流量 Nano-LC と MS の接続を最適化することで, 世界最高感度でのメタボロームあるいはプロテオーム測定の実施が期待できる.

Hara T, Baron G V, Hata K, Izumi Y, Bamba T, Desmet G.

Performance of functionalized monolithic silica capillary columns with different mesopore sizes using radical polymerization of octadecyl methacrylate.

J. Chromatogr. A, 1651, 462282 (2021).

### 2. メタボロミクスデータの施設間比較検証 (研究論文 19)

概要: 近年の人工知能技術の発展に伴い, ライフサイエンス分野においても各種オミクスの大規模データの活用が注目されている. しかし, メタボロームデータを用いて統合解析を実施するためには, 異なる時期, 異なる実験室, 異なる分析法で取得したメタボロームデータの定量値を比較可能とする基盤技術の確立が必要となる. 本研究では, 血漿試料を用いて日本国内の 11 の研究機関でのメタボロミクスデータの統合がどの程度可能であるかを検証し評価した.

Nishiumi S<sup>#\*</sup>, Izumi Y<sup>#\*</sup>, Hirayama A<sup>#\*</sup>, Takahashi M, Nakao M, Hata K, Saigusa D, Hishinuma E, Matsukawa N, M Tokuoka S, Kita Y, Hamano F, Okahashi N, Ikeda K, Nakanishi H, Saito K, Yokota Hirai M, Yoshida M, Oda Y, Matsuda F, Bamba T.

Comparative evaluation of plasma metabolomic data from multiple laboratories.

Metabolites, 12(2), 135 (2022).