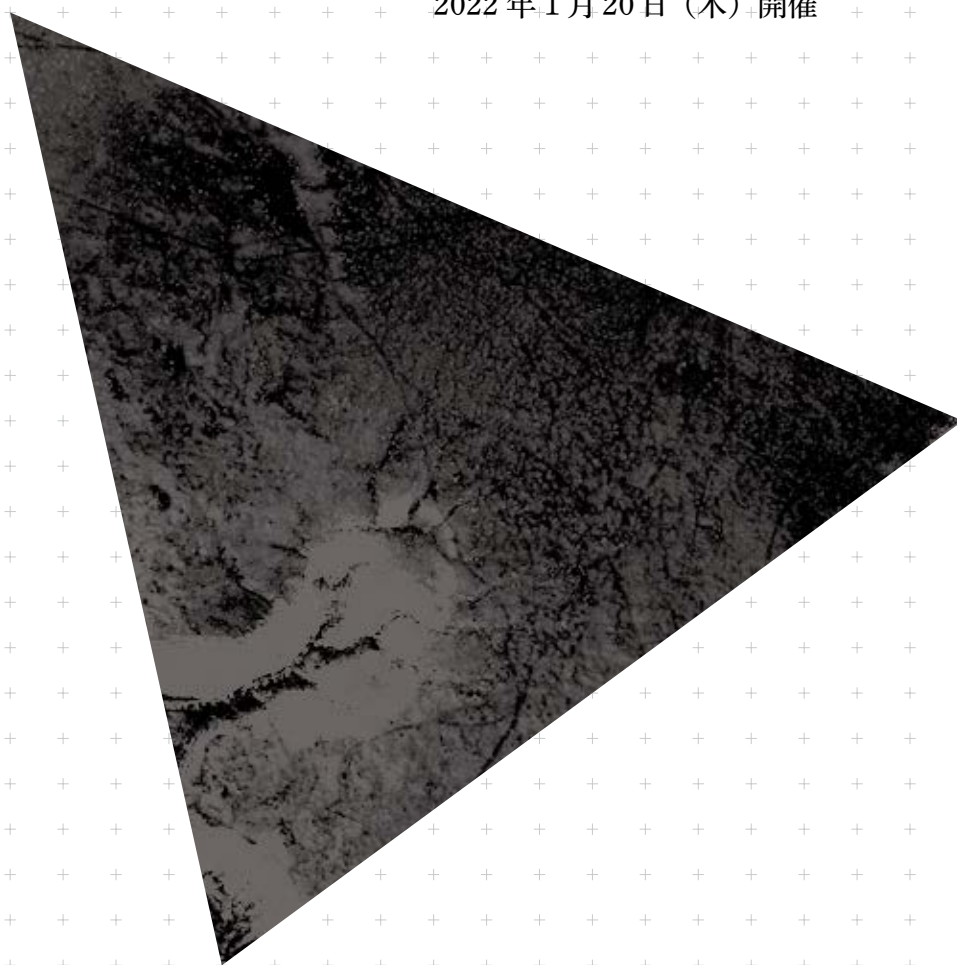


俯瞰ワークショップ報告書

ライフサイエンスと
ナノテク・材料の
融合が拓く新領域

2022年1月20日（木）開催



エグゼクティブサマリー

本報告書は、国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）研究開発戦略センター（CRDS）が令和4年1月20日に開催した俯瞰ワークショップ「ライフサイエンスとナノテク・材料の融合が拓く新領域」に関するものである。

CRDSでは研究開発が行われているコミュニティ全体を4つの分野（環境・エネルギー分野、システム・情報科学技術分野、ナノテクノロジー・材料分野、ライフサイエンス・臨床医学分野）に分け、これらの分野ごとに俯瞰・動向調査を実施している。しかしながら、イノベーションの鍵となるような新しい学問領域や先端技術は、異なる分野の連携・融合領域において生まれることが多く、CRDSでは分野を越えた取組も積極的に行っている。本ワークショップは、このような取組の一環として、CRDSライフサイエンス・臨床医学ユニットとナノテクノロジー・材料ユニットが共同で企画した。

次世代シーケンサーやmRNAワクチン、リキッドバイオプシーなど、医療やバイオエコノミーに変革をもたらす数多くのイノベーションが近年登場しているが、このようなイノベーションの根底にはライフサイエンス・医学研究により得られた知見とナノテク・材料技術との融合により生み出された新たな材料・デバイスや計測技術、操作・制御技術が存在している。こうした状況を踏まえ、今後もライフサイエンスとナノテク・材料技術の融合領域よりイノベーションの源泉となりうる新たなシーズが生まれてくることを期待して、本ワークショップは最新の研究開発動向を把握・俯瞰し、今後の研究開発の方向性について議論することを目的とした。

ワークショップでは、ライフサイエンスとナノテク・材料技術の融合により創出が期待されるシーズを大きく3種類に分け、それに対応する形で「生体分子・生体環境の計測技術」「細胞・組織等の操作・制御技術」「人工分子システムのデザイン・創製」の3つのセッションを設定し、融合領域の第一線で活躍する研究者が話題提供をおこなった。また、ライフサイエンスとナノテク・材料分野を代表する研究者が基調講演をおこない、全てのセッション終了後には総合討論を実施した。各セッションの話題提供、基調講演、総合討論の概要を以下に示す。

「セッション1：生体分子・生体環境の計測技術」では、一細胞・一分子レベルの高感度バイオ計測技術を・中心に話題提供と議論がおこなわれた。主な話題は以下の通り。

- ・ナノ量子センサによる超高感度バイオセンシング
- ・光開裂型ブロックを用いた空間オミクス解析
- ・一分子検出に向けたペプチドナノポアのde novo設計・形成
- ・固体ナノポアセンサの集積化、一細胞マルチオミクス解析
- ・マイクロチップを用いたデジタルバイオ分析によるリキッドバイオプシー
- ・メタ表面による蛍光増強を利用したバイオセンサ

「セッション2：細胞・組織等の操作・制御技術」では、細胞・組織の操作・制御をおこなう様々な技術とその応用について話題提供と議論がおこなわれた。主な話題は以下の通り。

- ・ゲルカプセル分取による単一微生物のゲノムデータ取得と分子設計への活用
- ・損傷脳組織再生のための薬物徐放機能をもつ超分子ペプチドゲル材料開発
- ・マイクロRNAなど、遺伝子の非コード領域を標的とした核酸医薬

- ・ Auger 電子による DNA 二重鎖切断によるがん治療
- ・ ナノマテリアルによる細胞外小胞の分離とリキッドバイオブシー
- ・ 分子ナノカーボンの細胞への導入によるバイオロジー

「セッション3：人工分子システムのデザイン・創製」では、人工分子システムのデザイン・創製に向けた取組やそれらの医療応用などについて話題提供と議論がおこなわれた。主な話題は以下の通り。

- ・ 合成生物学的アプローチによる人工ファージを用いたファージセラピー
- ・ DNA ナノスプリングによる細胞の力計測
- ・ デジタルアッセイ、ウイルスー粒子計測
- ・ mRNA ワクチン、mRNA の修飾とデリバリー
- ・ 細胞の運命を制御する RNA スイッチ
- ・ ポリマー型中空粒子による人工オルガネラ・人工細胞の構築

基調講演「ナノバイオデバイス、AI、量子技術が拓く未来医療」では、ナノテクノロジーとライフサイエンス、医学の融合領域におけるこの20年の研究開発の進展について紹介があった。新しいナノ構造・ナノ材料を用いた計測・診断デバイスの開発事例とともに、異分野融合を進める上で必要な研究開発体制のあり方、共用インフラ活用の重要性などが示された。

基調講演「細胞内分解ダイナミクス」では、技術の応用先（受け取り手）の1つである基礎生命科学の事例として、細胞内の分解を担うオートファジーに関する研究動向の説明や、研究者がどういった観点で研究しているかの紹介があった。また異分野連携の事例として基礎生命科学、計測と数理の融合による研究が紹介された。

総合討論では、各セッションおよび基調講演の内容を踏まえて議論をおこなった。主な内容は以下の通り。

- ・ 計測技術に関する研究開発の方向性として、非蛍光での高感度・一分子計測技術や多項目・多次元の計測技術が挙げられた。一分子計測や多次元計測に伴う膨大なデータの取得・処理も課題として指摘された。
- ・ 合成生物学は基礎、応用科学の両面でこれから極めて重要であること、また、日本にはナノ材料、有機化学・超分子などに蓄積があり、これらの関連分野が融合することで、合成生物学において強みを発揮できる可能性が指摘された。
- ・ 応用に向けた方向性として、今回のワークショップの発表で主に想定されていた基礎生命科学での活用と医療への応用については、昨今の潮流や課題が示された。一方、植物・農業への応用を想定した事例は今回のワークショップでは限られたが、世界で見た時の産業規模・問題の大きさから、日本でもナノテク・材料の技術の植物・農業への応用を更に掘り下げて検討すべきとの指摘があった。
- ・ 融合領域の構築に向けた課題として、異分野間の交流・情報交換の場や新材料のトライアルの場、医工連携を可能にするプラットフォームなどの構築が課題として挙げられた。

本ワークショップを通して、我が国においてもライフサイエンスとナノテク・材料技術の融合領域からはイノベーションの源泉となりうる様々なシーズが生まれていることが確認された。特にバイオ計測技術においては、基礎研究のみならず、実用技術としての検討が望まれる段階にまで達しているものが多く見られた。一方、操作・制御、デザイン・創製に関してもユニークな技術が数多く生まれているが、実用可能な人工分子システムの構築に向けては、これらの技術を単独ではなく、適切に組み合わせて研究開発を推進することが必要であると認められた。今後、ライフサイエンスとナノテク・材料技術の融合領域から生まれる様々なシーズをシス

テーマティックな連携体制の構築を通して研究開発を推進するための戦略・方策について、掘り下げた検討を進めることが重要と言える。また、計測においても、人工分子システムの構築においても、生命科学、医学・医療、植物・農業に応用する際の意義づけやヒト、微生物、植物など生体へ適用する上での課題を、技術開発者と基礎生命科学／医学／バイオエコノミー側の研究者の間で深く議論する場が必要であると考え。いうまでもなく、関連研究の海外動向を適切に把握しながら、共同研究等も含め、海外と協力して研究の推進を図ることが重要である。

これらの結果は、CRDSでさらに検討を加えて、2023年に発行を予定している「研究開発の俯瞰報告書（2023年）」に反映させるとともに、今後の戦略提言にも活用していく予定である。

目次

1	趣旨説明	
	宮菌 侑也、荒岡 礼 (JST-CRDS)	1
2	基調講演	3
2.1	ナノバイオデバイス、AI、量子技術が拓く未来医療 馬場 嘉信 (名古屋大学)	3
2.2	細胞内分解ダイナミクス 水島 昇 (東京大学)	9
3	生体分子・生体環境の計測技術	14
3.1	生体ナノ量子センサーが実現する超早期診断 プラットフォーム 五十嵐 龍治 (量子科学技術研究開発機構)	14
3.2	光単離化学 (PIC) による高解像度かつ高深度の空間オミクス解析 沖 真弥 (京都大学)	19
3.3	De novo ナノポア設計と微生物型分子ロボット工学への応用 川野 竜司 (東京農工大学)	24
3.4	1 細胞マルチオミクス解析に向けたナノポア技術開発 筒井 真楠 (大阪大学)	28
3.5	ナノテクが切り拓くデジタルバイオ分析 渡邊 力也 (理化学研究所)	32
3.6	広範な標的検出を可能にするメタ表面バイオセンサーの応用展望 岩長 祐伸 (物質・材料研究機構)	35
4	細胞・組織等の操作・制御技術	40
4.1	微生物シングルセル解析と大規模ゲノムデータが拓く 革新的なバイオ生産 細川 正人 (早稲田大学)	40
4.2	超分子ペプチドゲルを利用した損傷脳組織再生 味岡 逸樹 (東京医科歯科大学)	45
4.3	遺伝子の非コード領域を標的とした核酸医薬の創製と 物質共生学の構築 山吉 麻子 (長崎大学)	50

4.4	がん細胞内で電子を放出して DNA を切断する新技術 新規放射線治療の確立へ向けて 松本 光太郎 (京都大学)	55
4.5	リキッドバイオプシーに向けた細胞外小胞・microRNA 捕捉技術の革新 安井 隆雄 (名古屋大学)	60
4.6	ナノカーボンバイオロジー 伊丹 健一郎 (名古屋大学)	64
5	人工分子システムのデザイン・創製	68
5.1	デザイナーファージの創出と社会実装 安藤 弘樹 (岐阜大学・アステラス製薬)	68
5.2	DNA ナノデバイスの開発とメカノバイオロジー研究への 応用 岩城 光宏 (大阪大学・理科学研究所)	72
5.3	ウイルス 1 粒子計測からウイルスを作って理解する 田端 和仁 (東京大学)	77
5.4	mRNA ワクチン、医薬のためのデリバリー技術開発と mRNA 分子設計 内田 智士 (京都府立医科大学)	82
5.5	RNA を基盤とする合成生命システムの創成 齊藤 博英 (京都大学)	87
5.6	人工オルガネラ・人工液滴創出技術に基づく細胞機能 制御・人工細胞構築への挑戦 岸村 顕広 (九州大学・理化学研究所)	92
6	総合討論 ファシリテータ 玉野井 冬彦 (JST-CRDS)	97
付録		100
付録 1	開催趣旨・プログラム	100
付録 2	参加者一覧	103

1 | 趣旨説明

宮蘭 侑也、荒岡 礼（JST-CRDS）

研究開発戦略センター（CRDS）は、国内外の研究開発動向を俯瞰的に把握、俯瞰、分析し、その中から重要と思われるテーマに関して、戦略プロポーザルの形で取りまとめ、行政を中心に提言を行っている。その中でワークショップは、アカデミア、産業界さらには行政の方々が一堂に会して議論をしていただき、研究の最前線・現場がどうなっているかの把握や、CRDSが考える方向性が正しいのかを検証を行う重要な場である。

広範な科学技術分野をカバーするため、CRDSは通常は6つのユニットに分かれて活動しているが、今回のワークショップはナノテクノロジー・材料ユニットとライフサイエンス・臨床医学ユニット合同で企画・開催した。アカデミアの中でも、いろんな分野において様々な文脈の中で分野融合、分野連携が必要だと言われているが、CRDSでも分野を超えた取組を積極的に行っていく必要があるのではないかと考えており、今回のワークショップもその一環である。

ワークショップ開催に至った背景

新型コロナで話題になったmRNAワクチンや次世代シーケンサーに代表されるように、近年ライフサイエンス・医療分野でさまざまなイノベーションがいろいろ起きているが、その根底にはライフサイエンス・医学研究によって得られた知識と、ナノテク・材料技術の知見およびそれをベースとしたデバイス・材料の融合が背景にあると考えている。

