

機関番号：14401

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20360374

研究課題名（和文） 高精度 RNA オミクスに資する基盤技術開発

研究課題名（英文） Development of fundamental technology for accurate RNAomics

研究代表者

福崎 英一郎 (FUKUSAKI EIICHIRO)

大阪大学・工学研究科・教授

研究者番号：40273594

研究成果の概要（和文）：

miRNA の定量解析系構築のための分離性能と質量分析精度の向上を達成した。マイクロ流路系を用いた濃縮系を最適化するとともに、LCにおいて、移動相、充填剤、カラムを最適化し、性能向上に成功した。精密質量 MS(N 乗) を達成するためにイオントラップ飛行時間型ハイブリッド質量分析系を運用し、20 塩基以上の miRNA の de novo 配列決定に成功した。さらに、イオンモビリティ分光法を運用し、配列異性体の分離に成功した。加えて、質量分析感度向上のためのプローブの合成に成功した。

研究成果の概要（英文）：

Fundamental technology including separation and mass spectrometry for miRNA measurement have been studied. Micro flow meter based separation system was optimized. LC system was established through optimization of elutant, matrix, column etc. De novo sequencing of miRNA (longer than 20 base) was achieved by means of iontrap-time of flight mass spectrometry based MS(N) analysis. Ion mobility based mass spectrometry was also performed to separate sequence isomers. In addition, RNA analogous MS probe was created.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
2009 年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
2010 年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
年度			
年度			
総計	13,900,000	4,170,000	18,070,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：プロセス工学・生物機能・バイオプロセス

キーワード：メタボロミクス, LC/MS, RNA, miRNA

1. 研究開始当初の背景

ポストゲノム時代を迎え、特異性、観測定量範囲（ダイナミックレンジ）の広い堅牢な RNA 解析方法が求められている。これまで mRNA の定量解析方法は開発されてきたが、それだけ

では不十分であり、併せて、蛋白質をコードしていない RNA 類の解析が生命現象解明の鍵となると考えられている。Non-coding RNA には数多くの分子種が存在するが、その中でもゲノム情報の流れの中心である翻訳制御に関わ

るmiRNAの網羅的定量解析の重要性が増してきた。しかしながら、現状のRNA観測システムは、当該目的には不十分である。以下に重要な問題点を記す。

1) 網羅対象がmRNAに限定されていた：これが、トランスクリプトミクスと呼ばれる所以である。用いられる手法は、数千超のRNAに対して最適化されており、数十塩基のmiRNAの解析には適用困難。特に、定量解析を前提としたmiRNAならびにその前駆体の生体からの抽出濃縮方法は未確立だった。

2) 定量性が低い：既存法は、網羅性を重視するため、基板上でのハイブリダイゼーションと蛍光検出を基本にしているため、定量性に乏しく、系統誤差を発生しやすい。故に、定量解析が必要な場合は、蛍光プローブを用いたリアルタイムRT-PCR法によるロースループロット解析を余儀なくされてきた。

3) 転写後修飾の詳細がわからない：既存法はPCRで増幅し、あらかじめ手配したDNAプローブとのハイブリダイゼーションに基づく検出であることは上述した。RNAは転写後に塩基修飾、塩基置換等のエディティングを施され成熟するが、そのような情報は既存法では検出が困難である。

2. 研究の目的

ゲノム情報実行の流れを解明するために必須のオーム科学である『RNAオミクスの基盤技術』の開発を目標とする。具体的にはこれまでのトランスクリプトミクス解析技術に欠けている重要な要素技術、すなわち、マイクロRNA (miRNA) の網羅的解析の基盤技術開発を主眼とする。

本研究代表者(福崎)は、植物代謝工学のツールとしてRNAiを運用しており、siRNAの取り扱いには習熟している。また、これまでメタボロミクス(代謝物総体解析)の基礎技術開発ならびに、実用運用方法の開発を通して「低拡散型ナノLC-ESI-MS/MSシステム」技術は世界の第一線にあり、低分子RNAの質量分析にもすでに成功している。高村(分担者)の「テーパーストリームシステム」を用いた核酸精製濃縮の技術は、分離困難だったmiRNAと前駆体の迅速完全分離に最適である。また、桑原(分担者)は、これまで、核酸化学分野での経験を通して最先端の「プローブ合成技術」を有している。三者の技術を組み合わせて発展させることにより、前頁記載の戦略目標を達成できることを確信し、提案にいたった。

