

シンプルな液体分注ロボットで酵母の増殖能評価実験の自動化を実現

生命科学実験の自動化には、大型で多機能なロボットや機器が活用されていますが、導入や拡大に課題があります。本研究では、導入が容易で機能がシンプルな液体分注ロボットを用い、酵母の細胞増殖アッセイ実験を自動化しました。この成果は実験自動化の拡大を促す基盤となることが期待されます。

生命科学実験をロボットやコンピュータなどを活用して自動化する「実験自動化」が世界中で注目を集めています。実験自動化が進めば、生命科学研究の効率化や再現性の向上、研究者を含む人間のリソース配分の最適化につながることを期待されます。これまでもさまざまな分野で実験自動化が行われてきましたが、大型で多機能なロボットや専用装置を用いて実装されることが多く、筐体数の拡大や、一般の研究室への新規導入が難しいという問題がありました。一方、比較的導入が容易な、シンプルな機能を持つロボットを用いた生命科学実験の自動化例は限られており、ラインナップの拡大が求められています。

本研究では、シンプルな機能を持つ液体分注ロボットを用い、真核生物のモデル生物である出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) のスポットアッセイの自動化システムを構築しました。スポットアッセイとは、寒天培地上での酵母の増殖能の違いを評価する実験のことで、遺伝学や毒性学においてよく用いられています。しかし、これまでは大型のロボットや専用装置を使うなど導入コストが高い手法でしか自動化がなされていませんでした。本研究チームは、寒天培地の高さのばらつきを自動で補正する手法や酵母の増殖を自動で観察・定量するシステムを新たに開発し、シンプルな機能を持つ液体分注ロボットと接続することで、スポットアッセイの自動化システムを構築しました。開発したロボットシステムによる自動実験と人間による手動実験を定量的に比較した結果、開発した自動スポットアッセイ実験の精度が人間に劣らないことが示されました。

本研究成果を活用することで、より幅広い研究者が実験自動化を導入しやすくなるとともに、AI（人工知能）駆動型実験やより大規模な酵母実験を自動化する際の技術基盤となることが期待されます。

研究代表者

筑波大学医学医療系

尾崎 遼 准教授

研究の背景

生命科学の研究現場では、ある研究室で成功した実験結果が別の研究室では再現できないなど実験の再現性の問題や、研究者の業務拡大で知的生産作業に専念しにくく生産性・効率性が低下しているという問題が顕著になっています。また、コロナ禍で、研究現場においても無人化・遠隔化の必要性が高まりました。これらの問題を解決する選択肢の一つとして、実験操作の自動化による再現性の向上や効率化・無人化・遠隔化の取り組みが世界中で活発になりつつあります。しかし、その多くは大型で多機能な実験自動化ロボットや専用装置を用いた実装例であったことから、筐体数の拡大や、一般の研究室への新規導入が難しいという問題がありました。一方、比較的導入が容易な、シンプルな機能を持つロボットを用いた生命科学実験の自動化例は限られており、ラインナップの拡大が求められています。

本研究では、出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) の基本的実験手法の一つであるスポットアッセイと呼ばれる実験手法の自動化を試みました。スポットアッセイとは、段階的に希釈した酵母の培養液の液滴を寒天培地上で培養し、培養後の酵母の増殖度合の違いから、異なる遺伝型や培養条件などの影響を評価する実験です。スポットアッセイの自動化は大型の実験自動化ロボットや専用の装置を用いて開発されてきましたが、導入コストとそれによって得られる効率性などのメリットを考慮すると、一般の研究室では、導入のハードルが高い状態でした。そこで本研究チームは、シンプルな機能を持つ液体分注ロボットを用い、スポットアッセイを自動化することを目指しました。

研究内容と成果

本研究では、シンプルな構造と機能を持つ卓上型液体分注ロボット OT-2 (Opentrons 社製) を用いて、出芽酵母のスポットアッセイを自動化しました。また、酵母を培養するインキュベーターの中にフラットベッドスキャナを設置し、スポットアッセイ後の酵母のコロニーを経時的に自動撮影することで、画像から酵母の増殖を定量化できるシステムを開発しました (参考図)。