そうした認識の下、ナノテクノロジー・材料ユニットでは、6年前に「バイオ・ライフとナノテク・材料の融合領域」と題したワークショップを行い、戦略プロポーザル「バイオ材料工学（バイオアダプティブ材料）」を提言した。一方、新型コロナの状況を受け、新興感染症対策に向けたナノテク・材料技術を俯瞰するワークショップを2020年に開催したが、mRNAワクチンが感染対策に貢献したことで融合領域の重要性を再認識し、ライフサイエンス・臨床医学ユニットと共催でのワークショップを検討するに至った。

ライフサイエンス・臨床医学ユニットは、俯瞰報告書2021において注目すべき動向を15個挙げたが、いずれもアカデミアの異分野融合・連携によって生まれたシーズがコアになっていることを改めて認識した。今回のワークショップを契機に、まずはナノテクノロジー・材料を起点として異分野融合の在り方を見ていきたいと考えている。

ワークショップ構成

ワークショップ企画にあたり、生命科学・医学とナノテク・材料の融合の在り方の概念図を描いてみた（図1-1）。生命科学由来の原理と物質科学・ナノテク由来の原理・材料を合わせることで、大きく3つの種類のシーズ（分子システムデザイン・創製、操作・制御技術、計測技術）が生まれ、それらを組み合わせることで医療（創薬・治療・診断など）、バイオエコノミー・生物物質生産、さらには生命科学（生物の理解）といったライフサイエンス分野のニーズに応えるという構図になっていると考えた。そこで、今回のワークショップでは、3種類の技術を軸に組んだ3つのセッションを組み、それぞれ生命科学・医学とナノテク・材料の融合領域で最新の研究開発を行う研究者を幅広く呼び出した。

本日の構成は図1-2の通りである。まずは基調講演として、両分野を代表する馬場先生と水島先生に、融合領域への期待や融合に向けた示唆などを大所高所よりお話しいただく。続いて、3つのセッションにて、自身の研究紹介や注目動向、期待される技術などを各招聘者に発表いただき、各セッションの最後に議論とし

て今後の方向性について意見をいただく。最後に総合討論として、ワークショップを通じて見えた融合領域における新たな潮流を中心に議論いただきたい。

今回のワークショップの中で得た情報、議論の内容については、2023年3月に発行予定のナノテクノロジー・材料ユニットおよびライフサイエンス・臨床医学ユニット俯瞰報告書 2023の参考にするとに加え、提言作成に向けたスコーピングに活用する予定である。

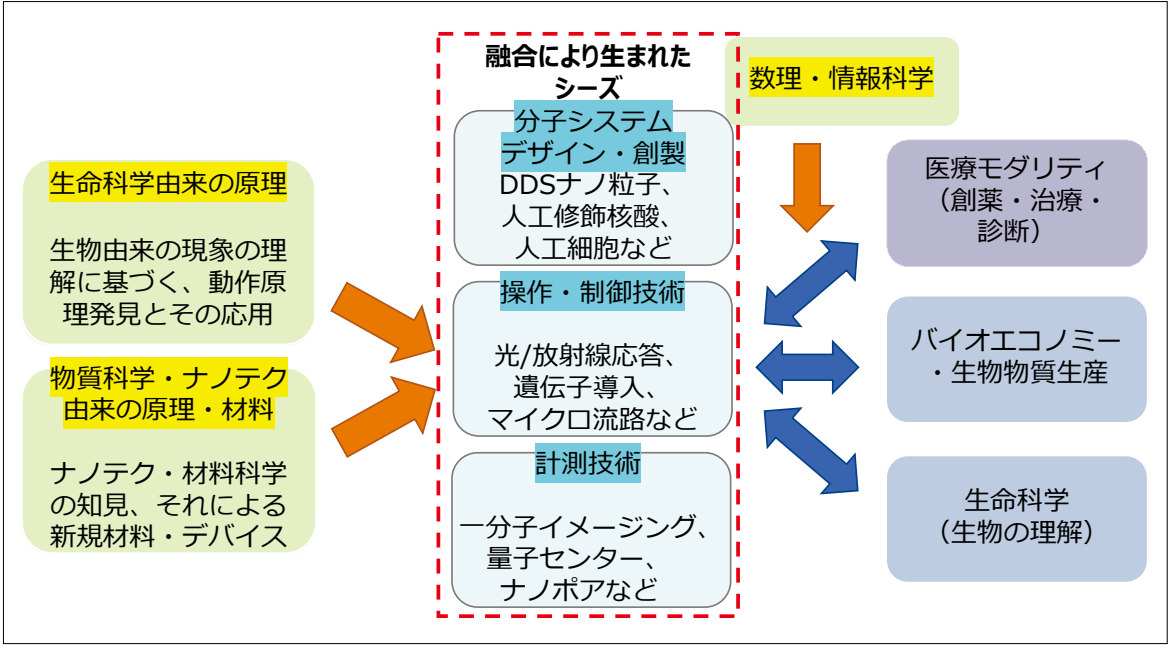


図 1-1 生命科学・医学とナノテク・材料の融合の在り方の概念図

■ 基調講演 ■ セッション 1 生体分子・生体環境の計測技術 ・ 話題提供 (6名) ・ 議論 ■ セッション 2 細胞・組織等の操作・制御技術 ・ 話題提供 (6名) ・ 議論 ■ セッション 3 人工分子システムのデザイン・創製 ・ 話題提供 (6名) ・ 議論 ■ 総合討論	■ 基調講演 ライフサイエンスとナノテク・材料技術の融合領域への期待、関連分野の最新動向などについてご講演いただく 「ナノバイオデバイス、AI、量子技術が拓く未来医療」馬場嘉信（名古屋大学） 「細胞内分解ダイナミクス」水島 昇（東京大学） ■ 話題提供 (発表8分、質疑応答5分) 以下3つの内容について発表いただく 1. 話題提供者ご自身の研究の紹介 2. 関連分野における最近の注目動向 3. 話題提供者が考える今後の方向性 ・ 今後、融合領域で生まれることが期待される新しい技術、領域 ・ まず取り組むべき研究開発テーマ ■ 総合討論 (45分程度)：ファシリテータ：玉野井冬彦（CRDS） 論点としては、以下の4つを想定 1. 新たな融合領域の創出・構築に向けた潮流と展望 2. (世界の潮流から見た) 日本の現状と課題、推進方策 3. 期待される社会へのインパクト 4. 10年後のライフ、ナノサイエンスはどのようなになっているか	■ 議論 (最大20分) 各セッションの話題提供を基に、今後の方向性について意見をいただく。観点としては、例えば ➢ 共通で見られる方向性 ➢ ニーズから見て重要と思われる方向性 ➢ 直近で戦略的に取り組むべき研究開発テーマ
--	--	---

図 1-2 ワークショップ構成

2 | 基調講演

2.1 ナノバイオデバイス、AI、量子技術が拓く未来医療

馬場 嘉信（名古屋大学）

ナノテクノロジーとライフサイエンス、医学の融合領域において、我々がこれまで進めてきた研究の成果等を紹介することで議論の一助としたい。

ナノテクノロジーは1940年代末のトランジスタの発明以降、75年にわたり半導体技術を小型化することで成り立ってきた。例えば現在の最先端のコンピュータに載っているCPUは指先くらいの大きさだが、最近のCPUはその中にトランジスタが50億個集積されているという。このナノテクノロジーをバイオテクノロジーに応用できたら面白いのではないかと考えて私自身は研究してきたが、両者の間には様々なギャップのあることに気づき、それを埋めるために、これまで分野融合や産学連携に取り組んできた。

ナノテクノロジーとライフの融合で分かりやすい例に、ゲノムのシーケンスがある。2000年当時はマイクロの技術によってヒトゲノムが解析されたが、その後、ナノテクノロジーをベースにした、いわゆる次世代シーケンスで超高速化が達成された（図2-1-1）。通常、我々は将来を展望するときに、線形的に予測をしがちだが、過去の例を見ると、技術は指数関数的に進歩することが多くの事象で証明されている。ドラスチックにそれが現れているのがヒューマンゲノム解析のコストである（図2-1-2）。マイクロ技術では100億円かかっていたものを、将来1000ドルにすることを目指した1000ドルゲノムプロジェクトがあり、2007年にナノテクノロジーによる次世代シーケンスが登場して、劇的に変わった。

このように、ナノテクノロジーとライフサイエンスの融合というのは、様々な分野で極めて重要な進展をもたらしている。例えば、現在我々が直面しているCOVID-19では、最初の患者が見つかったからウイルスのゲノムのシーケンスが決まるまで僅か1か月だったが、2002年に起こったSARS-CoVのアウトブレイクのときには半年かかった。ナノテクノロジーがパンデミックの対応でも重要な役割を果たしていることが分かる。

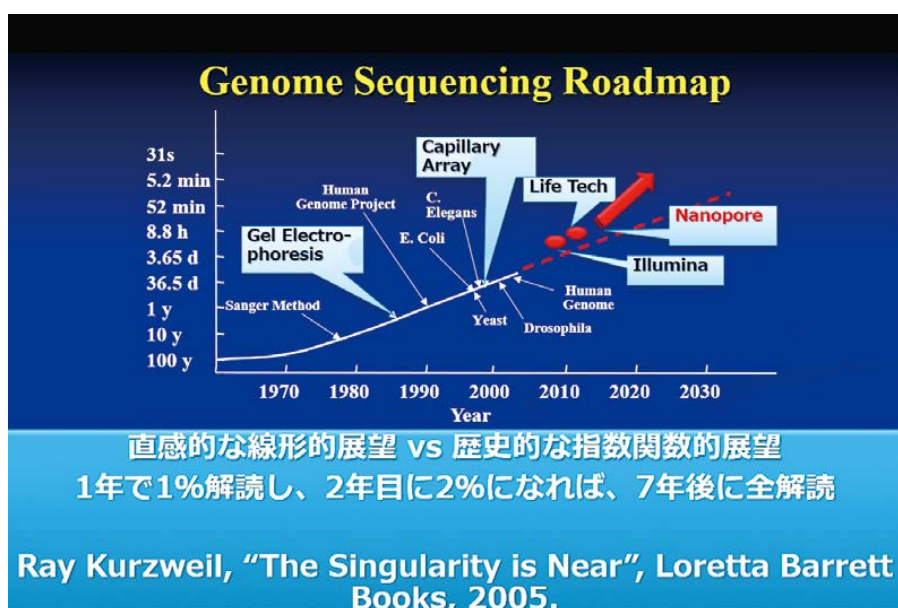


図2-1-1 Genome Sequencing Roadmap

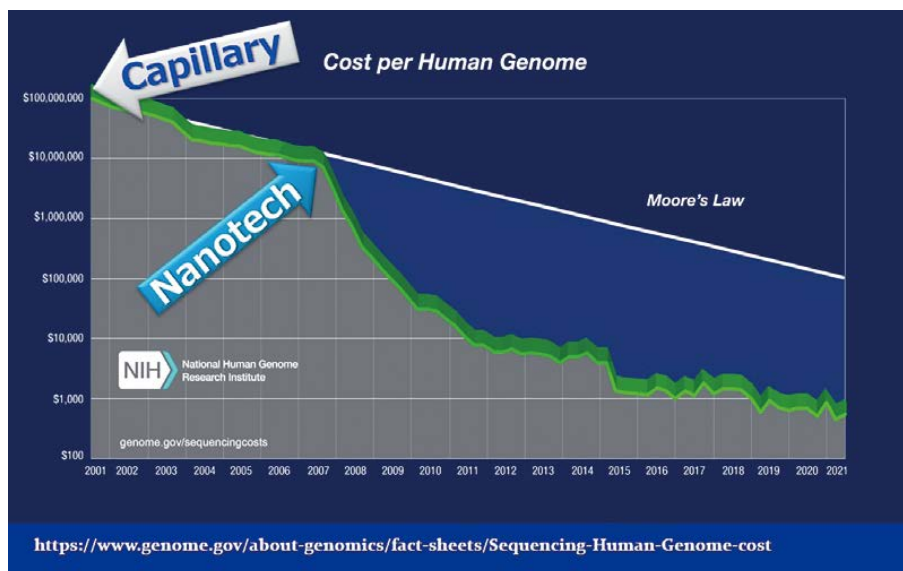


図2-1-2 Cost per Human Genome

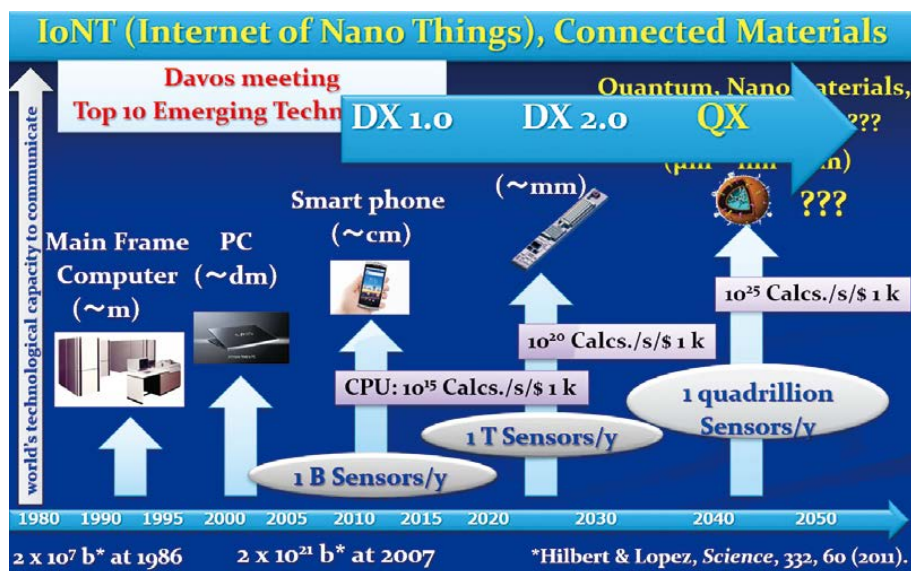


図2-1-3 IoNT (Internet of Nano Things), Connected Materials

ナノテクノロジーというのは2000年頃に始まり、今はIoTの時代に入ってきて、コンピュータやセンサの能力が非常に高まっている。将来的には、これが量子技術やナノマテリアルと結びついて、ナノの物質がインターネットでつながるような、IoNTと呼ばれる時代がくると言われている（図2-1-3）。また、現在はDX1.0だが、近い将来DX2.0になり、その先はQX（Quantum Transformation）という時代になると言われており、このような技術がライフサイエンス、医学の分野でも活躍すると考えられる。

この20年程のナノテクノロジーの進歩によって、ターゲットにできる対象は量子から人まで大きく広がり、細胞、生体分子、様々なものを対象に研究ができるようになってきた。ナノテクノロジーが始まった2000年当初は、例えばナノの構造をガラスでつくるのに、博士課程の学生が必死に何日もかけていたが、現在は学部の4年生であっても色々な構造、色々な材料、色々な配列、さらには次元を変えて、色々な構造をつくることができるようになっている。また、2010年以前には、何か面白い構造を作ることができると、ライフサイエンスや医学で使い道がないかどうか我々の方から医学部の先生に提案する形で共同研究をおこなっていたが、