3. 研究の方法

miRNAおよびpre-miRNAの精製濃縮システムの開発は、「テーパーストリームシステム」の原理を用いて、細胞抽出液から、蛋白質等の不純物の除去、分子量に応じたmiRNA、pre-miRNAの分別濃縮の両者を達成する。最終的には、ナ

ノLC-MSとの連結を計る。miRNAの低核酸型ナノLC-ESI-MS/MSによる直接定量解析は、テーパーストリームシステムで精製したmiRNAを対象としてナノLC条件の最適化、質量分析条件の最適化を行った後に、テーパーストリームシステムとのオンライン連結し、ハイスループロット解析系を達成する。miRNA前駆体(pre-miRNA)の間接定量システムの開発は、分子量20000超のpre-miRNAは質量分析可能な範囲だが、定量性に乏しい。したがって、以下の戦略により定量解析する。①pre-miRNAを逆転写しcDNAを得る。②質量分析用のプローブを装着したオリゴDNAプローブを設計し、cDNAにハイブリダイズさせる。③DNAポリメラーゼ反応を実施し、遊離した「プローブ+1塩基」を低拡散型ナノLC-ESI-MS/MSにより精密定量する。

4. 研究成果

まず最初に、miRNA 定量分析に資するナノLC/MS 分析系の改良を行った。75 μm 内径の石英粗管をレーザーキャピラリーチューブで先端加工し、8 μm 先端内径のカラムを作成し、粒径 3 μm の ODS シリカゲル粒子を充填し、質量分析チップ一体型のナノ LC カラムを作成し、イオントラップ型質量分析計に連結し、超微量定量分析系を確立した。ゼブラフィッシュの発生胚を材料として、miRNA の抽出・精製法の最適化検討を行った。ゼブラフィッシュの発生胚 (24 hpf) 100 個 (130 mg FW) から、total RNA は $39 \pm 8 \cdot \text{g}$ (mean \pm SD)、miRNA は $0.39 \pm 0.02 \cdot \text{g}$ 回収され、total RNA に対する miRNA の割合は約 1%であった。

miRNA前駆体定量システムの開発に向けて、質量分析用のプローブとなる修飾オリゴDNAの合成を行った。プローブは質量標識部位、リンカー部位、核酸部位(塩基配列認識部位)の3つより構成される。質量分析器によって感度良く検出できるプローブを開発するために、質量標識部位およびリンカー部位の化学構造の最適化を検討し含窒素化合物を有する誘導体が高感度に検出されるなど分子設計の指針となる知見を得た。

miRNA および pre-miRNA の精製濃縮システムの開発として、細胞から RNA を抽出するための条件の精査を行った。特に今回は、精製濃縮の後質量分析することを考慮し、なるべく余計な分子が RNA に結合しないように、変性剤を用いずに RNA をトラップする条件を求め、及びその効率を高めることに注力した。その結果、70 $^{\circ}\text{C}$ で 10 分保持後、氷上で 5 分保持する熱処理によって、それまでの変性剤を用いなくても、ssRNA をトラップできること、トラップするための狭小部の幅は 8 μm がよいこと等が分かった。