開発の際には以下の①～③の問題を解決する必要がありました。

① OT-2 のデッキ (試料設置区画) の形状と大きさは SBS 規格^{注1)} であるため、一般的な酵母の実験室で用いられている丸型ペトリディッシュの設置は不可能で、設定した位置に正確に培養液の液滴を滴下することができませんでした。この問題は SBS 規格に適合する丸型ペトリディッシュのマウントを 3D プリンターで作成することで解決しました。定まった位置に丸型ペトリディッシュが設置されることで、ロボットが正確に培養液の液滴を滴下することが可能となりました。

② 培養液の液滴を寒天培地上に落とすには、ピペットチップの先端を寒天培地の表面に触れないギリギリまで接近させる必要がありましたが、寒天培地の高さは厳密には各寒天培地毎に異なり、シンプルな機能しか持たないロボットでは異なる高さに対応させることが困難でした。この問題は寒天培地の重さから高さを計算する手法を考案することで解決しました。寒天培地の重さを事前に入力しておけば、寒天培地ごとに最適な高さに対応するピペットチップの先端が接近し、正確に液滴を落とすことが可能となりました。

③ スポットアッセイという実験手法は従来、増殖の違いを人間が視覚的に判断するものでした。しかし、コンピュータによる制御や将来的に AI との接続を達成するには、定量的な数値として評価値が算出される必要がありました。この問題は、インキュベーター内で寒天培地上の酵母を培養しながら酵母のコロニーが増殖する様子をフラットベッドスキャナーで経時的に自動撮影するシステム、および自動撮影後の画像データから評価値を算出・可視化するソフトウェアを新規に開発することで解決しました。

本手法の有用性を検証するために、OT-2 による自動スポットアッセイと人間による手動スポットアッセイを実施し、増殖の定量比較を行いました。その結果、OT-2 と人間による定量結果において顕著な差は観察されませんでした。また、実験時間も OT-2 が 25 分に対して人間は 30 分で、大きな差はありませんでした。

んでした。以上の結果から、今回開発したシステムは、人間と同様の操作が実施可能であることが示されました。

今後の展開

本研究により、OT-2 と寒天培地を組み合わせた実験が実施可能であることが示されました。今後は酵母の形質転換など遺伝学的操作を大規模・多検体で実施可能となる機能を拡張するなどして、酵母実験自動化の基盤技術開発をさらに進めていきます。また、OT-2 などの自動分注ロボットと AI による観察・意思決定を組み合わせたシステムを設計すれば、人間の介在なしに、酵母の増殖度合いに応じて与える操作が変更できる自律実験システムを構築することも可能になります。本研究は、AI 駆動実験やより大規模な酵母実験を自動化する際の技術基盤となることが期待されます。