最近では医学系の先生の側からこんなことをやりたいと提案を受けて、それに適したナノテクノロジーを使い、ライフサイエンスや医学の出口に向けて適切な構造を自在につくることができる時代になってきている。例えば血中のがん細胞を一細胞レベルで取り出す、あるいはエクソソームを取り出す、さらに、その中からゲノムを取り出して超高速に解析をおこなうといったことが可能になっている（図2-1-4）。

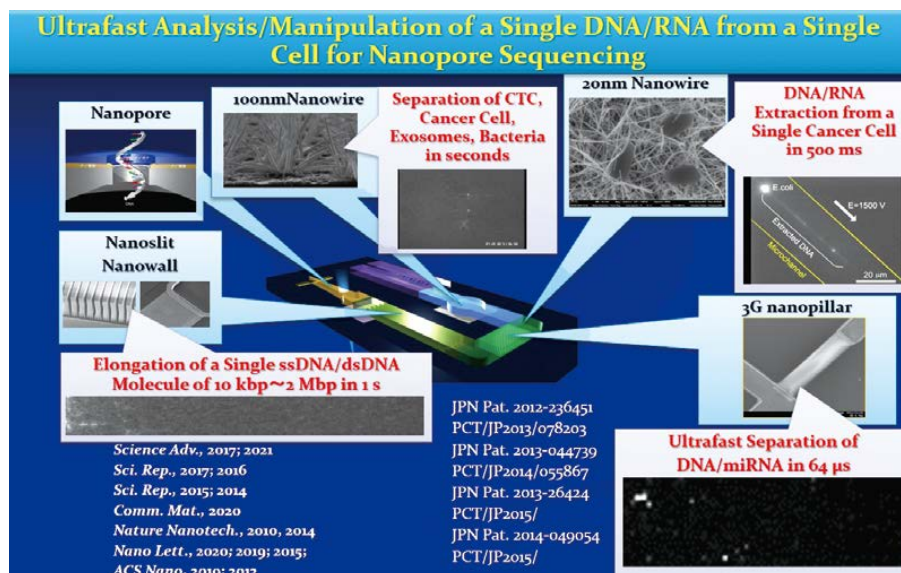


図2-1-4 Ultrafast Analysis/Manipulation of a Single DNA/RNA from a Single Cell for Nanopore Sequencing

その一例として、ナノワイヤなどの新しいナノ構造によって、体液中にあるエクソソームを取り出す小型デバイスの開発に成功した。これは当時、国立がん研究センター研究所に所属していた落谷先生のリクエストに応じてつくったもので、1mlの体液中に含まれる10億個から100億個のエクソソームを全て取ることができる。また、その内部のマイクロRNAを次世代シーケンサで検出・同定し、2000種類以上のマイクロRNAを一度に計測することが可能である。非常に多くの健常者、あるいは患者の協力によりビッグデータを得て、データを解析し、それをAIと融合させることで疾患の診断につなげることが可能になった。

このデバイスの開発の歴史を振り返ると、長期間にわたる、大型のプロジェクトによる支援を受けられたことが大きかった。ナノテクノロジー分野の開拓に先駆的に取り組んできた大阪大学・川合知二先生とともに、2003年からNEDO、内閣府FIRST、AMEDなどのプロジェクトを進めてきたが、その過程でマイクロ流体の名古屋大学・安井先生、ナノワイヤの東京大学・柳田先生、AIの大阪大学・鷲尾先生、エクソソームの落谷先生といった異分野の研究者が集まって、2012年頃からナノワイヤデバイスの研究を始めた。数年で成果が出てきてスタートアップを起業し、そのスタートアップが2022年から製品を出すという状況になっている。こうした比較的長い研究費の支援と、後でも述べるがナノテクノロジープラットフォームのような装置の共用が、技術開発において非常に重要であったと考えている。なお、このナノワイヤを用いたデバイスの技術は、柳田先生らによる最近の研究によって呼気に含まれる成分の解析にも適用できることが分かり、体液のみならず呼気も含む形の診断技術の開発につながると期待される（図2-1-5）。

このような研究はアカデミア間の共同研究からスタートすることが多いが、企業との連携からも新しい技術が生まれている。JSTのCOIプログラム「人がつながる “移動”イノベーション拠点」の中では、優れたナノテクノロジーをもつAGC（株）と、名古屋大学の医学部、工学部が連携して、10年くらいかけてエクソソームやがん細胞をターゲットにした分離技術を開発してきた。COIプロジェクトの予算と、それに伴うAGC（株）

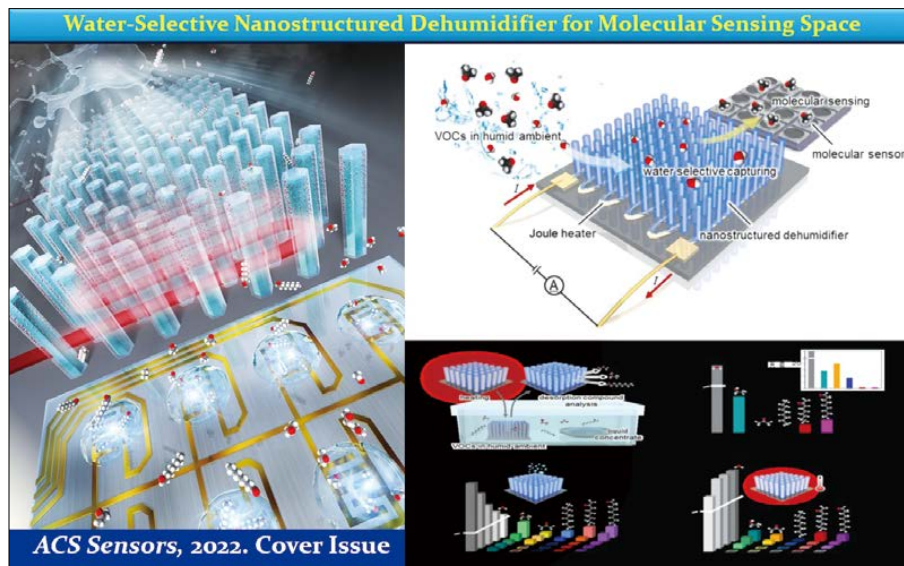


図2-1-5 Water-Selective Nanostructured Dehumidifier for Molecular Sensing Space

からのマッチングファンドで実施している。アカデミアと産業界との産学連携がさらに発展して、産産学学連携という形で大きなうねりとなって新しい技術革新につながっていくと考えている。

川合先生とのプロジェクトではもう一つ、内閣府FIRSTおよびImPACTの中で、大阪大学の谷口先生、筒井先生を中心としたナノポアの技術が、シーケンスやCOVID-19の対策に有効であることを実証してきた。例えばウイルスを唾液から取り出して、夾雑物を取り除き、下流にあるナノポアでウイルスを検出して、さらにAIでデータ処理することで、非常に高感度かつ迅速にウイルスが同定できる。この技術がCOVID-19にも適用できることを実証している。

さらに、量子ドットのような新しいナノ材料についても大変面白い材料であると考えて、2000年頃に研究を開始した。その後、工学と医学の2つの博士号を持つ名古屋大学・湯川先生が、幹細胞標識用量子ドットとして再生医療、iPS細胞の医療応用に使う研究に取組み、企業の方々に興味を持っていただいて、既に市販されている。また、iPS細胞由来の角膜内皮細胞移植治療をおこなっている京都府立医科大学のグループと

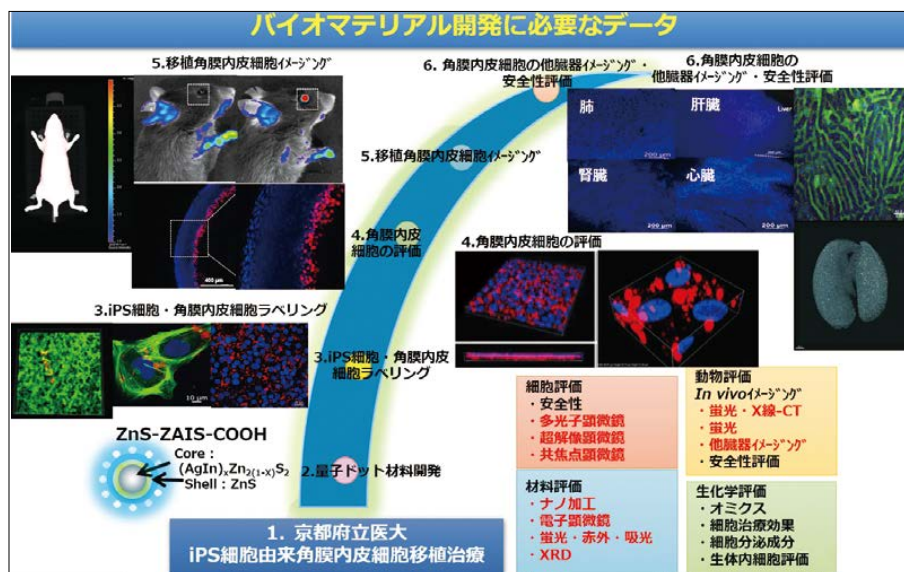


図2-1-6 バイオマテリアル開発に必要なデータ

共同で様々なイメージングに成功し、京都府立医大ではこのデータを安全性評価の一環に用いて、PMDAの認可を申請する予定で進んでいる（図2-1-6）。

こういった研究を進める上で大事なことは何であるかと考えると、アカデミアで異分野の人たちが新しい発想の研究をすることはもちろん重要だが、それを支えるためのナノテクノロジープラットフォームが大きな役割を果たしている（図2-1-7）。なお、ナノテクノロジープラットフォームは2021年度で終了するが、その後継事業として、マテリアル先端リサーチインフラが開始している。例えば材料開発やナノテクノロジーの専門家は、細胞評価やin vivoイメージングの装置を所有していない場合が多いが、大学、アカデミア、企業などの誰もがプラットフォームの共用インフラを活用して、新しいライフサイエンス、医学へ応用展開できるようにする制度が必要である。

また、トップダウンとボトムアップの両方の研究開発が、分野融合を進める上では重要である。一例として、

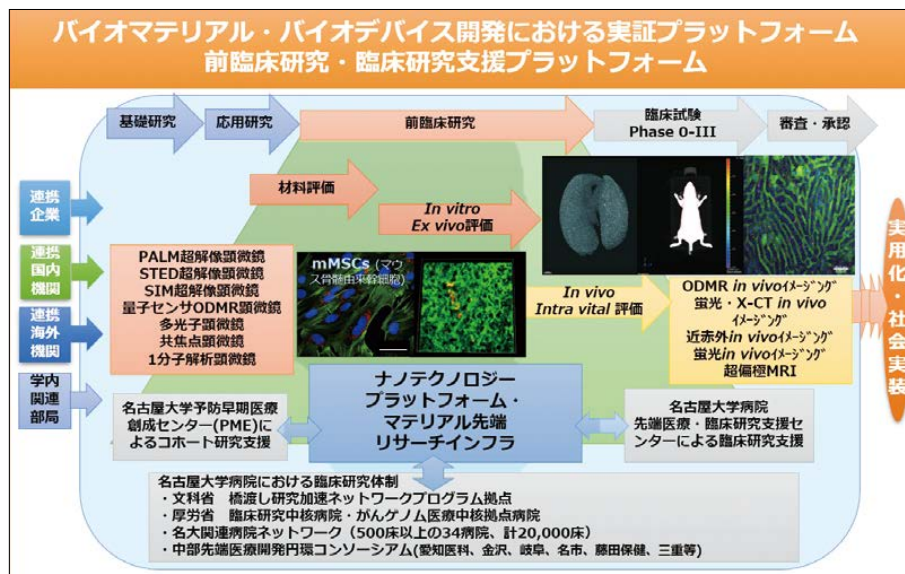


図2-1-7 バイオマテリアル・バイオデバイス開発における実証プラットフォーム 前臨床研究・臨床研究支援プラットフォーム



図2-1-8 CREST 細胞外微粒子領域

図2-1-8に私が研究総括を務めているCREST「細胞外微粒子」領域について示したが、この領域では戦略目標の下でトップダウン的に、これまで出会う機会のなかったライフサイエンスとナノテクノロジー、あるいは環境分野の人たちが同じ領域の中で研究することで、新しい展開につながっている。一方、ボトムアップ的なものには新学術領域研究がある。例えば新学術領域「分子夾雑の生命化学」でおこなわれているような、アカデミア同士の融合研究も重要といえる。

さらに、トップダウンの事例であるが、現QST理事長の平野俊夫先生が量子技術と生命科学を融合した量子生命科学という新しい領域を提唱し（図2-1-9）、量子生命科学研究所を新設、2022年度中に研究所の建物が完成するなど、国内外に強力な連携体制ができつつある。わずか2、3年間でそこまで進み、現在、その最も重要なプロジェクトとして位置付けられるQ-LEAPというプロジェクトの中で、量子と生命科学を結びつける研究が展開されている。また、量子生命科学を展開するための新しい技術開発がQSTを中心におこなわれており、外部の方も研究開発に活用できるようにするための体制づくりが進められている。矢野経済研究所による市場規模予測では、量子生命科学は将来3兆円の規模になると予測され、また、量子生命科学のロードマップというものが内閣府から公表されている。将来を展望することは本ワークショップの目的の一つであり、このようなものを参照して、将来展望ができると良いと考える。

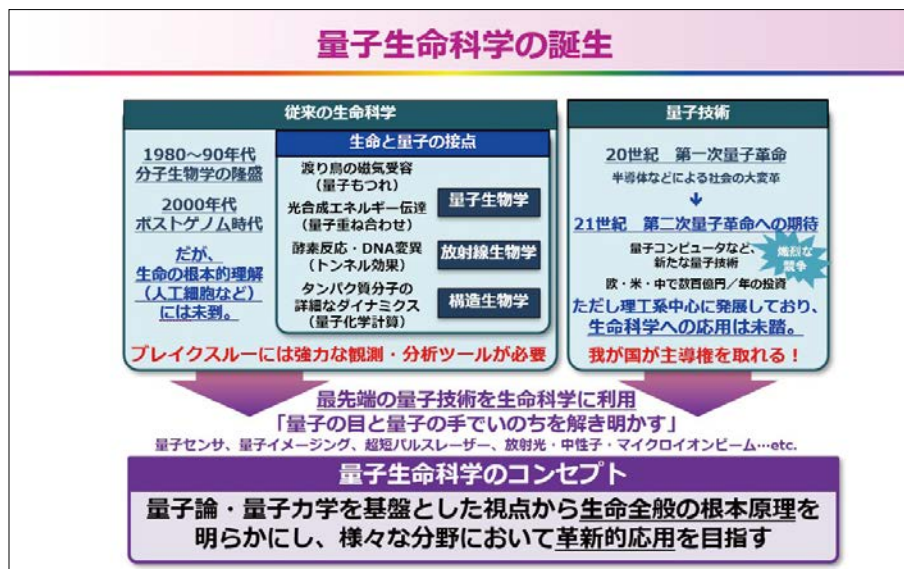


図2-1-9 量子生命科学の誕生

2.2 細胞内分解ダイナミクス

水島 昇（東京大学）

ライフサイエンスとナノテク・材料の融合領域のワークショップの中で、場違いを承知で私たちの仕事の一部を紹介したい。

私たちは、オートファジーという細胞内の分解の研究を中心に行っている。オートファジーでは、まず、扁平な小胞が伸びて細胞の一部を取り囲んだ、直径約1マイクロメートルほどのオートファゴソームができる。膜がほとんど閉じるころでは、オートファゴソームが2枚の膜からできていて、このエッジのところでは外側の膜が急カーブして、内側の膜につながっていく。細い首根っこがぶつんと切れることで蓋が閉じるが、ここは膜の融合と勘違いされるが、膜の分裂で閉じる。次に、分解酵素を含んだ複数のリソゾームが蓋の閉じたオートファゴソームの外側の膜と融合し、リソゾーム内の分解酵素が2つの膜の間の狭い隙間に入っていく、不思議なことに内側の膜だけが分解され、取り込んだ内容物が分解される。分解産物はほとんどアミノ酸であり、それは細胞質に戻って再利用されるというのがオートファジーの仕組みである。

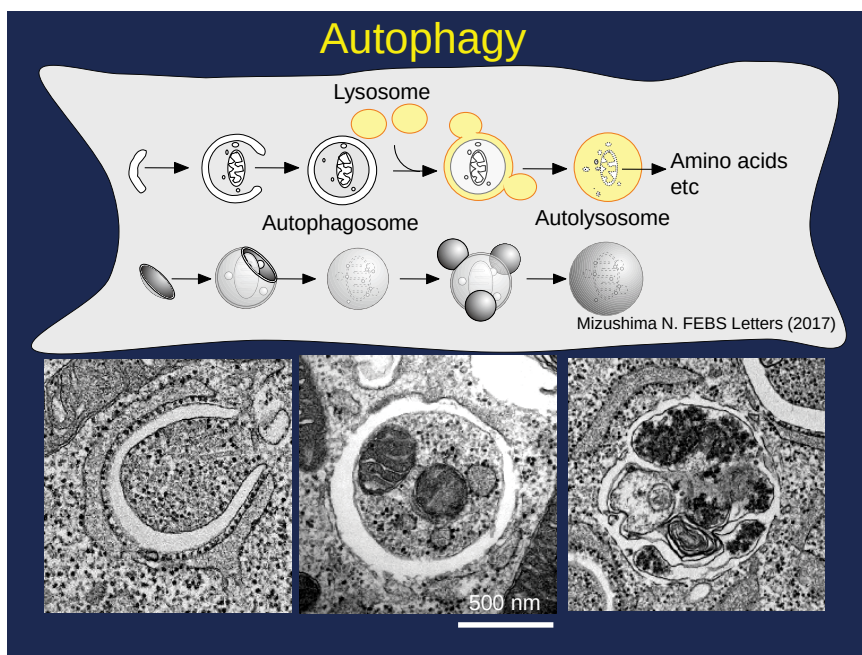


図2-2-1 オートファジーの仕組み

私たちはオートファジーのメカニズムと生理的意義の研究を行っている。オートファジーを可視化するためには、オートファゴソーム膜にあるLC3というたんぱく質をマーカーに使い、GFPをつないだLP3を発現する動物などを作ると、オートファゴソームを見ることができる。例えば、オートファジーは、飢餓の時に活発化し、生まれた直後も飢餓になるのでオートファジーが起こるし、受精後にも起こるとか、幾つかの病気のときにもオートファゴソームが蓄積する。

オートファジーの役割については、様々なオートファジー関係のノックアウトマウスを作って調べた。その結果、オートファジーには2つの大事な働きがあることが分かっている。1つ目は、自分自身を過剰に分解して分解産物を調達するためのオートファジーで、これは飢餓に適応したり、胚発生の時に着床するまでの栄養を自給自足するような役割がある。2つ目は、細胞の中の浄化作用である。オートファジーは、悪いたんぱく

質や不要化したオルガネラ、あるいは細胞に入ってきたバクテリアなどを分解することもできる。

マウスでこの機能が損なわれると、神経変性を起こしたり、腫瘍化を引き起こしたりすることが分かっている。最近では、幾つかの人の病気でもオートファジー関連遺伝子の異常が見つかっている。例えば、SENDAとかBPANと呼ばれる非常にまれな神経変性疾患である。20歳過ぎぐらいまでは自立歩行ができるが、知的障害はかなり重く、ほとんどしゃべることはできない。30歳ぐらいを過ぎると、ほぼ例外なく重いパーキンソン病の症状を経由して寝たきりになってしまう病気である。この疾患の原因遺伝子としてオートファジー遺伝子の一つが見つかっており、実際、血球細胞ではオートファジー活性が部分的に低下しているので、オートファジーを起こせないと、このような症状になるのではないかと考えている。

私たちは、オートファジーなどを中心にERATOを実施中であり、この中では4つのグループの融合的研究を目指している。オルガネラ動態解析、生理機能解析に加えて、数理モデルのグループ、分子・進化のグループを含めている。今日は、その中でいくつかを紹介したい。

まず、オートファゴソームとリソゾームの融合であるが、これはナノテクや材料に少しでも近いものとして用意してきた。リソゾームは、完成したオートファゴソームと融合するが、まだ蓋の開いている未完成のオートファゴソームと融合することはない。間違って融合して内側の膜が分解されると、酵素が細胞質に漏れてしまうからである。ただ、両者の膜は同じ膜であるが、リソゾームは相手を見分けることができるのである。その理由の一つは、蓋の開いているリソゾームには行かないが、蓋の閉じているオートファゴソームにだけ局在化する、リソゾームとの融合に必要なスネア分子であるSyntaxin17という不思議な分子にあることが分かった。

スネア分子を持つ完成したオートファゴソームはリソゾームと融合できるが、伸長中の膜にはスネア分子が来ていない。膜が完全に丸く閉じるとSyntaxin17というスネア分子がやってくる。この膜貫通ドメインを持つ不思議なたんぱく質は、相手の膜が閉じると刺さって、それがリソゾームのスネアと結合するため、リソゾームは閉じたオートファゴソームとだけ融合できるということになる。

次に、オートファゴソームの形についてである。オートファゴソームは非常にきれいな球形をしており、球が安定な構造だというのはよいのだが、問題は、その途中過程のカップ型をした変な形で、これをどうやって作っているのかということが不思議だった。中から押したり外から引っ張ったり、様々なことを言う研究者がいるが、簡単な物理で説明できることが分かった。扁平な形のまだ曲がっていない状態を考えると、扁平な

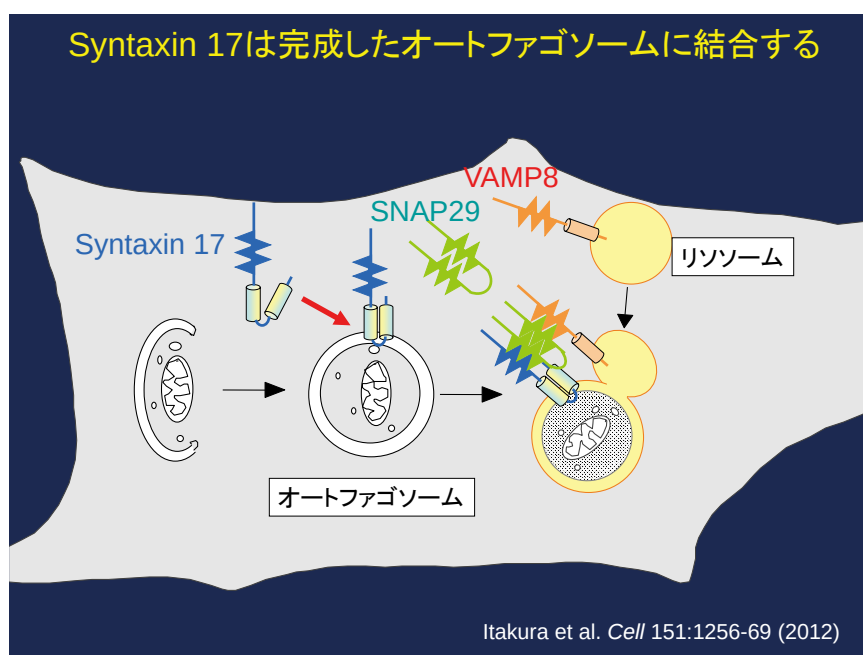


図2-2-2 リソゾームが完成したオートファゴソームと融合する仕組み

小胞はエッジのところで膜が急カーブしているのですが、膜弾性エネルギーはほとんど、へりのところに蓄積する。図2-2-3は、扁平な小胞の体積を変えずに表面積を増やした時のエネルギーを示す。表面積が大きくなっていくと、へりが大きくなり、エネルギーがどんどん大きくなっていく。あるところを超えると、閉じてボディーを曲げてでもへりを短くしたほうが全体のエネルギーが高くないというところになる。この扁平な小胞が自動的にオートファゴソームのような形になると、中から押したり外から引っ張ったりしなくてもこの形になるということが分かる。

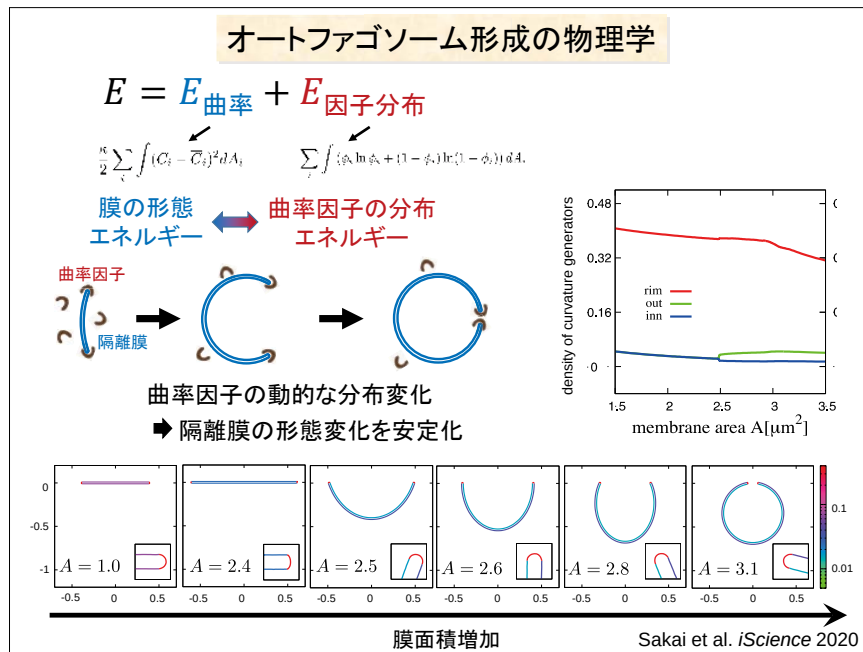


図2-2-3 オートファゴソーム形成の物理学

ただ、これだけだと急に閉じてしまい、細胞の中のようなゆっくり緩やかな動きが再現できない。私たちは、何か安定化する因子があって、それがボディーのほうに回り込むと考え、この中間体も安定化させることができるということになり、昨年発表した。さらに、この途中の形は、球や楕円に近似されることが多いのだが、こんな形でいいのか、その形は何かということを最近調べている。

最後に、オートファジーとは違う大規模な分解系について紹介したい。これまで、ミトコンドリアや小胞体などの細胞小器官は、オートファジーによって分解されていると理解されてきたが、違うところがあることが分かった。

水晶体の細胞は、もともとはみっちり細胞小器官を持っているが、分化の過程で内側から外側にかけて細胞小器官が全て分解され、透明な水晶体になる。この過程をゼブラフィッシュを使って調べた。水晶体の核を染めると、発生の過程で水晶体の細胞の核が内側から外側にかけてどんどん分解されていくのが見える。同様に、小胞体やミトコンドリアの内部に蛍光たんぱく質を入れて、ゼブラフィッシュの水晶体を見ると、内側から外側にかけてミトコンドリアや小胞体がどんどん分解されていくのが分かる。

これはオートファジー遺伝子をノックアウトしても起こるので、オートファジーではない分解である。中身の蛍光たんぱく質が外に漏れ出していることから、その場で破れているということが分かった。

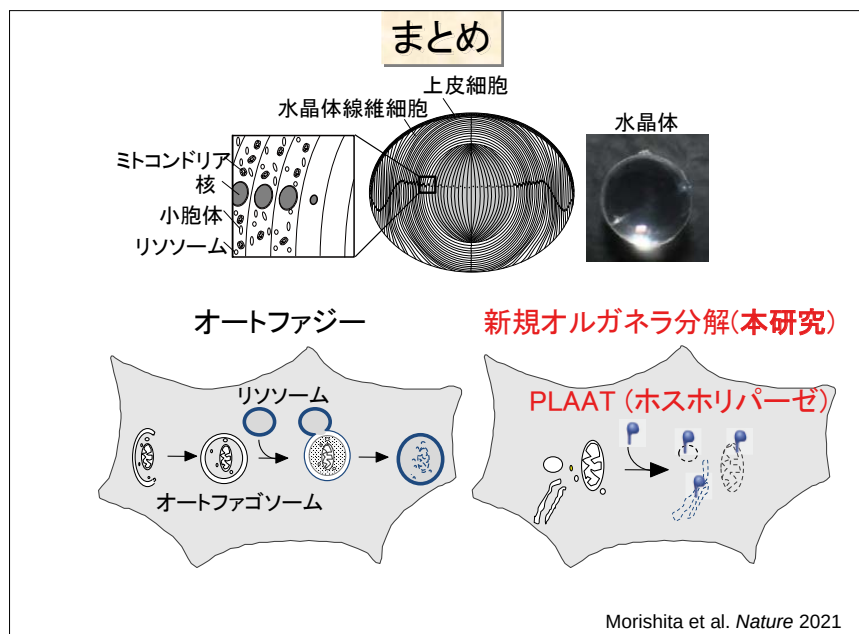


図 2-2-4 水晶体形成におけるオルガネラ分解経路

結論だけ示すと、これはサイトゾルに浮いているホスホリパーゼである PLAAT が直接オルガネラ膜を溶かしているという、全く新しい経路であることが分かった。従来のオートファジーであれば、一個一個、袋で取り囲んで分解しているが、これだと大変なので、このような飛び道具を使って一気に全部分解しているという訳である。これまでたんぱく質を分解することはよく見られていたが、細胞の中の膜がどうやって消えているかということは、まだあまり分かっていない。これから細胞内の膜構造がどうやって消えていくのかということを見ていきたいと考えている。

【質疑応答】

- Q：オートファゴソームが何で丸くなるのかというのが、熱エネルギー的に安定だからというのはすごく面白いと思った。そのディスク状のものが大きくなるのがまず前提ということだが、その過程においては脂質がどんどん追加されていくということなのか。
- A：おっしゃるとおり、小胞体と接していて小胞体から脂質分子だけが送られてくると考えられている。そのため、体積は増えずに表面積だけ増えていくと。
- Q：究極の目標は、再構成できるかどうかということかなと思うが、その辺はいかがか。
- A：それを考えている人は多いと思うが、なかなか難しい。表面積を増やす仕組みを与えて、エッジの安定化をコントロールするものを入れたら、結構できる可能性はあるかなと思う。
- Q：リソソームが融合した後に、内側の膜だけがなくなるというのは、どんな選択性で行われているのかということにすごく興味がある。何かそこは分かっているか。膜の曲率が効いているのか。
- A：多分複合的な理由で幾つか理由がありそうだが、これは非常に面白くて、ちょっと絵がミスリードしているところもあるが、いずれ分かってくると考える。曲率はほぼフラットなので、オートファゴソームの場合はあまり影響ないと思う。
- Q：細胞の種類や機能によって、オートファジーが必要な場合と必要ない場合があると思われるが、その辺りの研究は行われているのか。
- A：細胞の種類によって活性はかなり違うと思われるが、現在、細胞レベルでオートファジーの活性を測るよい方法がないので、一細胞レベルで見える方法を開発している。

- Q：GFP-LC3 マウスを作られて、マウス個体でのオートファジーを調べているとのことだが、オートファジーが活発な場所やタイミング、条件はどうなっているのか。
- A：飢餓になると活発になるのは大体同じであるが、その場合、神経は活発化しない。一般には肝臓などで活性が高い。
- Q：神経疾患である SENDA 病が、なぜオートファジー関連遺伝子の異常により発症するのか。
- A：神経は、飢餓の時にあえてたくさん自分を壊すことはしないが、いつも一定レベルでオートファジーが起こっていて、それが機能維持にとってとても大事であると考えられている。

3 | 生体分子・生体環境の計測技術

3.1 生体ナノ量子センサーが実現する超早期診断プラットフォーム

五十嵐 龍治（量子科学技術研究開発機構）

生体ナノ量子センサーを使った超早期の診断プラットフォームの開発について述べる。具体的には血液バイオマーカーや尿バイオマーカーの検出、あるいはCOVID-19で必要になったウイルス検出などであるが、これらを超早期で行おうとする場合、検出されるウイルスやバイオマーカーの数が少ないために、診断結果が不正確になるという問題があった（図3-1-1）。検出対象が高濃度の場合は信号がきちんと検出されても、低濃度になるとノイズに埋もれてしまう。また、夾雑物などによる無関係の発光（背景光）と区別できなくなるという問題がある。夾雑物しか存在しないはずのサンプルであっても、あたかもウイルスやバイオマーカーが検出されているかのように見えてしまうこともある。



図3-1-1 疾患早期を検出するためには？：疾患早期や微小病変の検査は不正確になる

それでは、背景光とノイズではどちらが問題として深刻かという点、背景光の方が深刻である。ノイズに関しては、シグナル／ノイズ比（SNR）が小さい場合でも、積算すれば解消できる。一方、背景光が高い場合、すなわちシグナル／バックグラウンド比（SBR）が小さい場合には、積算しても夾雑物からの信号も明瞭になるだけで、夾雑物と実際に見たいバイオマーカーやウイルスとの区別はできない（図3-1-2）。つまり、バイオマーカーやウイルスが発する信号光と背景光は、両方とも発光現象という意味では同じであるため、積算では区別できない。蛍光バイオセンシングにおいては背景光の問題がノイズの問題よりも圧倒的に大きな障害となっていた。

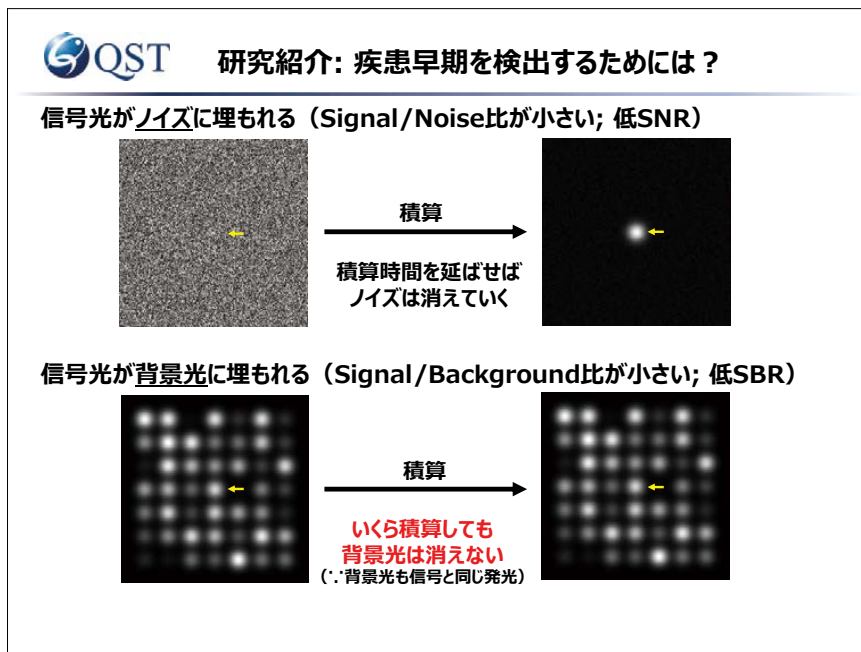


図3-1-2 疾患早期を検出するためには？：ノイズと背景光の比較

そのため、蛍光バイオセンシング技術、例えば蛍光免疫イムノアッセイなどにおいては、SBR 値をいかにして高めるかというのが大きな課題であった。そこで我々が使用したのがNVセンター、窒素-空孔中心という格子欠陥を持つ蛍光ナノダイヤモンドである。これがナノ量子センサーとして働き、さまざまなものを超高感度検出できるため、このダイヤモンドをナノサイズにまで小さくして、免疫アッセイに活用しようと考えた (図3-1-3)。

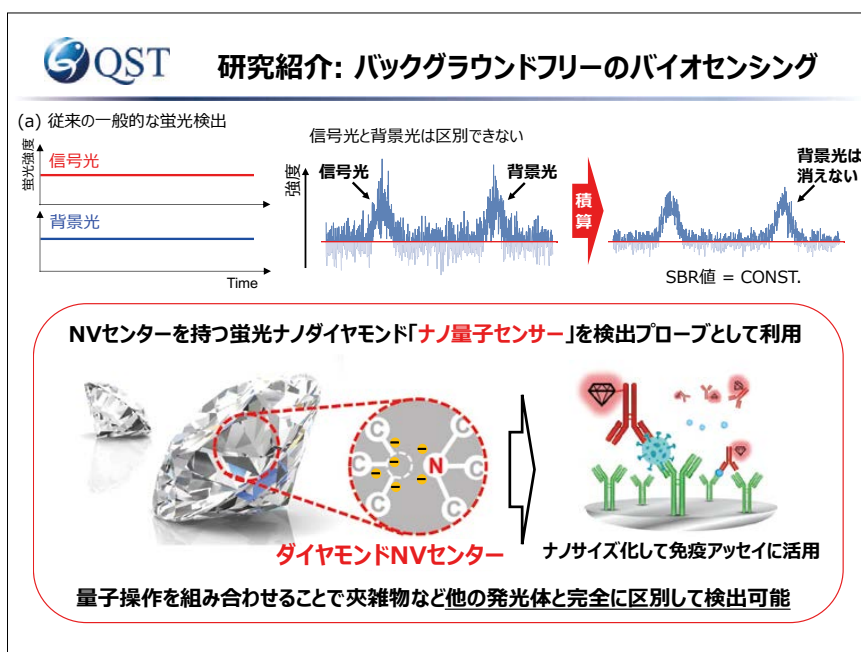


図3-1-3 ナノ量子センサーを活用したバックグラウンドフリーのバイオセンシング

この蛍光ナノダイヤモンドの蛍光検出と量子操作を組み合わせることで、夾雑物など他の発光体とは完全に区別して検出可能な技術を我々は2012年に開発し、さらに高感度化することに2021年に成功した。

量子操作によって信号を操作できるのがこの量子センサーの一つの大きな特徴であり、蛍光ナノダイヤモンドで標識したバイオマーカーなどの信号だけに、背景光と全く独立してモジュレーションをかけることができる。背景光は量子操作に全く反応しないので、蛍光強度が一定になる（図3-1-4左側中央グラフ）。このモジュレーションの変調周波数で復調し、点滅した成分だけを取り出すことで、蛍光ナノダイヤモンドの信号だけを抽出できる（図3-1-4右側中央グラフ）。積算すると蛍光ナノダイヤモンドの信号だけをきれいに抽出することができ、背景光はノイズとして処理される。この手法では、SBR値は積算回数の平方根に比例して大きくなるが、最近開発した技術では、積算回数に比例して向上することを確認している。図3-1-4下段中央図のように、蛍光ナノダイヤモンドと背景光になるような夾雑物が混在している場合でも、蛍光ナノダイヤモンドの信号だけをきれいに取り出すことができる。図3-1-4の下段右図に示す通り、夾雑物による信号が大量にある状況でも、一個の蛍光ナノダイヤモンドからの信号を取り出すことが可能な、極めてパワフルな検出手法である。

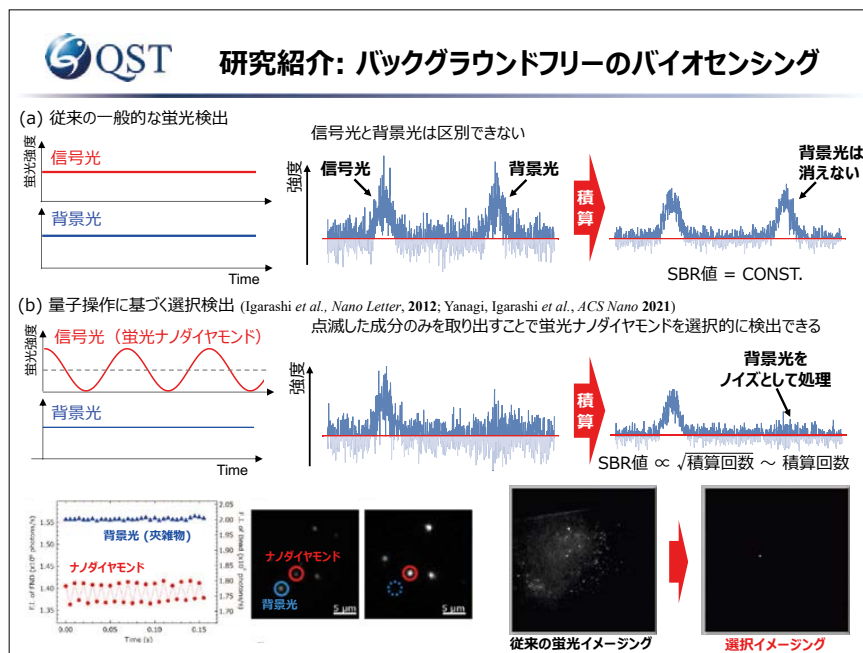


図3-1-4 ナノ量子センサーを活用したバックグラウンドフリーのバイオセンシング

この技術は、最近ナノダイヤモンド標識分子の超高感度検出法として注目を浴びている。従来技術では、数十フェムトモラー（フェムト： 10^{-15} ）程度の濃度の分子しか検出できなかったものが、我々が2012年に開発した方法を使うと、その10万倍、数百zeptomolar（zepto： 10^{-21} ）オーダーまで検出感度を上げられた。ウイルス検出、特に新型コロナで有名になったRNAウイルスの検出において、たった一個のウイルスに由来する増幅産物を簡単に検出できることが既に明らかになっている。

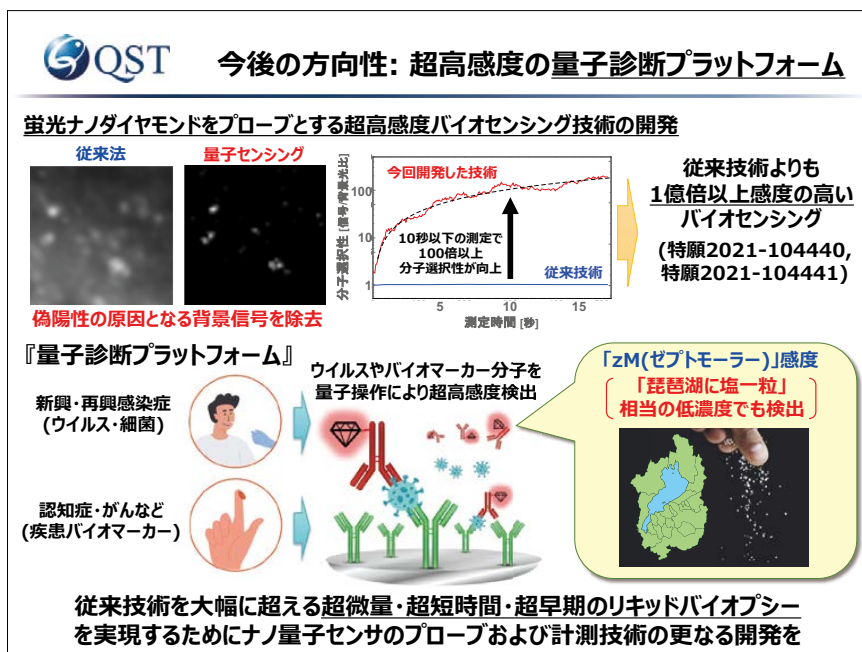


図3-1-5 今後の方向性：超高感度の量子診断プラットフォーム

今後の方向性として、我々はこの技術をバイオマーカー検出の量子診断プラットフォームに役立てていこうと考えている（図3-1-5）。実際にこの技術をアルツハイマー病のマーカー分子の検出に適用し、ナノダイヤモンドの表面に抗体修飾を施して免疫アッセイを試みたところ、フェムトモラーオーダーの分子を簡単に高感度検出できることが確認できた。簡単に検出できるだけでなく、従来の蛍光イメージング技術では存在した背景光が、我々の手法を使うと完全に除去できる（図3-1-5左上図）。従来法では検出対象と夾雑物の信号の区別が全くできなかったのが、我々の方法を使うと、きちんと夾雑物による信号を排除して、検出対象だけを検出することが可能である。まだ予備試験段階のデータではあるが、フェムトモラーを超える、アトモラー（アト： 10^{-18} ）オーダーでの検出感度が得られることを確認した。したがって、従来の免疫アッセイをはるかに超える超高感度化が可能である。このような方法を使うことで、例えば新興・再興感染症におけるウイルスや細菌の検出、あるいは認知症やがんなどの疾患バイオマーカーの微量検体からの検出を可能とする量子診断プラットフォームの実現を目指す。

高感度化はzeptomolarのオーダーまで可能になるが、zeptomolarというのは、琵琶湖に塩一粒程度の塩化ナトリウムの濃度に相当する。この技術によって、従来技術を大幅に超える超微量・超短時間・超早期のリキッドバイオプシーを実現するために、ナノ量子センサーのプローブ及び計測技術のさらなる開発が必要であると考えます。

【質疑応答】

Q：この検出技術は、細胞もしくは生体内で使用することも可能か。

A：可能である。元々、細胞や生体内での使用を想定しながらこの技術を開発してきた。細胞イメージングやin vivo、あるいはex vivoでのイメージングや、これを二光子検出に活用することで生体深部を観察することを目指していた。しかし、COVID-19感染症まん延という異常な事態となり、超高感度検出の方が注目されているため、COVID-19やバイオマーカー検出の研究開発を並行して進めている。

Q：生体や細胞にネガティブな影響はないか。

A：ダイヤモンドは地上で最も化学的に不活性な物質であり、毒性を持ったものを放出する、などのネガティブな影響はない。疎水性を持つことが問題になるが、ナノダイヤモンド表面にナノ化学修飾を施す

ことで、完全に排除できている。

Q：信号のモジュレーションはどうやってかけるのか。

A：2012年の方法ではマイクロ波を使ったスピン操作を行い、そのスピン操作に基づいてNVセンターの電子遷移に変化が起こることを利用して、モジュレーションをかけていた。ただし、マイクロ波の使用が装置開発を行う上での大きな障害になったため、レーザーパルスだけで行える方法を2021年に開発した。すなわち、レーザーパルスで量子操作を行ってモジュレーションをかけている。

Q：二光子顕微鏡はパルスレーザーを使うが、この手法では、そのパルスにさらに変調をかけるため、レーザー光源は特殊なものになりそうに思えるが、どうか。

A：実はそんなに特殊ではない。レーザー光源はマイクロ秒程度のパルスを発生するが、AOMのような変調器を活用するだけで実現できる。

Q：1分子当たり数マイクロ秒程度が計測時間として必要になる、という理解でよいのか。

A：1検体あたり最低でも数マイクロ秒は必要になる。（注：ただしカメラにより視野全体に存在する分子を一括で検出する場合、視野内に多数の分子が存在する場合それらは同時検出可能である。）

Q：このプローブのサイズを教えてください。

A：いろいろなサイズのものが作れる。イムノアッセイで使用しているものは、親和性を高めるために100nmから200nm程度のサイズのものを使っているが、最小で5nmのものまで開発している。

3.2 光単離化学（PIC）による高解像度かつ高深度の空間オミクス解析

沖 真弥（京都大学）

私の研究対象は「空間トランスクリプトーム」と呼ばれる技術で、Nature Methods誌の2020年のMethod of the Yearにも選ばれた技術である。これは、従来のトランスクリプトーム情報に空間情報をひもづける手法であり、最も代表的なものが、10X Genomics社より商用化されているVisiumである。Visiumでは、準備した生体組織切片において、どの領域にどんな遺伝子が発現しているかを、空間網羅的かつ遺伝子を網羅的に検出することができる。

図3-2-1は計測の原理を表わしたものである。位置情報を持ったバーコードオリゴDNAを表面に生やした基板を用意し、その上に組織切片を貼り付け、切片上で逆転写反応を行ってRNA-Seqをするというプロセスである。Visiumでは基板上的オリゴDNAスポットの直径が55 μm であるため、それ以下の空間解像度を得ることはできないことが計測における制約となっている。また、バーコードオリゴDNAを生やしたビーズを用いたSlide-seqやHDSTと呼ばれる技術も開発されており、ビーズ直径がそれぞれ直径10 μm 、2 μm であるため解像度は高いが、そのビーズに付着するRNAの数もビーズが小さくなるにつれて減ってしまう。例えば直径1 μm では、数個程度のRNAしか検出できないため、空間解像度を上げようとすると深度が浅くなる（ダイナミックレンジが小さくなる）ことが問題となる。

つまり、これらの空間トランスクリプトーム技術は、広い領域を浅く読むのに適した技術である。

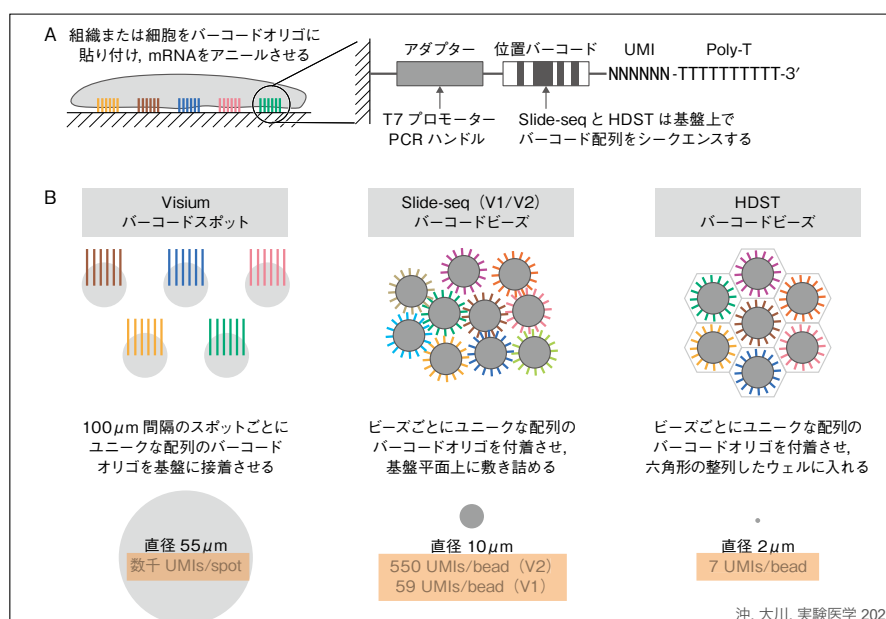


図3-2-1 空間トランスクリプトーム技術の原理

出典：羊土社「実験医学」vol.39 No.14（9月号）2021

一方で、私が開発しているPIC（Photo-Isolation Chemistry）は、非常に局所な領域を高解像度かつ高深度に読むことができる技術である。PICは、準備した組織切片の好きな箇所にUV光を照射すると、光を照射された細胞だけのトランスクリプトーム情報を引き出すことができるという技術である。この技術は、九州大学の太田恭行教授との共同研究により、当研究室特定助教の本田瑞季が主に技術開発を行ったものである。

実際の実験結果を交えながらPICの原理について説明する（図3-2-2）。PICのコンセプトを実現するため

に、まず我々はポリT配列を含むオリゴDNAに光開裂型のブロッカーをつけたものを開発した。これを逆転写酵素と一緒に組織切片に振りかけると、切片上に存在するメッセンジャーRNAとアニールして、切片上で逆転写反応を行うことができる。その次に、ROIを定義する。今回の実験では、Sox2に対する抗体で免疫染色をすることにより、マウス胚の神経管の正中線をラベリングした。その上で、自分の好きなところ、今回の実験では、神経管の背側、中央側もしくは腹側のいずれかの領域に、直径75 μm のスポット状の紫外光を照射した。そうすると、この光を照射した領域だけブロッカーが外れて、それ以外の光を当てていない領域ではブロッカーがついたままとなる。その上で、全ての細胞のライセートをチューブに回収しライブラリー合成を行うと、このブロッカーが外れたオリゴDNAにつながるcDNAだけが増幅されてシーケンスできる。

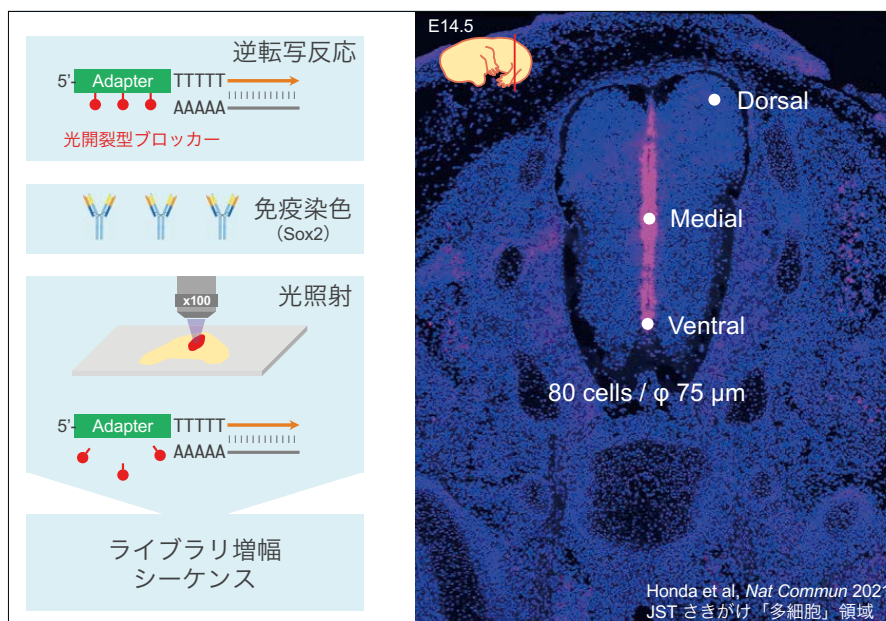


図3-2-2 PICの原理と神経管切片への適用事例

次に、そのシーケンスの結果をお示しする。背側、中央側もしくは腹側で複数のレプリケートを取ったが、いずれもUMI、いわゆるメッセンジャーRNAの数が20,000～60,000ほど検出されており。最初に紹介したVisiumに比べると、10倍以上の検出感度になっている。また、検出された遺伝子数は、いずれも10,000前後であった。光を当てなかった場合はほとんど検出されないことから、非照射領域に由来するバックグラウンドはほとんどないと言える。また、それぞれのドメインで特異的な遺伝子発現を検出できているかどうかを確認するため、次元圧縮による解析を行った。その結果、背側、中央側、腹側の3つのグループにきれいに分離でき、それぞれのドメインで特異的に発現すると検出された遺伝子が約200個見出された。

さらに、PICによりUV光を照射した領域だけの遺伝子発現を検出できているのかを確認するため、例えば背側で特異的と判定されたZic1やHoxb8といった遺伝子の発現するドメインをin situ ハイブリダイゼーションで調べた。その結果、神経管のドーサル側で特異的に発現することが確認でき、狙ったとおりの計測ができていたことが示された。

現在、さらに細かい領域へのPICの適用に挑戦しており、特定助教の木村龍一が実験を行っている。例えば、マウス胚の中にある始原生殖細胞の一個一個の細胞に光を照射して、そのRNA-Seqを行うということを試している。また、もっと細かい領域としては、一細胞中の細胞質に含まれるストレス顆粒だけに光を照射、あるいは1つの細胞核の中に存在する核スペckルだけに光を照射して、そこにどんなトランスクリプト（転写産物）があるかという検出にも成功している。

核スペckルの実験についてもう少し詳細を述べる（図3-2-3）。まず核スペckルのマーカーで免疫染色をした上で、1つ1つのサイズが1 μm 以下である核スペckルにUV光を照射した。コントロールとして、この核スペckル以外の核内領域に光を照射するサンプルも準備した。両者で異なる局在を示すトランスクリプトを検出すると、約1,000個の遺伝子がこの核スペckルに特異的に局在するということが確かめられた。その中には、MALAT1などの既に知られていた遺伝子以外にも、AKR1C2などの未知の遺伝子が検出され、実際にFISH（Fluorescence in situ hybridization）で局在を証明することができた。

さらに、その空間分解能の高さに加えて、PICの検出深度の深さも示すことができた。これまでに最高の検出感度があると言われていたseqFISH+では、1 μm 四方で約20個のRNAを検出することができる。一方、PICの検出結果を見ると、我々も驚いたことに、1 μm 四方の中で約300個ものRNAを検出することができていた。1つ1つの核スペckルのサイズが1 μm 程度のため、それぞれ300個のRNAが検出できるという非常に高い検出深度が実現できた。

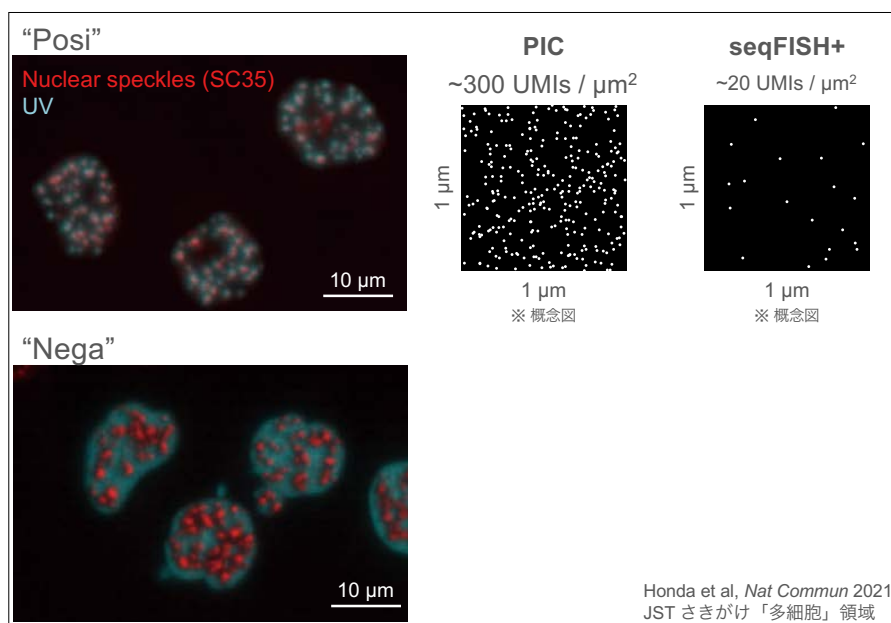


図3-2-3 核スペckルに対するPICおよびseqFISHとの検出深度比較イメージ

最後に、今後5年、10年後がどうなっているかについて、私なりの意見を述べる。

空間トランスクリプトミクスの先には、時空間オミクスという時代がやってくると考えている。つまり、空間だけではなくて時空間で計測できるのに加え、トランスクリプトームに限らず様々なオミクスができるのではないかと考えている。

時空間に関しては、現在、二次元平面上だけで行われているのに対し、まずはそれを三次元化する。例えばVisiumのような技術においては、切片を縦方向に積み重ねることによって、3Dでオミクスができると考えられる。一方で、PICでは二光子励起で三次元化できると考えている。現在は一光子励起であるため焦点面の上と下でもブロッカーが外れてしまうが、二光子励起だと、焦点面だけでブロッカーが外れるためピンポイントでトランスクリプトを検出できると考えている。

また、オミクスについては、現在はRNA-Seqだけが開発されている。一方、遺伝子発現は、オープンクロマチン領域に結合する転写因子によって制御され、また、ゲノムDNAがメチル化されることによりサイレンシングを受けるなど、さまざまな制御を受ける（図3-2-4）。こうした制御機構を知ることが、時空間的な遺伝子の発現を調べる上で非常に重要な情報となる。それらを調べる技術であるChIL-seq、ATAC-seq、

Bisulfite-seqなどにPICを適用できるのではないかと考えている。具体的な手法としては、これらの技術はすべてオリゴDNAを出発材料として用いることから、そこに光開裂型ブロッカーを付加することでPICの原理をエピジェノミクスに活用できるのではないかと考えており、実際に原理証明実験に成功している。

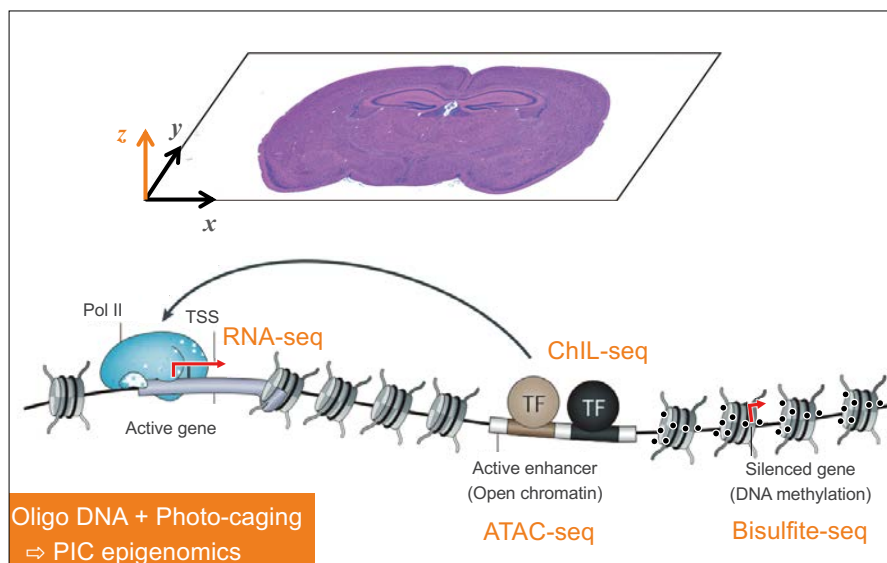


図3-2-4 時空間オミクスのイメージ

3

こうした時空間オミクスを使うことで、例えば発生生物学であれば、発生段階のマウス胚のある部分だけにピンポイントで光を照射することで、局所のオミクスを4Dで調べ尽くすことができるのではないかと考えている。

さらに、そこにバイオDXのレイヤーを重ねることができるのではないかと考えている。例えば、私が開発している、世界中の全てのChIP-seqデータを統合したChIP-Atlasというデータベースの活用が考えられる。局所で特異的に発現する遺伝子を時空間オミクスで特定し、その周りにどんな転写因子が結合しているかをChIP-Atlasにより調べることで、その上流因子を調べることができる。それにより、局所領域の個性をつかさどるマスターレギュレーターを特定できるのではないかと考えている（図3-2-5）。こうした技術を発展させるためには、従来の分子生物学だけではなく、化学や光学、組織学、特に発生学や病理学などの知識、さらには生物情報学の知識も結集する必要がある。

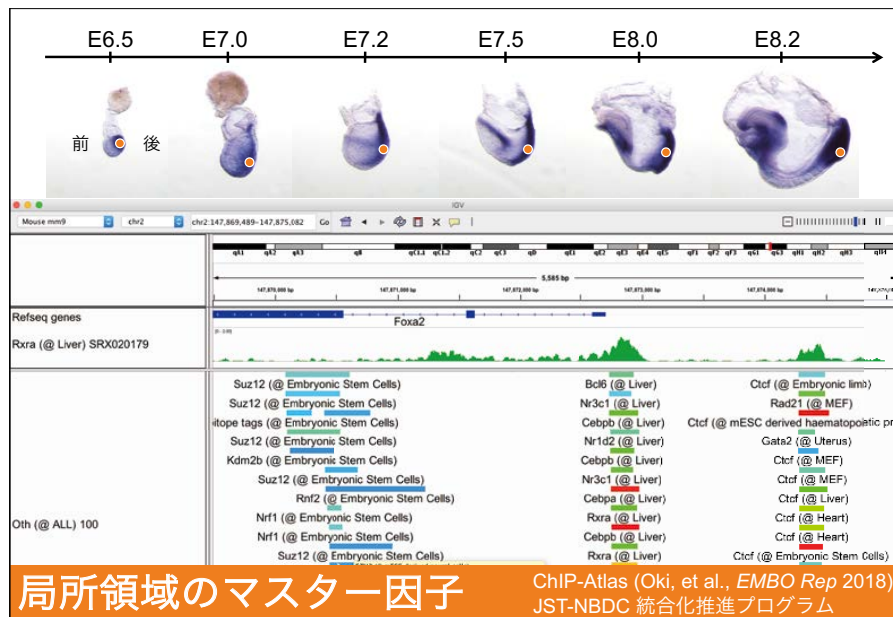


図3-2-5 空間オミクス x バイオ DX のイメージ

【質疑応答】

Q：ステロイド代謝に関係した遺伝子であるAKR1が核スペckルで局在している理由は何か。

A：核スペckルは、何らかの特異的な遺伝子が局在しているわけではなく、スプライシング等を行う場であると言われている。そのため核スペckルには、いろんな遺伝子のトランスクリプトが集まり、その中の一つが、AKR1C2であると考えている。

Q：1 μm 四方当たり約300個のRNAを検出することできるとのことだが、極端に言うと300種類のRNAが読めるということか。また、実際どれくらいのRNAが存在し、そのうちの何%くらいを読めているのか。

A：300種類読める。実際の存在する数は把握できていないが、300個よりもはるかに多いと考えている。

Q：細胞一個一個に光を当てた場合、それらを区別する技術はあるのか。

A：現状のPICでは、一個一個の細胞に光を照射して数千の遺伝子を検出することができる。また、同一切片上の異なる細胞に同時に光を照射することも可能だが、後で区別することはできない。現在、別の波長の励起光で開裂するブロッカーを開発しており、それにより2～3色で分けることができると考えている。

Q：二光子励起による三次元空間オミクスについて、空間分解能はどのくらいになりそうか。

A：Z方向（深さ方向）の分解能という意味では1 μm ほどが限界であると考えている。

3.3 De novo ナノポア設計と微生物型分子ロボット工学への応用

川野 竜司（東京農工大学）

2006年にアメリカに留学したときに、初めてナノポア計測に出会い、signal-to-noise ratioが非常に低い状態で1分子がクリアに見えるということに感動した。それ以来、DNAを始めとした1分子ナノポア計測にフォーカスして研究を進めてきた。

ナノポアは、1.4 nmの穴が開いた膜タンパク質を用い、穴の中を分子が通る際の電流の違いを見て、分子を1分子レベルで計測するという方法である。1996年にコンセプトを示した論文が初めて発表されてから、DNAシーケンスが高速かつ非常に安価にできるのではないかとということで、1000ドルゲノムプログラム¹の中で盛んに研究され、2015年にオックスフォード・ナノポアテクノロジーズ社（オックスフォード大学発のベンチャー）が実用化した。このニュースを知って、人とお金をかけて研究開発すると本当に実用化できるのかと感動し、すぐにこれを買って使ってみて素晴らしいと思った。

一方で、私は、シーケンスではなくナノポアでの1分子検出、およびナノポアを使ったDNAコンピューティング（DNA分子が自律的に情報処理、計算を行う結果をナノポアでラベルフリーで迅速に読む）の研究を10年来行っている。世界的に見てみると、ナノポアによるDNAシーケンスが商業化されたので、次のターゲットとしてペプチドシーケンスの研究開発が進んでいる。

DNAの場合は4塩基を識別すればよいが、ペプチド/タンパク質のシーケンスの場合は20のアミノ酸を識別する必要があることから、アミノ酸分子と相性が良く、1アミノ酸ごとの違いが電氣的に検出できる能力があるポア（タンパク質）を見つけるのが重要である。天然の膜タンパク質のポアは網羅的に調べられているが、なかなか良いポアが見つからないことから、人工的にアミノ酸配列を設計して性能の優れたポアを作ろうと考えた。このアプローチはDe novo designと呼ばれており、計算機を使って目的の構造を取るであろうアミノ酸の配列を決める方法をワシントン大のDavid Bakerらが開発している。

ナノポア計測に使うには、脂質の二分子膜中に穴を開ける構造をつくらなければいけないが、疎水性の脂質膜に親水性のポアを開けるという構造の設計の難易度は高かった。その中でも、ワシントン大のグループが2018年に、 β -barrelという構造を取る水溶性のタンパク質のDe novo designをNature誌に報告し、2021年2月には、その構造を膜中で再構成することに成功したことをScience誌に報告した。ただしこの中では、ナノポアで計測するには至っていない。2021年5月には、オックスフォード・ナノポア社のグループが、 α ヘリックスで構成された α -helical barrelをDe novo designでつくった。ただこれも1分子計測できるサイズにはならなかったという状況である。

¹ ヒトゲノム計画終了後に、米国立ヒトゲノム研究所（NHGRI）が2004年から始めた助成金計画「Advanced Sequencing Technology awards」の通称

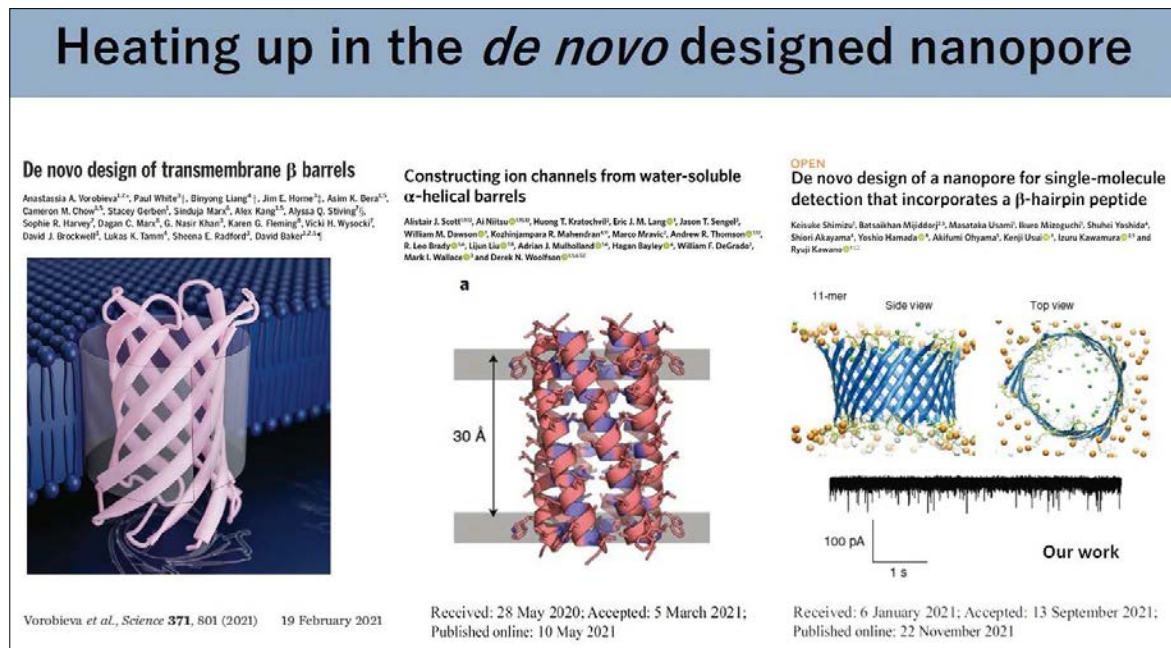


図3-3-1 ナノポア De novo design の研究事例

我々は、タンパク質よりサイズの小さいペプチドレベルの設計を行いベータシート構造を持つ、よりサイズの小さいポアを作ることができた。さらに1本鎖ポリペプチドの検出に成功して、Nature Nanotechnology 誌に2021年9月にアクセプトされた。

現状こういった技術が成熟してきているのに対し、5年、10年、20年後についての私見を述べる。1つは、de novo でのアミノ酸配列の設計により、ある程度所望のポアができるようになってきたことから、ナノポアによるペプチドのシーケンスが一つの大きなターゲットになると思っている。

また、個人的には、微生物型の分子ロボットを作りたいと考えている。具体的には、細胞サイズのリボソー

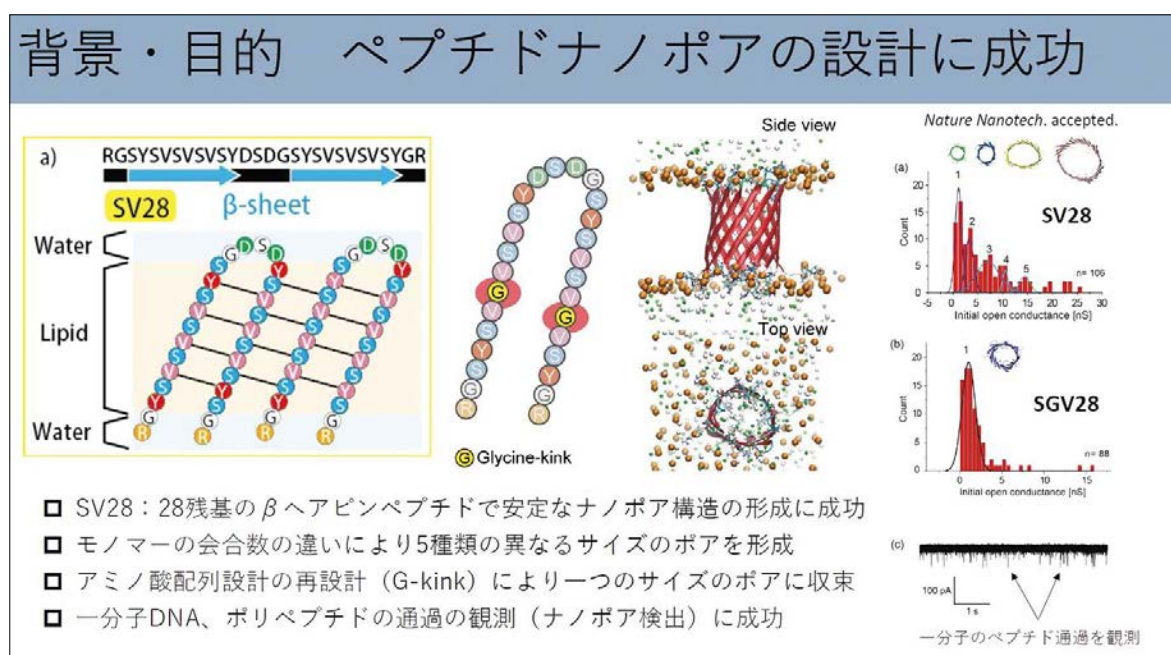


図3-3-2 ペプチドナノポアの設計

ムの中で自律的に分子が情報処理をするDNAコンピューティングを実行する、de novoで設計したゲートを膜内に埋めて中と外の情報をやり取りさせる、といった機能を有するロボットの開発を考えている。ナノサイズでこうした機能をもつものとしてはDDSが思い浮かぶが、DDSは産業用ロボットのように、薬物を送達するという特定の用途を達成するためのロボットである。一方で、微生物型分子ロボットは、何か特定の用途に使うのではなくて、汎用的にいろんな使い方ができるマイクロサイズのプラットフォームになると考えている。我々の研究室では、マイクロ流路の技術も活用することで、微生物型ロボットの大量かつ均一な生産に取り組んでいる。