ナノ LC/MS による精密微量定量システムを実用化した。質量分析による miRNA の検出システムの開発を実施した。高分解能、高質量

精度を有し、かつ、MS(n 乗)測定が可能であるハイブリッド型質量分析計であるイオントラップ飛行時間型質量分析計(IT-TOF-MS)を用いた。一塩基置換の配列の検出も可能とした。同位体パターンを解析することにより、各多荷イオン価数を確認し、分子量の精密推定を可能とした。miRNA 前駆体定量システムの開発に向けて、質量分析用のプローブとなる修飾オリゴ DNA の合成を行った。これまでの研究で、質量標識部位にはある種の含窒素化合物を有する誘導体が高感度に検出されることが明らかにしたため、その知見に基づく分子設計を行い、複数の DNA プローブをポスト修飾法によって合成した。miRNA の濃縮精製を指向し、トラップ条件とトラップ確率の関係を精査し、トラップ確率が、電圧と流速の比率でのみ決まり、その絶対値には影響しないことを見出した。これは、本トラップが、誘電泳動によるものではなく、新しいものであることを示している。現在この情報を元に、トラップメカニズムを解析するための、数値シミュレーションを試みている。また、細胞の解析実験では、1細胞の DNA・RNA 解析を容易にできるように、細胞を1つずつ自動的に配列させて、トラップ部へ導入する機構を完成させた。また、チップ上で PCR 解析を行うために、Polydimethylsiloxane のガス透過性を積極的に利用した手法を考案し、有効性を実証した。

LC 分離の向上と、全く異なる分離手法との組み合わせという 2 つのコンセプトのもと、現状分離が難しいような配列同士を分離できる、高い分離性能を持つ miRNA 分析系の開発をおこなった。まず、現状の LC 分離性能の向上を目指し、移動相、移動相の濃度勾配、カラム等、分析条件の最適化を主に行った結果、逆相系の ODS カラムで、移動相条件、移動相の濃度勾配を最適化することにより難分離性の類似配列もピークトップ分離できる可能性を示した。続いて、質量分析において、まったく新しい分離モードとして注目されているイオンモビリティスペクトロメーター (IMS) の運用を試みた。IMS は気相中で電気泳動を行う分離装置で、イオンの形、大きさ、電荷により分離されるため、保持時間、質量で分離できない配列の分離が期待された。条件を種々検討することにより、難分離性の類似配列をもつ二種のマイクロ RNA を分離することに成功した。加えて、本研究では、TaqMan プローブを改良した幾種かの新規修飾核酸プローブの設計・合成を行った。これらは、プローブの 5' 末端に蛍光標識ではなく、イオン化効率の優れた質量タグを修飾し、3' 末端にリン酸を付加したものである。このプローブを用いて PCR を行い、DNA ポリメラーゼの 5' → 3' エキソヌクレアーゼ活性によって生じた質量タグ + ヌクレオシド 1 残基

を質量分析装置を用いて検出することで、目的の遺伝子を定量的測定が可能であることを確認した。さらに、テーパ状流路を用いた RNA の抽出では、これまでは 2 次元パターンで流路断面積を変化させていたが、本年度は 3 次元的に変化させることにより、処理量の大幅な向上を目指した。板に孔を開け、上下から流路で挟む構造で、孔数を増やすことで超並列化も可能である。穴のパターンニングには電子ビーム露光装置を用いた。数値シミュレーションにより電場と流体場を見積もった。3 次元流路でもトラップは確認され、ほぼ予想した通りの性能を得た。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 19 件)

①Okazawa, A., Hori, K., Okumura, R., Izumi, Y., Hata, N., Bamba, T., Fukusaki, E., Ono, E., Satake, H. & Kobayashi, A. Simultaneous quantification of lignans in *Arabidopsis thaliana* by highly sensitive capillary liquid chromatography-electrospray ionization-ion trap mass spectrometry, *Plant Biotechnol., in press*, 査読有、2011

②Y. Ukita, L. Mouez, Y. Tomizawa, and Y. Takamura, Demonstration of Three-Dimensional DNA Trapping by using Electric Force and Hydrodrag Force Field, *to be published in Japanese Journal of Applied Physics*, 査読有、2011

③Masayasu Kuwahara, Yuki Takano, Yuya Kasahara, Hiroki Nara, Hiroaki Ozaki, Hiroaki Sawai, Akio Sugiyama, Satoshi Obik, Study on suitability of KOD DNA polymerase for enzymatic production of artificial nucleic acids using base/sugar modified nucleoside triphosphates, *Molecules*, 査読有、15(11),2010, 8229-8240

④Yoshida, R., T. Tamura, C. Takaoka, K. Harada, A. Kobayashi, Y. Mukai and E. Fukusaki, Metabolomics-based systematic prediction of yeast lifespan and its application for semi-rational screening of aging-related mutants, *Aging Cell*, 査読有、9(4),2010,616-625