参考図

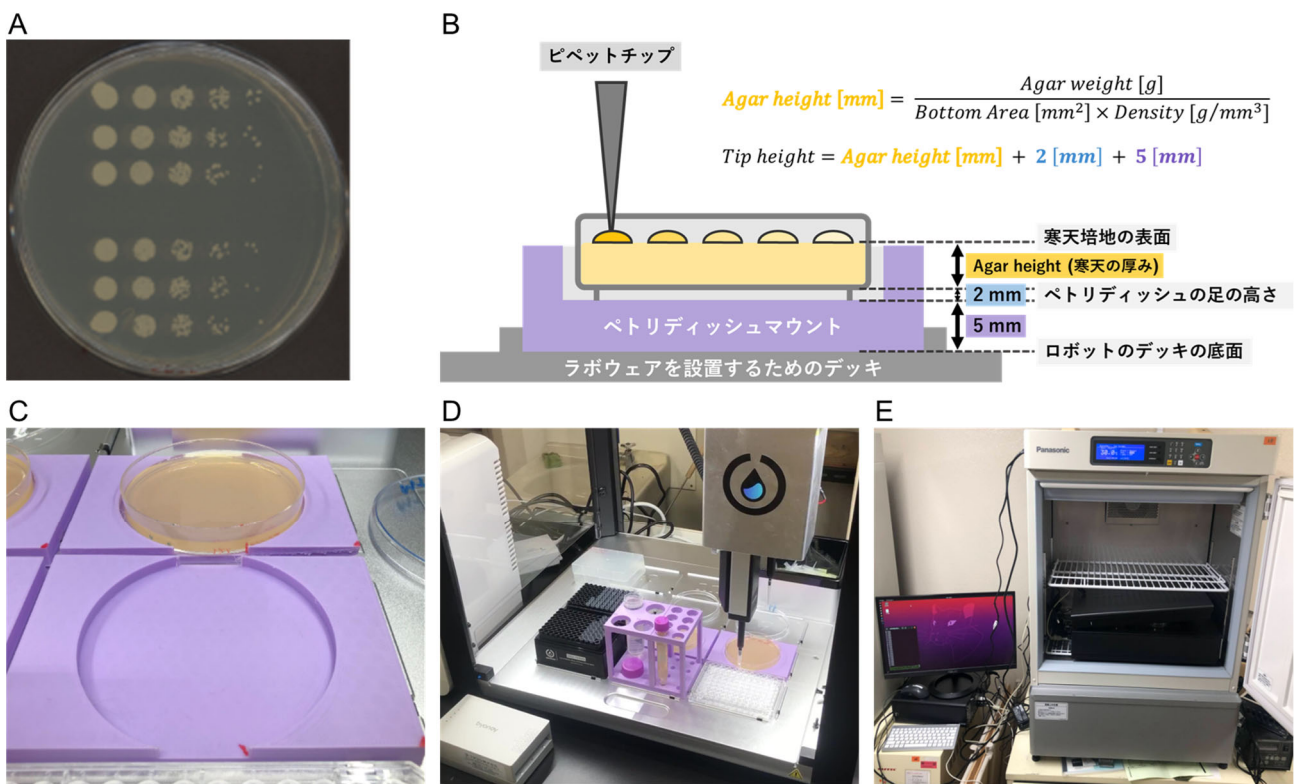


図 本研究で開発した自動増殖アッセイの概要

(A) スポットアッセイを行ったペトリディッシュのスクリーン画像。段階的に薄めた培養液を左から右にスポットする。異なる遺伝子型の酵母をスポットすると、増殖の違いを視覚的に示すことができる。

(B、C) チップの高さを調整する概念図。ロボットの内のデッキにペトリディッシュマウントを設置し、その上に寒天培地が入った丸型のペトリディッシュプレートを置く。ピペットチップは寒天培地の表面に触れないギリギリの高さで液滴を落とす必要があり、ピペットチップの高さの調節が求められる。図 B の右上に書いてある計算式に基づいて寒天の重さから寒天の高さを計算し、ピペットチップの高さを調節する。(D) ロボットが自動でスポットアッセイを行う様子。(E) 寒天培地上での酵母の増殖を経時的に自動撮影するシステム。一般的なインキュベーター (恒温室) の中に市販されているフラットベッドスキャナーを設置し、インキュベーターの外にある制御用 PC で自動撮影プログラムを実行する。

用語解説

注1) SBS 規格

生体分子スクリーニングの国際学会である Society for Biomolecular Screening が定めた、生命科学実験に使用されるマイクロプレートの規格のこと。長方形の形状で、サイズは約 12.5 mm x 8.5 mm となっている。マイクロプレートを扱う自動化機器はほとんどが SBS 規格のラボウェアを想定しており、SBS 規格のラボウェアを設置することができる。

研究資金

本研究は、科学技術振興機構（JST）未来社会創造事業の探索加速型「共通基盤」領域における研究開発課題「ロボティックバイオロジーによる生命科学の加速」（JPMJMI18G4）および日本学術振興会科研費（22K06074、21K06145）による研究プロジェクトの一環として実施されました。

掲載論文

【題名】 Automation of yeast spot assays using an affordable liquid handling robot

（扱いやすい自動分注ロボットによる酵母スポットアッセイの自動化）

【著者名】 田口将大（筑波大学グローバル教育院ヒューマニクス学位プログラム 大学院生）、須田恭之（筑波大学医学医療系 分子細胞生物学 助教）、入江賢児（筑波大学医学医療系 分子細胞生物学 教授）、尾崎遼（筑波大学医学医療系 バイオインフォマティクス 准教授）

【掲載誌】 SLAS technology

【掲載日】 2022 年 12 月 9 日

【DOI】 10.1016/j.slast.2022.12.001

問合わせ先

【研究に関すること】

尾崎 遼（おざき はるか）

筑波大学 医学医療系バイオインフォマティクス／人工知能科学センター 准教授

URL: <https://sites.google.com/view/ozakilab-jp>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報局

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp