

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05544

研究課題名(和文)油中液滴チャンバー法が可能にする1細胞プロテオミクスの開発

研究課題名(英文)Water-in-oil method for single-cell proteomics

研究代表者

増田 豪 (Masuda, Takeshi)

熊本大学・大学院生命科学研究部(薬)・助教

研究者番号：70383940

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：実用的な1細胞プロテオミクス技術の確立を目指している。申請者が構築した油中液滴法を基盤とした研究である。本申請課題では、安定同位体標識試薬を用いたタンパク質の疑似的な増幅法を確立するとともに、ハイスループット化を目指し液体ハンドリングロボットで前処理工程を半自動化した。改良したことにより、1細胞プロテオミクスで定量できるタンパク質の数が飛躍的に増加した。さらに申請者らは油中液滴法に適した超撥水基材の開発も行った。将来的にはこの基材でコートされた容器を用いることでさらに定量されるタンパク質の数を増やす。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞の分子レベルの不均一性は、組織や器官の複雑な機能やガン細胞集団としての抗ガン剤耐性を生み出すなど、重要な生命現象に深く関与している。本申請課題では、これまで難しかった1細胞プロテオミクスの実現に大きく近づける基盤技術を構築した。1細胞プロテオミクスを実現することで、従来のプロテオミクスでは見落としていた新たな現象の発見につながることで、学術的意義が大きい成果と言える。また、1細胞プロテオミクス技術は新規治療標的の探索などへの応用にも期待できることから、本成果は社会的意義もある。

研究成果の概要(英文)：In this project, we aim to establish a practical single-cell proteomics system. This study was based on the water droplet-in-oil digestion (Win0) method which was established by the applicant. We developed a pseudo amplification method for proteins using stable isotope-labeled reagents. To achieve high throughput analysis, we established a semi-automated pretreatment using a liquid handling robot. These improvements dramatically increased the number of quantified proteins in single-cell proteomics. We also developed a superhydrophobic materials suitable for the Win0 method.

研究分野：プロテオミクス

キーワード：プロテオミクス 高感度分析 1細胞オミクス 油中液滴

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

細胞の個性は、幹細胞から多様な細胞種に分化を促すなど、生命活動には欠かすことができない。複数細胞の平均的な情報ではなく、1細胞における生命情報解析技術の開発は、不均一性の発現起源などの解明につながることから、その需要は高い。

1細胞レベルでタンパク質を観察する方法としては免疫染色やフローサイトメトリーが用いられてきた。どちらも信頼性の高い実験手法であるが、抗体を用いるため研究者が観察したいタンパク質を予め決める必要があり、研究者の予想を超えたデータを取得することはできない。複雑な生命現象を解き明かすには、タンパク質の発現量を網羅的に定量するプロテオミクスが有力な技術である。一方で、1細胞プロテオミクスを行うには特別な装置などが必要だった。その主な理由は、タンパク質を増幅することができないこと、測定対象物がタンパク質ではなくペプチドであるため前処理行程が他のオミクス解析に比べて煩雑であり、前処理工程中に微量試料が損失してしまうことが挙げられる。1細胞プロテオミクスを行うには、高回収率な前処理技術が必要であった。

### 2. 研究の目的

本申請課題の目的は、1細胞から1,000種類以上のタンパク質をハイスループットに定性・定量できる分析システムを開発することである。1細胞プロテオミクスを達成することで、同一細胞群内における分子レベルの不均一性発現機構や不均一性が生み出す発生や分化に関わる複雑な生命機構の解明につながる。これまでにない分解能および視点から生命活動を観察できることから、世界に先駆けて新しい研究領域を創成できると期待している。

### 3. 研究の方法

油中液滴法を中心とした1細胞プロテオミクスを達成するには、前処理工程におけるタンパク質およびペプチドのプラスチック容器への吸着損失のさらなる抑制、LC-MS感度の向上およびスループット性の向上が必要である。吸着損失のさらなる抑制には、油中液滴法に適した基材の開発を行う。LC-MS感度を向上させるために、isobaricな安定同位体標識の適用を行った。スループット性の向上には、液体ハンドリングロボットを用いて前処理工程の半自動化を試みた。最終的に構築できた1細胞プロテオミクス技術を1細胞に適用し、従来の溶液消化法と比較を行った。