⑤Bando, K., R. Kawahara, T. Kunimatsu, J. Sakai, J. Kimura, H. Funabashi, T. Seki, T. Bamba and E. Fukusaki, Influences of biofluid sample collection and handling procedures on GC-MS based metabolomic studies, *J Biosci Bioeng*, 査読有、110(4), 2010,491-499

⑥Bando, K., T. Kunimatsu, J. Sakai, J. Kimura, H. Funabashi, T. Seki, T. Bamba, and E. Fukusaki, GC-MS-based metabolomics reve

als mechanism of action for hydrazine induced hepatotoxicity in rats, *J Appl Toxicol.*, Epub Date 2010/12/15、査読有

⑦Masatoshi Tsukamoto, Shu Taira, Shohei Yamamura, Yasutaka Morita, Naoki Nagatani, Yuzuru Takamura and Eiichi Tamiya, Cell separation by an aqueous two-phase system in a microfluidic device, *Analyst*, 査読有、134,2009, 1994-1998

⑧Jumtee, K., Okazawa, A., Harada, K., Fukusaki, E., Takano, M., & Kobayashi, A, Comprehensive metabolite profiling of *phyA phyB phyC* triple mutants to reveal their associated metabolic phenotype in rice leaves, *J. Biosci. Bioeng.*, 査読有、108, 2009, 151-159

⑨Izumi, Y., Okazawa, A., Bamba, T., Kobayashi, A. and Fukusaki, E., Development of a method for comprehensive and quantitative analysis of plant hormones by highly sensitive nanoflow liquid chromatography-electrospray ionization-ion trap mass spectrometry, *Anal Chim Acta*, 査読有、648(2), 2009, 215-225

⑩Takagi, K., Okazawa, A., Wada, Y., Mongkolchaiphuek, A., Fukusaki, E., Yoneyama, K., Takeuchi, Y., & Kobayashi, A, Unique phytochrome responses of the holoparasitic plant, *Orobancha minor*, *New Phytol.*, 査読有、182, 2009, 965-974

⑪M. Kuwahara, H. Takeshima, J. Nagashima, S. Minezaki, H. Ozaki, H. Sawai, Transcript ion and reverse transcription of artificial nucleic acids involving backbone modification by template-directed DNA polymerase reactions, *Bioorg. Med. Chem*, 査読有 17, 2009, 3772-3788

⑫Yuichi Tomizawa, Eiichi Tamiya, Yuzuru Takamura, Trapping probability analysis of a DNA Trap using Electric and Hydrodrag force fields in tapered microchannels, *Physical Review E*, 査読有、79(5), 2009, 051902-1-051902-8

⑬Izumi, Y., Kajiyama, S., Nakamura, R., Ishihara, A., Okazawa, A., Fukusaki, E., Kanematsu, Y. and Kobayashi, A., High-resolution spatial and temporal analysis of phytoalexin production in oats, *Planta*, 査読有、229(4), 2009, 931-934

⑭ Izumi, Y., Kajiyama, S. High-resolution spatial and temporal analysis of phytoalexin production in oats, *Planta*, 査読有、229, 2009, 931-943

⑮ Jumtee, K., Bamba, T., Integrated metabolite and gene expression profiling revealing phytochrome, A regulation of polyamine biosynthesis of *Arabidopsis thaliana*, *J. Exp. Botany*, 査読有、59, 2009, 1187-1200

⑯ Y. Hagiwara, T. Hasegawa, A. Shoji, Acridone-tagged DNA as a new probe for DNA detection by fluorescence resonance energy transfer and for mismatch DNA recognition, *Bioorg. Med. Chem*, 査読有、16, 2008, 7013-7020.

⑰M. Kuwahara, S. Obika, J. Nagashima, Systematic analysis of enzymatic DNA polymerization using oligo-DNA templates and triphosphate analogs involving 2',4'-bridged nucleosides., *Nucleic Acids Res.*, 査読有、36, 2008, 4257-4265

⑱福崎英一郎、メタボロミクスの定量性とデータマイニング、ぶんせき、査読無、10, 2008, 530-535

⑲福崎英一郎、メタボロミクスの基礎技術開発と応用、生産と科学、査読無、60, 2008, 1-3

〔学会発表〕(計 38 件)

①浮田芳昭, Mouez Lassoued, 富沢祐一, 高村禪、積層型微細流路チップを用いたハイスループットDNAトラップの検討、2011年春季第58回 応用物理学関係連合講演会(会は中止になり、アブストは発行されました)、2011. 3. 24-27、神奈川工科大学

②Yuuya Kasahara, Yuuta Irisawa, Hidetaka Okonogi, Masayoshi Tajima, Atsushi Kobayashi, Masayasu Kuwahara, Hiroaki Ozaki, Seiji Tobita, PACIFICHEM 2010, 2010. 12. 19, Hawaii Convention Center

③原田和生, 福崎英一郎、ポジティブモードCE-MSによるアニオン性代謝産物網羅的測定法とその応用、第30回キャピラリー電気泳動シンポジウム30周年記念大会、2010. 11. 16, 長良川国際会議場

④Yuuya Kasahara, Masayasu Kuwahara, Measurement of the binding affinity of selected DNA aptamer by nonequilibrium capillary electrophoresis, ISNAC2010, 2010.11.10, はまぎんホール (ヴィアマーレ)

⑤Y. Ukita, L. Mouez, Y. Tomizawa, and Y. Takamura, Demonstration of Three-Dimensional DNA Trapping by using Electric Force and Hydrodrag Force Field, MNC2010, 2010.11.9-12, Rihga Royal Hotel Kokura

⑥中山泰宗、馬場健史、福崎英一郎、安定同位体希釈率の経時変化情報による中央代謝ターンオーバー解析、第62回日本生物工学会大会、2010. 10. 28、宮崎シーガイア

⑦津川裕司, 辻本有輝, 有田正則, 馬場健史, 福崎英一郎, GC-MS クロマトグラムデータにおける化合物自動同定システムの開発、第62回 日本生物工学会大会、2010. 10. 28、宮崎シーガイア

⑧Yoshiaki Ukita, Lassoued Mouez, Yuichi To

mizawa, Yuzuru Takamura, Development of three-dimensional lab-on-a-chip for high-throughput DNA extraction, 7th International Symposium on Advanced Materials in Asia-Pacific J AIST International Symposium on Nano Technology 2010, 2010.9.30-10.1, Ishikawa high tech exchange center

⑨高野優貴, 笠原勇矢, 桑原正靖, 杉山明生, 尾崎広明, 澤井宏明, 酵素的な人工核酸合成における塩基部位/糖部位修飾ヌクレオシド三リン酸の基質特性評価, 第4回 バイオ関連化学シンポジウム, 2010. 9. 26, 大阪大学

⑩中山泰宗, 馬場健史, 福崎英一郎, 安定同位体希釈率の経時変化情報による中央代謝ターンオーバー解析, メタボロームシンポジウム, 2010. 9. 10, グランドエルサン

⑪福崎英一郎, メタボリックフィンガープリンティングの高解像度表現型解析への応用, JAIMA コンファレンス 2010, 2010. 8. 31-9. 3, 幕張メッセ国際会議場

⑫Masayasu Kuwahara, Yuuya Kasahara, Keisuke Anahara, Yuuta Irisawa, Masayoshi Tajima, Hiroaki Ozaki, Hiroaki Sawai, Akio Sugiyama, Synthesis of acridonyl nucleoside analog and its fluorescent properties and substrate properties on polymerase reaction, IRT 2010 - XIX International Round Table on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids, 2010.8.30, Université Claude Bernard Lyon 1

⑬穴原圭佑, 田島正義, 高野優貴, 桑原正靖, 尾崎広明, アクリドン修飾ヌクレオチドの合成とその特性, 第5回相模ケイ素材料フォーラム, 2010. 8. 26, 相模中央化学研究所

⑭福崎英一郎, メタボリックフィンガープリンティングの高解像度表現型解析への応用, 第23回バイオメディカル分析科学シンポジウム, 2010. 7. 22, ホテル大観荘

⑮富澤祐一, 高村禪, 微小流体デバイスを用いた一細胞配列, 破碎技術に基づく個別細胞解析, 日本生物工学会セルプロセス計測評価研究部会主催第1回若手研究シンポジウム, 2009. 11. 26, 神戸国際会議場

⑯Y. Tomizawa and Y. Takamura, Trap Probability Analysis of DNA Trap using Electric and Hydrodrag Force Fields in Taper Shaped Microchannel, 2009 International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC2009), Sapporo, 2009.11.7-11.8, Sheraton Sapporo Hotel

⑰和泉 自泰, 岡澤 敦司, 梶山 慎一郎, 馬場 健史, 小林 昭雄, 福崎 英一郎, ナノフロー液体クロマトグラフィー/質量分析計による植物代謝産物の高感度定量分析, 第4回メタボロームシンポジウム, 2009. 11. 18, 横浜サイ

エンスフロンティア高等学校

⑱Nguyen Ba Trun, Masato Saito, E. Tamiya, Y. Takamura, On-Chip Stationary Multi-Chamber PCR Device, International symposium of Microchemistry and Microsystems, ISMM2009 & NT2009, 2009.11.7-8, 金沢市香林坊

⑲K. Noma, H. Matsuura, Y. Tomizawa, E. Tamiya, Y. Takamura, Auto picking up and introducing-mechanism for single cell to microchannel using a modified diaphragm valve aiming automated massively parallel single cell analysis, The 13th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Science (μ TAS 2009), 韓国・ソウル

⑳桑原正靖, 小林敦, 田島正義, 北爪峻輔, 穴原圭祐, 尾崎広明, 飛田成史, Fluorescent properties of acridonyl group in DNA duplex, 36th International Symposium on Nucleic Acid Chemistry, 2009. 9. 29, 高山文化会館

㉑和泉 自泰, 瀧村 晋, 長澤 早紀, 馬場 健史, 福崎 英一郎, LC-ESI-IT-TOF-MS を用いた定量的 microRNA 解析手法の開発, 第61回日本生物工学会大会, 2009. 9. 24, 名古屋大学

㉒笠原勇矢, 高野優貴, 奈良紘希, 桑原正靖, 尾崎広明, C5位修飾アラビノヌクレオチドのDNA鎖への酵素的導入, 第24回生体機能関連化学シンポジウム, 第12回バイオテクノロジー部会シンポジウム, 2009. 9. 14, 九州大学医系キャンパス百年記念講堂

㉓和泉自泰, 岡澤敦司, 馬場健史, 小林昭雄, 福崎英一郎, ナノフロー液体クロマトグラフィー/イオントラップ型質量分析計による植物ホルモン類の網羅的定量分析, 第57回質量分析総合討論会, 2009. 5. 15, 大阪国際交流センター

㉔桑原正靖, 田島正義, 尾崎広明, DNA二重鎖中におけるアクリドニル基の塩基認識, 日本化学会第89春季年会, 2009. 3. 27, 日本大学理工学部船橋キャンパス

㉕堀 遂人, 岡澤敦司, キャピラリー LC/MS を用いたシロイヌナズナに含まれるリグナン関連化合物のプロファイリング, 日本農芸化学会2009年度大会, 2009. 3. 29, 福岡国際会議場

㉖高村禪, 微小流体デバイスを用いた一細胞配列, 破碎技術に基づく個別細胞解析, 第8回日本再生医療学会総会, 2009. 3. 5-6, 東京国際フォーラム

㉗野間 慶一, 松浦 宏紀, 1細胞の核酸解析のためのダイヤフラムバルブを用いた細胞捕捉とリリース, 化学とマイクロナノプロセス研究会, 2008. 12. 8-9, 京都大学

㉘Yuzuru Takamura, Molecular separation and elemental analysis method utilizing micro fabricated structures, Nanotechnology 2008,

2008.10.23-25,国際交流会館(石川)

⑨Yuichi Tomizawa, Eiichi Tamiya,
Trap probability analysis of DNA trap using
electric and hydrodrag force fields in tapered
microchannel, Nanotechnology 2008,
2008.10.23-25, 国際交流会館 (石川)

⑩Lassoued Mouez, Yuzuru Takamura,
Numerical simulation of DNA motion in a
micro/nanochannel under shear and extensional
flow, Nanotechnology 2008,
2008.10.23-25, 国際交流会館 (石川)

⑪Keiichi Noma, Hiroki Matsuura,
Singlecell trap and release mechanism using a
modified diaphragm valve for singlecell gene
analysis, Nanotechnology 2008, 2008.10.23-25,
国際交流会館 (石川)

⑫葉原 正靖、竹島 英俊、DNA鎖の主鎖修飾
がポリメラーゼ反応に及ぼす影響、第3回バ
イオ関連化学合同シンポジウム、2008.9.18、
東京工業大学すずかけ台キャンパス

⑬M. Kuwahara, Minezaki, J, Effect of back
one-modification of oligodeoxyribonucleic acid
on primer extension reactions, Joint Sympo
sium of the 18th International Roundtable on
Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids
and the 35th International Symposium on N
ucleic Acids Chemistr, 2008.9.11、京都大学

⑭Yuzuru Takamura, Keiichi Noma,
RNA Extraction by Electric and Hydraulic Fo
rce Fields in Microfluidic Channel, 3rd Intern
ational Workshop on Approaches to Single-Ce
ll Analysis, 2008.9.11-12, ETH Zurich, Switze
rland

⑮野間 慶一、松浦 宏紀、1細胞からの核
酸解析のためのダイヤフラムバルブを用い
た細胞補足とリリース、2008年秋季 第69回
応用物理学会学術講演会、2008. 9. 2-5、
中部大学

⑯Jumtee, K., Bamba, T., Okazawa, A ,Integr
ated metabolic profiling and geneexpression pr
ofiling revealing phytochrome A regulation of
polyamine biosynthesis of Arabidopsis thalian
a, 第26回日本植物細胞分子生物学会, 2008.9.
2, 大阪大学

⑰和泉自泰、岡澤敦司、植物ホルモンの網
羅的高感度LC-ESI-MS/MS 分析、第26回日本
植物細胞分子生物学会、2008. 9. 2、大阪大学

⑱Yuzuru Takamura, Modern Analytical
Technology for Mobile Use Employing
Microfabricated Structures, BIT Life Sciences'1st
Annual World Congress of Bio-2008,
2008.5.18-21, New Century Grand Hotel, 中国
杭州

〔図書〕(計1件)

①和泉自泰、福崎英一郎、シーエムシー出版、
シングルセル解析最前線 (監修: 神原秀紀、

松永是、植田充美); 第3章 細胞内生体分
子群の実測定量解析; 8. ナノLC/MS を用い
た代謝物微量解析、2010、6、194-200

〔産業財産権〕

○出願状況 (計2件)

名称: 新規ヌクレオシド誘導体、それを含む
ポリヌクレオチド及びそれを用いた塩基の
識別方法

発明者: 桑原正靖、尾崎広明

権利者: 群馬大学

種類: 特願

番号: 2009-72157

出願年月日: 2009. 3. 24

国内外の別: 国内

名称: 細胞捕捉装置及び細胞捕捉方法

発明者: 高村 禪、野間 慶一

権利者: 国立大学法人北陸先端科学技術大学
院大学

種類: 特願

番号: 2008-222715

出願年月日: 2008. 8. 29

国内外の別: 国内

○取得状況 (計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福崎 英一郎 (FUKUSAKI EIICHIRO)

大阪大学・工学研究科・教授

研究者番号: 40273594

(2) 研究分担者

高村 禪 (TAKAMURA YUZURU)

北陸先端科学技術大学院大学・マテリアル

サイエンス研究科・准教授

研究者番号: 20290877

桑原 正靖 (KUWAHARA MASAYASU)

群馬大学・工学研究科・助教

研究者番号: 40334130

岡澤 敦司 (OKAZAWA ATSUSHI)

大阪大学・工学研究科・助教

研究者番号: 10294042