### 4. 研究成果

#### 1) 油中液滴チャンバー法容器の開発(宇都先生分担)

試料溶液と容器との接面積が小さくなるような基材の開発を試みた。そのアプローチとして二通りを検討した。1つは光分解性リンカーである。光分解性リンカーとしてニトロベンジル基を有する化合物の合成を行った。UVを当てることで分解する過程を確認できた。本化合物の末端にはアジド基とNHSエステルを有するため、将来的にはフルオロカーボンのような疎水基と容器上のアミノ基と反応させることで基材表面を本化合物で疎水加工する。一方で、超撥水基材の開発では、疎水コートしたシリカビーズを用いることで、水との接触角が $165^\circ$ となり目標を達成できた。今後は本基材をコートした容器を作成し、油中液滴法におけるタンパク質回収率改善効果を評価する。

#### 2) タンパク質疑似増幅法の開発(増田担当分)

Isobaricな安定同位体標識試薬であるTMTが油中液滴法に適用できる試薬であることを検証した。TMTは加水分解受けやすいため、まずは有機溶媒である無水アセトニトリルに溶かして試料溶液に添加する。しかしながら、油中液滴法における試料液滴は有機溶媒である酢酸エチル中にあるため、無水アセトニトリルに溶けたTMTは酢酸エチル中に拡散し試料液滴に送達できないことが危惧された。そこで本実施事項では、TMTが加水分解を受けず尚且つ酢酸エチル中で液滴形成できる組成の溶液を探索した。10 ngのペプチドに対して40 ugのTMT試薬を用いて標識する際のTMT溶媒を検討した。50 mM重炭酸トリエチルアンモニウムバッファー(TEAB)をTMTの溶媒として用いた場合、標識効率が14.2%だったのに対して、0.5%酢酸、50%アセトニトリル溶液を溶媒としたときは78.0%だった。TMT試薬の使用量を20 ugおよび10 ugと減らすと標識効率も低下した。このことから、0.5%酢酸、50%アセトニトリル溶液をTMT溶媒として用い、10 ngのペプチドに対して40 ugのTMT試薬を添加する方法を今後用いた。

#### 3) 自動ハンドリングロボットへの適用(増田担当分)

液体ハンドリングロボットとして当初はSTARletを用いる予定だったが、導入時から1536-well plateまで対応できるEDR-24LX(バイオテック社)を用いて前処理を行った。EDR-24LXを用いることで、前処理工程の半自動化を達成できた。前処理におけるケラチンのコンタミ抑制のためにまずは、使用するチップを手詰めではなくリロードタイプに変えた。その結果、検出された総イオン量に占めるケラチンイオンの割合が、26.0%から2.8%に減少した。さらにオープンクリーンシステムKOACH(興研株式会社)の働いている区画で前処理を行った結果、ケラチンイオンの割合

は 1.0%まで減少した。ケラチンのコンタミは大部分がチップ由来であることが確認できた。

#### 4) 1 細胞プロテオミクスへの応用(増田担当分)

1 細胞における油中液滴法の効果を評価した。セルソーターで分取した 1 個の RPMI8226 細胞に対して従来法である溶液消化法もしくは油中液滴法でプロテオミクスを行った。溶液消化法では平均で  $140.8 \pm 51.8$  種類のタンパク質が定量されたのに対して、油中液滴法では平均で  $400.3 \pm 32.5$  種類のタンパク質が定量された。タンパク質の定量数は 2.8 倍に増加した。両方法で共通して定量された 247 種類のタンパク質について定量値を比較したところ、221 種類のタンパク質は油中液滴法において有意に 2 倍以上多かった。溶液消化法に対する油中液滴法におけるタンパク質の定量値比の中央値は 10.21 倍だった。油中液滴法で定量されたタンパク質にはリボソームタンパク質や中心炭素代謝経路など発現量が多いタンパク質に加えて 33 種類の膜貫通タンパク質が含まれていた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計35件（うち査読付論文 32件／うち国際共著 9件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nagano Hinako, Ito Shingo, Masuda Takeshi, Ohtsuki Sumio	4. 巻 -
2. 論文標題 Effect of Insulin Receptor-Knockdown on the Expression Levels of Blood-Brain Barrier Functional Proteins in Human Brain Microvascular Endothelial Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharmaceutical Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11095-021-03131-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Masuda Takeshi, Inamori Yuma, Furukawa Arisu, Momosaki Kazuki, Chang Chih-Hsiang, Kobayashi Daiki, Ohguchi Hiroto, Kawano Yawara, Ito Shingo, Araki Norie, Ong Shao-En, Ohtsuki Sumio	4. 巻 -
2. 論文標題 Water droplet-in-oil digestion method for single-cell proteomics	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2021.12.13.472378	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Nagano Hinako, Ogata Seiryu, Ito Shingo, Masuda Takeshi, Ohtsuki Sumio	4. 巻 111
2. 論文標題 Knockdown of Podocalyxin Post-Transcriptionally Induces the Expression and Activity of ABCB1/MDR1 in Human Brain Microvascular Endothelial Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 1812 ~ 1819
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.xphs.2022.02.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sekimoto Yuri, Tokai Arisa, Aritaki Muneshige, Ando Takeshi, Masuda Takeshi	4. 巻 43
2. 論文標題 Objective discrimination of fur type based on electrophoresis optimized for fur hair proteins	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ELECTROPHORESIS	6. 最初と最後の頁 1233-1241
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/elps.202200002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sekimoto Yuri, Tokai Arisa, Aritaki Muneshige, Ando Takeshi, Masuda Takeshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Objective discrimination of fur type based on electrophoresis optimized for fur hair proteins	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ELECTROPHORESIS	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/elps.202200002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nagano Hinako, Ogata Seiryō, Ito Shingo, Masuda Takeshi, Ohtsuki Sumio	4. 巻 -
2. 論文標題 Knockdown of Podocalyxin Post-Transcriptionally Induces the Expression and Activity of ABCB1/MDR1 in Human Brain Microvascular Endothelial Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2022.02.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Masuda Takeshi, Inamori Yuma, Furukawa Arisu, Momosaki Kazuki, Chang Chih-Hsiang, Kobayashi Daiki, Ohguchi Hiroto, Kawano Yawara, Ito Shingo, Araki Norie, Ong Shao-En, Ohtsuki Sumio	4. 巻 -
2. 論文標題 Water droplet-in-oil digestion method for single-cell proteomics	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2021.12.13.472378	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Nagano Hinako, Ito Shingo, Masuda Takeshi, Ohtsuki Sumio	4. 巻 -
2. 論文標題 Effect of Insulin Receptor-Knockdown on the Expression Levels of Blood/Brain Barrier Functional Proteins in Human Brain Microvascular Endothelial Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharmaceutical Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11095-021-03131-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Chida Katsuyuki, Sakurai Yu, Ohtani Asa, Masuda Takeshi, Ohtsuki Sumio, Tanaka Hiroki, Akita Hidetaka	4. 巻 44
2. 論文標題 Proteomics Analysis of Lymphatic Metastasis-Related Proteins Using Highly Metastatic Human Melanoma Cells Originated by Sequential <i>in vivo</i> Implantation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 1551 ~ 1556
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b21-00463	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hatakeyama Dai, Shoji Masaki, Ogata Seiryō, Masuda Takeshi, Nakano Masahiro, Komatsu Tsugunori, Saitoh Ayaka, Makiyama Kyoko, Tsuneishi Hazuki, Miyatake Asuka, Takahira Mizuki, Nishikawa Erina, Ohkubo Ayana, Noda Takeshi, Kawaoka Yoshihiro, Ohtsuki Sumio, Kuzuhara Takashi	4. 巻 289
2. 論文標題 Acetylation of the influenza A virus polymerase subunit PA in the N terminal domain positively regulates its endonuclease activity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The FEBS Journal	6. 最初と最後の頁 231 ~ 245
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.16123	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogata Seiryō, Ito Shingo, Masuda Takeshi, Ohtsuki Sumio	4. 巻 41
2. 論文標題 Efficient isolation of brain capillary from a single frozen mouse brain for protein expression analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism	6. 最初と最後の頁 1026 ~ 1038
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/0271678X20941449	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ohguchi Hiroto, et.al.	4. 巻 2
2. 論文標題 Lysine Demethylase 5A Is Required for MYC-Driven Transcription in Multiple Myeloma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Blood Cancer Discovery	6. 最初と最後の頁 370 ~ 387
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/2643-3230.bcd-20-0108	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Hatakeyama Dai、Masuda Takeshi、Miki Ryosuke、Ohtsuki Sumio、Kuzuhara Takashi	4. 巻 557
2. 論文標題 In-vitro acetylation of SARS-CoV and SARS-CoV-2 nucleocapsid proteins by human PCAF and GCN5	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 273 ~ 279
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.03.173	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Masuda Takeshi	4. 巻 70
2. 論文標題 Trends in Single-Cell Proteomics Technology	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the Mass Spectrometry Society of Japan	6. 最初と最後の頁 72 ~ 73
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5702/massspec.s22-13	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogata Seiryō、Ito Shingo、Masuda Takeshi、Ohtsuki Sumio	4. 巻 41
2. 論文標題 Efficient isolation of brain capillary from a single frozen mouse brain for protein expression analysis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism	6. 最初と最後の頁 1026 ~ 1038
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/0271678X20941449	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hatakeyama Dai、Masuda Takeshi、Miki Ryosuke、Ohtsuki Sumio、Kuzuhara Takashi	4. 巻 557
2. 論文標題 In-vitro acetylation of SARS-CoV and SARS-CoV-2 nucleocapsid proteins by human PCAF and GCN5	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 273 ~ 279
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.03.173	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ito Shingo, Torii Yuta, Chikamatsu Shoma, Harada Tomonori, Yamaguchi Shunsuke, Ogata Seiryu, Sonoda Kayoko, Wakayama Tomohiko, Masuda Takeshi, Ohtsuki Sumio	4. 巻 18
2. 論文標題 Oral Coadministration of Zn-Insulin with d-Form Small Intestine-Permeable Cyclic Peptide Enhances Its Blood Glucose-Lowering Effect in Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 1593 ~ 1603
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.molpharmaceut.0c01010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Terai Hideki, Hamamoto Junko, Emoto Katsura, Masuda Takeshi, Manabe Tadashi, Kuronuma Satoshi, Kobayashi Keigo, Masuzawa Keita, Ikemura Shinnosuke, Nakayama Sohei, Kawada Ichiro, Suzuki Yusuke, Takeuchi Osamu, Suzuki Yukio, Ohtsuki Sumio, Yasuda Hiroyuki, Soejima Kenzo, Fukunaga Koichi	4. 巻 19
2. 論文標題 SHOC2 Is a Critical Modulator of Sensitivity to EGFR-TKIs in Non-Small Cell Lung Cancer Cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Cancer Research	6. 最初と最後の頁 317 ~ 328
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1541-7786.MCR-20-0664	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ohguchi H, Park PMC, wang T, Gryder BE, Ogiya D, kurata K, zhang X, Li D, pei C, Masuda T, Johansson C, Wimalasena VK, Kim Y, Hino S, Usuki S, Kawano Y, Samur MK, Tai Y-T, Munshi NC, Matsuoka M, Ohtsuki S, Nakao M, Minami T, Lauberth S, Khan J, Oppermann U, Durbin AD, Anderson KC, Hideshima T, Qi J	4. 巻 -
2. 論文標題 Lysine Demethylase 5A is Required for MYC Driven Transcription in Multiple Myeloma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Blood Cancer Discovery	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/2643-3230.BCD-20-0108	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Masuda Takeshi, Mori Ayano, Ito Shingo, Ohtsuki Sumio	4. 巻 36
2. 論文標題 Quantitative and targeted proteomics-based identification and validation of drug efficacy biomarkers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Drug Metabolism and Pharmacokinetics	6. 最初と最後の頁 100361 ~ 100361
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dmpk.2020.09.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -



1. 著者名 Yagi Ryotaro, Masuda Takeshi, Ogata Seiryō, Mori Ayano, Ito Shingo, Ohtsuki Sumio	4. 巻 17
2. 論文標題 Proteomic Evaluation of Plasma Membrane Fraction Prepared from a Mouse Liver and Kidney Using a Bead Homogenizer: Enrichment of Drug-Related Transporter Proteins	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 4101 ~ 4113
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.molpharmaceut.0c00547	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Liu Chenjiang, Kobashigawa Yoshihiro, Yamauchi Soichiro, Fukuda Natsuki, Sato Takashi, Masuda Takeshi, Ohtsuki Sumio, Morioka Hiroshi	4. 巻 168
2. 論文標題 Convenient method of producing cyclic single-chain Fv antibodies by split-intein-mediated protein ligation and chaperone co-expression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 257 ~ 263
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvaa042	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nambu Madoka, Nishiumi Shin, Kobayashi Takashi, Masuda Takeshi, Ito Shingo, Yoshida Masaru, Ohtsuki Sumio	4. 巻 223
2. 論文標題 Effects of differences in pre-analytical processing on blood protein profiles determined with SWATH-MS	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Proteomics	6. 最初と最後の頁 103824 ~ 103824
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jprot.2020.103824	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsumoto Kosei, Kinoshita Keita, Hijioka Masanori, Kurauchi Yuki, Hisatsune Akinori, Seki Takahiro, Masuda Takeshi, Ohtsuki Sumio, Katsuki Hiroshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Nicotine promotes angiogenesis in mouse brain after intracerebral hemorrhage	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2020.07.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kohata Tomohiro, Ito Shingo, Masuda Takeshi, Furuta Takuya, Nakada Mitsutoshi, Ohtsuki Sumio	4. 巻 19
2. 論文標題 Laminin Subunit Alpha-4 and Osteopontin Are Glioblastoma-Selective Secreted Proteins That Are Increased in the Cerebrospinal Fluid of Glioblastoma Patients	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Proteome Research	6. 最初と最後の頁 3542 ~ 3553
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jproteome.0c00415	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ito Shingo, Oishi Mariko, Ogata Seiryu, Uemura Tatsuki, Couraud Pierre-Olivier, Masuda Takeshi, Ohtsuki Sumio	4. 巻 12
2. 論文標題 Identification of Cell-Surface Proteins Endocytosed by Human Brain Microvascular Endothelial Cells In Vitro	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 579 ~ 579
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pharmaceutics12060579	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamaguchi Shunsuke, Ito Shingo, Masuda Takeshi, Couraud Pierre-Olivier, Ohtsuki Sumio	4. 巻 321
2. 論文標題 Novel cyclic peptides facilitating transcellular blood-brain barrier transport of macromolecules in vitro and in vivo	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Controlled Release	6. 最初と最後の頁 744 ~ 755
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2020.03.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamaguchi Shunsuke, Ito Shingo, Masuda Takeshi, Couraud Pierre-Olivier, Ohtsuki Sumio	4. 巻 321
2. 論文標題 Novel cyclic peptides facilitating transcellular blood-brain barrier transport of macromolecules in vitro and in vivo	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Controlled Release	6. 最初と最後の頁 744 ~ 755
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2020.03.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Uemura Tatsuki, Ito Shingo, Masuda Takeshi, Shimbo Hiroko, Goto Tomohide, Osaka Hitoshi, Wada Takahito, Couraud Pierre-Olivier, Ohtsuki Sumio	4. 巻 37
2. 論文標題 Cyclocreatine Transport by SLC6A8, the Creatine Transporter, in HEK293 Cells, a Human Blood-Brain Barrier Model Cell, and CCDs Patient-Derived Fibroblasts	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pharmaceutical Research	6. 最初と最後の頁 1~11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11095-020-2779-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Masuda Takeshi, Sugiyama Naoyuki, Tomita Masaru, Ohtsuki Sumio, Ishihama Yasushi	4. 巻 19
2. 論文標題 Mass Spectrometry-Compatible Subcellular Fractionation for Proteomics	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Proteome Research	6. 最初と最後の頁 75~84
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jproteome.9b00347	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nambu Madoka, Masuda Takeshi, Ito Shingo, Kato Ken, Kojima Takashi, Daiko Hiroyuki, Ito Yoshinori, Honda Kazufumi, Ohtsuki Sumio	4. 巻 42
2. 論文標題 Leucine-Rich Alpha-2-Glycoprotein 1 in Serum Is a Possible Biomarker to Predict Response to Preoperative Chemoradiotherapy for Esophageal Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 1766~1771
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b19-00395	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogata Seiryō, Ito Shingo, Masuda Takeshi, Ohtsuki Sumio	4. 巻 36
2. 論文標題 Changes of Blood-Brain Barrier and Brain Parenchymal Protein Expression Levels of Mice under Different Insulin-Resistance Conditions Induced by High-Fat Diet	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pharmaceutical Research	6. 最初と最後の頁 1~12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11095-019-2674-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tateshita Naho, Miura Naoya, Tanaka Hiroki, Masuda Takeshi, Ohtsuki Sumio, Tange Kota, Nakai Yuta, Yoshioka Hiroki, Akita Hidetaka	4. 巻 310
2. 論文標題 Development of a lipoplex-type mRNA carrier composed of an ionizable lipid with a vitamin E scaffold and the KALA peptide for use as an ex vivo dendritic cell-based cancer vaccine	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Controlled Release	6. 最初と最後の頁 36 ~ 46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2019.08.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Masuda Takeshi, Hoshiyama Toshiki, Uemura Tatsuki, Hirayama-Kurogi Mio, Ogata Seiryō, Furukawa Arisu, Couraud Pierre-Olivier, Furihata Tomomi, Ito Shingo, Ohtsuki Sumio	4. 巻 16
2. 論文標題 Large-Scale Quantitative Comparison of Plasma Transmembrane Proteins between Two Human Blood-Brain Barrier Model Cell Lines, hCMEC/D3 and HBMEC/ci	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 2162 ~ 2171
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.molpharmaceut.9b00114	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamauchi Soichiro, Kobashigawa Yoshihiro, Fukuda Natsuki, Teramoto Manaka, Toyota Yuya, Liu Chenjiang, Ikeguchi Yuka, Sato Takashi, Sato Yuko, Kimura Hiroshi, Masuda Takeshi, Ohtsuki Sumio, Noi Kentaro, Ogura Teru, Morioka Hiroshi	4. 巻 24
2. 論文標題 Cyclization of Single-Chain Fv Antibodies Markedly Suppressed Their Characteristic Aggregation Mediated by Inter-Chain VH-VL Interactions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 2620 ~ 2620
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules24142620	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計36件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 吉田尚功, 伊藤慎悟, 緒方星陵, 増田豪, 大槻純男
2. 発表標題 マウス大脳と小脳の単離毛細血管における血液脳関門プロテオーム比較解析
3. 学会等名 日本薬剤学会第36年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤慎悟, 大石真梨子, 緒方星陵, 上村立記, Pierre-Olivier Couraud, 増田豪, 大槻純男
2. 発表標題 細胞膜タンパク質ピオチン標識法とSWATH-MSによる網羅的タンパク質定量法を組み合わせたヒト脳毛細血管内皮細胞における細胞内内在化膜タンパク質の同定
3. 学会等名 第37回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮野綾華, 森彩乃, 増田豪, 伊藤慎悟, 大槻純男
2. 発表標題 標的プロテオミクスによる膜タンパク質定量のペプチド分画による高感度化
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2021年大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 増田豪
2. 発表標題 膜タンパク質の発現量を網羅的かつ正しく俯瞰するには
3. 学会等名 第12回 トランスポーター研究会 九州部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 増田豪
2. 発表標題 1細胞プロテオミクスを目指した技術開発
3. 学会等名 BioJapan 2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 近松翔馬, 伊藤慎悟, 増田豪, 大槻純男
2. 発表標題 Improvement of insulin absorption by oral co-administration with small intestine-permeable cyclic peptide concatenated with an insulin-binding peptide
3. 学会等名 第15回次世代を担う若手のための医療薬科学シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 増田豪, 伊藤慎悟, 石濱泰, 大槻純男
2. 発表標題 エチレングリコールを用いた細胞分画法とプロテオミクスへの応用
3. 学会等名 第42回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 古西修希, 櫻井遊, 千田克幸, 増田豪, 伊藤慎悟, 降幡知巳, 秋田英万, 大槻純男
2. 発表標題 定量プロテオーム解析による新規不死化ヒトリンパ管内皮細胞の評価
3. 学会等名 第38回日本薬学会九州山口支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 近松翔馬, 伊藤慎悟, 増田豪, 大槻純男
2. 発表標題 小腸透過環状ペプチド共投与方法を用いたインスリンの経口投与方法の改良
3. 学会等名 第38回日本薬学会九州山口支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名	Shingo Ito, Tatsuki Uemura, Takeshi Masuda, Hiroko Shimbo, Tomohide Goto, Hitoshi Osaka, Takahito Wada, Pierre-Olivier Couraud, Sumio Ohtsuki
2. 発表標題	Cyclocreatine transport by creatine transporter (SLC6A8) in HEK293 cells, a human blood-brain barrier model cell, and CCDSs patient-derived fibroblasts
3. 学会等名	36th JSSX Annual Meeting
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	岩田優実, 伊藤慎悟, 金子由依, 緒方星陵, 齊藤貴志, 西道隆臣, 増田豪, 大槻純男
2. 発表標題	Appノックイン型アルツハイマー病モデルマウス肝臓における薬物代謝・輸送関連タンパク質発現変動の解明
3. 学会等名	日本薬物動態学会 第36回年会
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	森彩乃, 増田豪, 伊藤慎悟, 大槻純男
2. 発表標題	定量的標的プロテオミクスによるヒト肝トランスポーターのタンパク質定量値の評価
3. 学会等名	日本薬物動態学会 第36回年会
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	増田豪
2. 発表標題	油中液滴法が可能にする1細胞プロテオミクス
3. 学会等名	細胞社会ダイバーシティの統合的解明と制御; 回若手ワークショップ (招待講演)
4. 発表年	2022年

1. 発表者名 増田豪
2. 発表標題 油中液滴法を基盤とした1細胞プロテオミクス
3. 学会等名 第19回北里疾患プロテオーム研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 増田豪
2. 発表標題 油中液滴法を基盤とした1細胞プロテオミクス
3. 学会等名 第19回北里疾患プロテオーム研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 増田豪
2. 発表標題 油中液滴法が可能にする1細胞プロテオミクス
3. 学会等名 細胞社会ダイバーシティの統合的解明と制御;回若手ワークショップ（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 森彩乃, 増田豪, 伊藤慎悟, 大槻純男
2. 発表標題 定量的標的プロテオミクスによるヒト肝トランスポーターのタンパク質定量値の評価
3. 学会等名 日本薬物動態学会 第36回年会
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 岩田優実, 伊藤慎悟, 金子由依, 緒方星陵, 齊藤貴志, 西道隆臣, 増田豪, 大槻純男
2. 発表標題 Appノックイン型アルツハイマー病モデルマウス肝臓における薬物代謝・輸送関連タンパク質発現変動の解明
3. 学会等名 日本薬物動態学会 第36回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shingo Ito, Tatsuki Uemura, Takeshi Masuda, Hiroko Shimbo, Tomohide Goto, Hitoshi Osaka, Takahito Wada, Pierre-Olivier Couraud, Sumio Ohtsuki
2. 発表標題 Cyclocreatine transport by creatine transporter (SLC6A8) in HEK293 cells, a human blood-brain barrier model cell, and CCDSs patient-derived fibroblasts
3. 学会等名 36th JSSX Annual Meeting
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 古西修希, 櫻井遊, 千田克幸, 増田豪, 伊藤慎悟, 降幡知巳, 秋田英万, 大槻純男
2. 発表標題 定量プロテオーム解析による新規不死化ヒトリンパ管内皮細胞の評価
3. 学会等名 第38回日本薬学会九州山口支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 近松翔馬, 伊藤慎悟, 増田豪, 大槻純男
2. 発表標題 小腸透過環状ペプチド共投与法を用いたインスリンの経口投与法の改良
3. 学会等名 第38回日本薬学会九州山口支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 近松翔馬, 伊藤慎悟, 増田豪, 大槻純男
2. 発表標題 Improvement of insulin absorption by oral co-administration with small intestine-permeable cyclic peptide concatenated with an insulin-binding peptide
3. 学会等名 第15回次世代を担う若手のための医療薬科学シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 増田豪
2. 発表標題 1細胞プロテオミクスを目指した技術開発
3. 学会等名 BioJapan 2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 増田豪
2. 発表標題 膜タンパク質の発現量を網羅的かつ正しく俯瞰するには
3. 学会等名 第12回 トランスポーター研究会 九州部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮野綾華, 森彩乃, 増田豪, 伊藤慎悟, 大槻純男
2. 発表標題 標的プロテオミクスによる膜タンパク質定量のペプチド分画による高感度化
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2021年大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤慎悟, 大石真梨子, 緒方星陵, 上村立記, Pierre-Olivier Couraud, 増田豪, 大槻純男
2. 発表標題 細胞膜タンパク質ピオチン標識法とSWATH-MSによる網羅的タンパク質定量法を組み合わせたヒト脳毛細血管内皮細胞における細胞内内在化膜タンパク質の同定
3. 学会等名 第37回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田尚功, 伊藤慎悟, 緒方星陵, 増田豪, 大槻純男
2. 発表標題 マウス大脳と小脳の単離毛細血管における血液脳関門プロテオーム比較解析
3. 学会等名 日本薬剤学会第36年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 増田豪
2. 発表標題 高感度・高精度なプロテオミクス技術
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 稲森悠真, 増田豪, 伊藤慎悟, 大槻純男
2. 発表標題 油中液滴法を用いた100細胞プロテオミクスの有効性
3. 学会等名 日本薬物動態学会第35年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 緒方星陵、伊藤慎悟、増田豪、大槻純男
2. 発表標題 糖尿病モデルマウスにおける血液脳関門の輸送機能変化と脳実質のタンパク質発現変動の解明
3. 学会等名 日本薬剤学会第34年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 稲森悠真、増田豪、伊藤慎悟、大槻純男
2. 発表標題 1細胞プロテオミクスを目指した油中液滴法による微量タンパク質前処理技術の開発
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2019年大会・第70回日本電気泳動学会総会合同大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 古川壱里朱、増田豪、稲森悠真、伊藤慎悟、大槻純男
2. 発表標題 定量プロテオミクスの感度および定量性向上を目指した新規相間移動溶解法の開発
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2019年大会・第70回日本電気泳動学会総会合同大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 増田豪
2. 発表標題 偽装カシミア製品の根絶に向けた獣毛鑑別法
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2019年大会・第70回日本電気泳動学会総会合同大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鳥居佑太、伊藤慎悟、山口駿介、増田豪、大槻純男
2. 発表標題 小腸透過環状ペプチドによるインスリンの小腸吸収促進効果と分子機序
3. 学会等名 第41回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 八木遼太郎、伊藤慎悟、増田豪、大槻純男
2. 発表標題 腸内細菌叢減少が宿主の脳タンパク質発現に与える影響の解明
3. 学会等名 第36回日本薬学会九州支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 太田千晴、於久祐己、堀祐真、長井京介、増田豪、大槻純男、長田重一、城谷圭朗、岩田修永
2. 発表標題 ミクログリアの細胞表面に発現するアルツハイマー病危険因子CD33のリガンドの同定
3. 学会等名 第36回日本薬学会九州支部大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	宇都 甲一郎  (Uto Koichiro)  (30597034)	国立研究開発法人物質・材料研究機構・国際ナノアーキテクトニクス研究拠点・独立研究者   (82108)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------