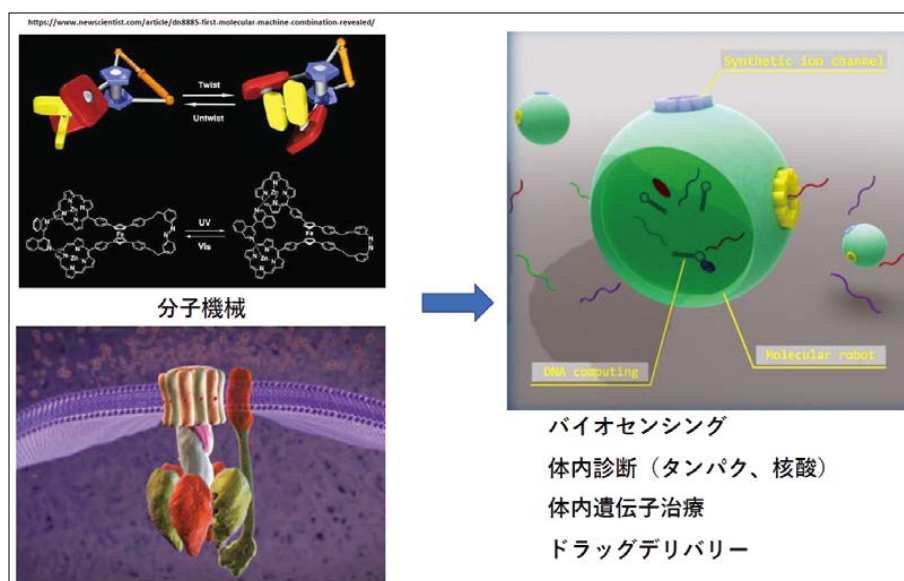


図3-3-3 微生物型分子ロボット

微生物型分子ロボットの想定する使い道としては、例えば人間の体に入れて、常に循環させておいて、病変から出てきたマーカーを分子が認識し、その病変をロボットが自ら治療するといったことを考えている。実際に私たちのグループでは、がん腫瘍細胞から出てくるマイクロRNAを検知すると、その腫瘍を抑制するようなDNA薬剤を勝手に中で合成して外に放出するような系を作っている。さらに、Wi-Fiのような技術と組み合わせ、生体中の情報を外に出すこともできればと考えている。

このように、リキッドバイオプシー、de novoタンパク質設計、AIのような情報処理などを組み合わせたマイクロサイズのシステムの開発が今後の方向性の1つであると考えている。

実現する時期としては、ペプチドシーケンスが5～10年、微生物・細胞サイズの分子ロボットが20～30年後ぐらいと考えていたが、馬場先生の基調講演を聞き限り、分子ロボットも10年後にはできる可能性があると感じる。

【質疑応答】

Q：ナノポアによる計測に関して、対象がDNAでもペプチドでも、ナノポアを通るときにブロックされる電流を測るという意味だと共通している。電流は、分子の大きさといったシンプルなパラメータに依存すると思われていたが、実際は様々な相互作用が微妙に波形に影響するため、波形の解析が当初考えられていたよりも困難である。AIがそこを乗り越える鍵だと思っているが、ペプチドシーケンスではどうなのか。

- A : ペプチドシーケンスでも、DNAのシーケンスと同じように機械学習は必須だと思う。DNAシーケンスにおいては、実験系にフィードバックできないということで、(特徴量をアルゴリズムが抽出する)ディープラーニングではなく特徴量を自分たちで設定して機械学習しているという話である。ただ、原理的に本当にロイシンとイソロイシンみたいなものが電流で分離できるかどうかはまだ疑問がある。あとは、この群のアミノ酸はこのポアで検出するというように、ポアを複数使う方法も考えている。
- C : ポアを使い分ける意味で、さまざまなポアのde novo設計に成功しつつあるというのは今後期待できる。今後実用化する上で、安定性向上などの進展を期待する。

3.4 1細胞マルチオミクス解析に向けたナノポア技術開発

筒井 真楠（大阪大学）

3.3の川野先生の講演は生体ナノポアに関連したものだが、本講演では固体材料からなる、いわゆる固体ナノポアの研究開発を紹介する。

最初に、私自身の研究について述べる。私の研究では、固体ナノポアに電圧を加えたときに、ナノポア空間の中に生じるイオン輸送、流体の流れ、エネルギー散逸、熱流など、様々な物理現象を実験的に観測し、さらにポアの中に物体が来たときに、その物体にどのような力が働き、どのような動きが現れるのかを調べている。ナノポアの大きさとしては、1マイクロメートルから10ナノメートル程度の範囲のいわゆる拡張ナノ空間と呼ばれる大きさを扱っている。ナノポアの中の物体の動きについて詳しく調べることで、細菌やウイルスのような病原体や、タンパク質のような我々の健康と深く関係のある物質を、非常に高感度で検出するセンサを作ることができる。

ナノポアセンサの特徴は2つある。1つは半導体加工技術を用いることで、電子線リソグラフィの精度で、きちんと決められた大きさと深さのナノポアをつくることができる点である。これにより、ナノポアセンサが特定の大きさ範囲の粒子の動きに特に敏感になるようにすることができる。もう1つは、機械学習を応用することにより、センサの応答波形から粒子の識別を行える点である。ナノポア計測では図3-4-1のようなイオン電流波形が得られるが、この波形には物体の動きにひもづく様々な性状が反映されている。その複雑な情報を電流波形の細かな特徴として捉え、機械学習アルゴリズムを用いて特徴量空間で分類することによって、非常に高精度で1粒子の識別を行うことができる。このようなセンサを用いることで様々な病原性の細菌や種類の異なるウイルスなど、大きさや形状が異なる粒子を1粒子で検出し、識別することができる。

また、粒子の形状や大きさが非常に似通った、例えばインフルエンザの亜型ウイルスのようなものでも、その表面タンパク質の違いにもとづく僅かな粒子の性状を見極めて、1粒子レベルでインフルエンザの型判定ができる技術を作り上げている。現在は、これらの技術を社会実装するべく、ベンチャーが立ち上げられ、機

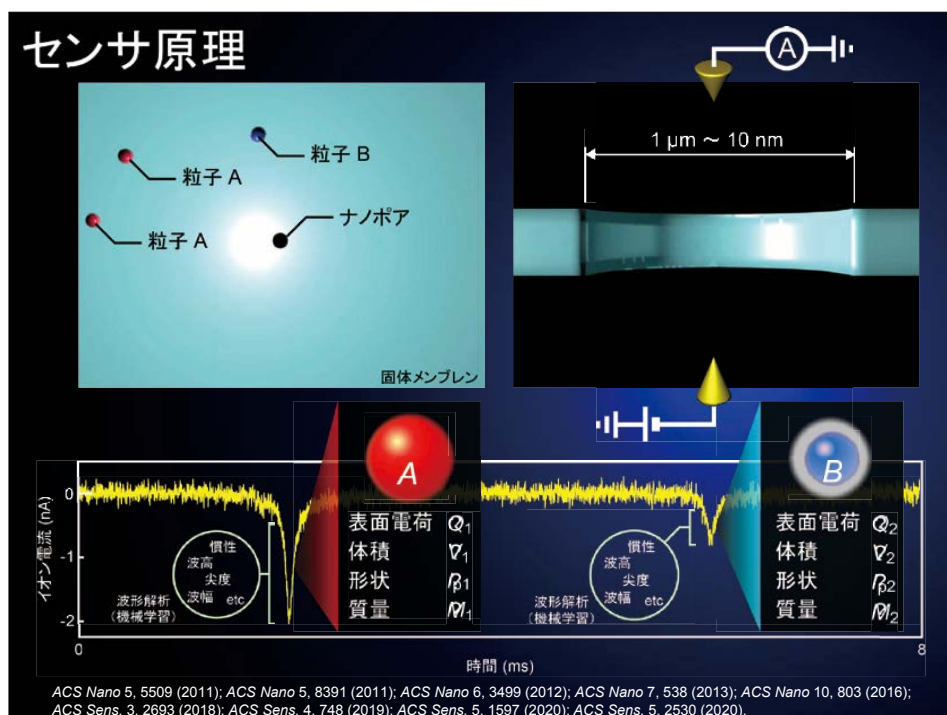


図3-4-1 ナノポアセンサの原理

械開発がさらに進められている（図3-4-2）。

最近では、さらにその先の技術として、粒子内部の分子までセンシングできる、いわゆる集積ナノポアデバイスの作成にチャレンジしている。図3-4-3に示すデバイスがその一例で、上下2層のナノポア層から構成されている。上層で細胞などの粒子をトラップした状態にし、集中電場を使って膜に穴を開ける。これにより粒子内部の構成物、例えば細胞内のゲノムなどが取り出され、これを下層のナノポアで検出する。現状で1細胞

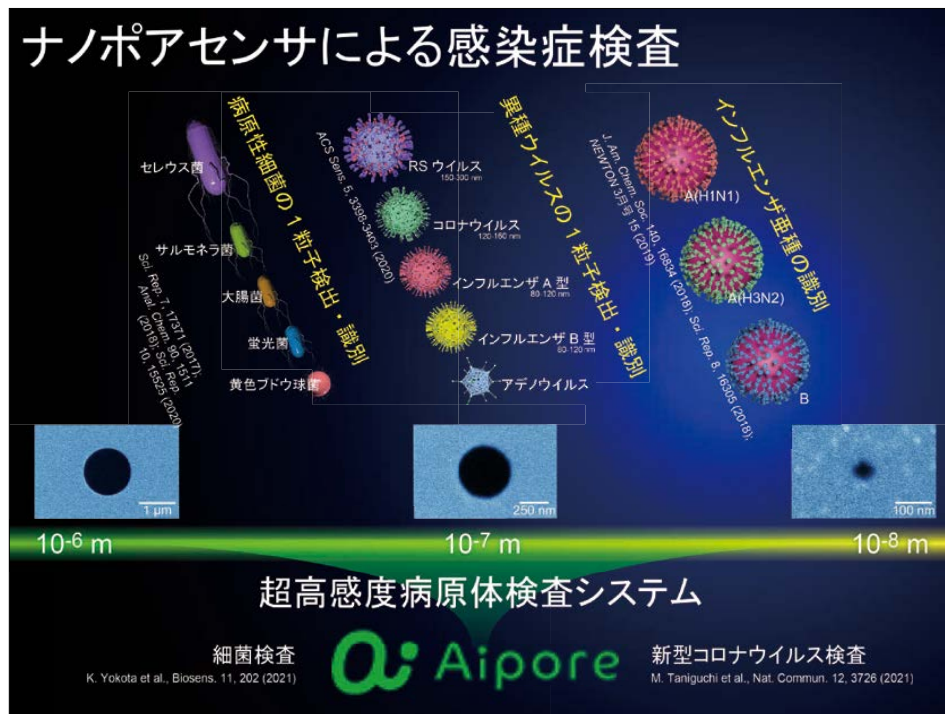


図3-4-2 ナノポアセンサによる超高感度病原体検査

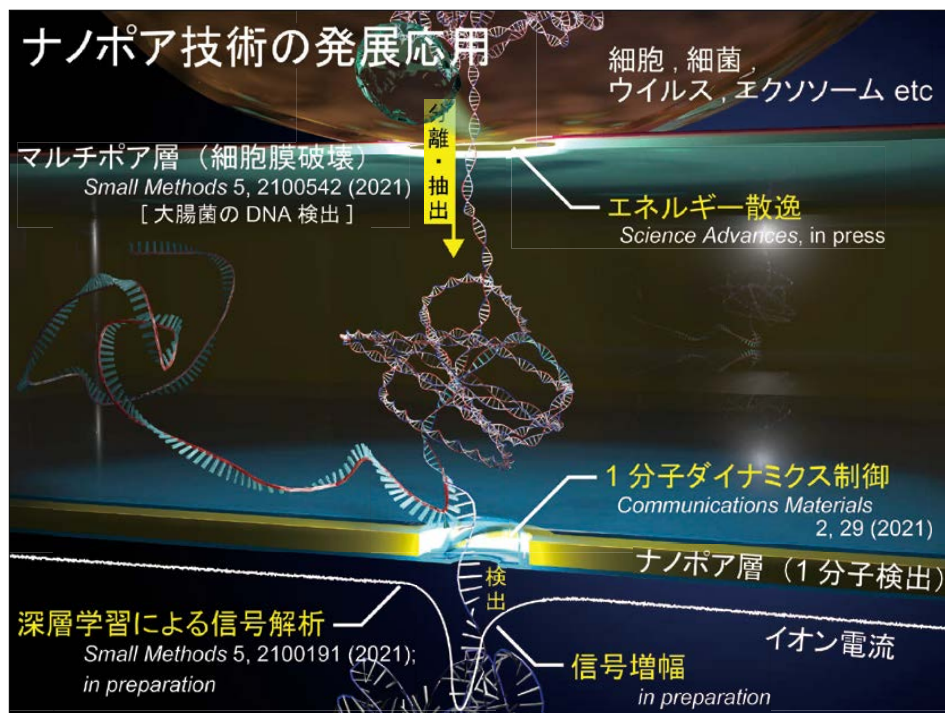


図3-4-3 二層ナノポアを用いた新しいセンサ

の大腸菌からDNAを取り出して1分子レベルで検出することができており、今後はこの技術を応用して、PCRなしに1個のウイルスのゲノムを簡単に解析する技術を目指し研究を進めている。

世界のナノポアセンサの研究動向を図3-4-4に示す。2008年頃に、いわゆる1000ドルゲノムプロジェクトがアメリカのNIHで発足し、これを一つの起点として、ナノポアセンサを使って1分子のシーケンシングを行う研究開発が爆発的に広がった。最終的には、オックスフォード・ナノポア社が生体ナノポアにポリメラーゼ酵素をつけたハイブリッドのナノポアデバイスをつくり、これによる1分子のシーケンシング技術が確立されたのが2013年頃となる。その後、DNAの次にタンパク質がこの領域のターゲットとなり、ナノポア技術によるプロテオミクス解析の実現に向けた研究開発が加速している。例えば、固体ナノポアにおいては、分子の大きさや形状の違いでタンパク質あるいはその集合体であるアミロイドを1分子レベルで検出するセンサが報告されている。生体ナノポアにおいては、ペプチドシーケンシングに特化した研究が多くなされており、1アミノ酸識別から、ごく最近には1本のペプチドを生体ナノポアに入れるだけでなく、簡単な電圧制御によってペプチドを上下に繰り返し動かすといった、1分子のダイナミクス制御まで報告されるレベルの研究が始めている。

このような動向を見ていると、近い将来にナノポア技術がプロテオミクスに応用できるようにも思えるが、実際は根本的な課題がずっと残っている。その課題は、ナノポアセンサにおいては分子がナノポアに入らない限り検出ができないにも関わらず、分子を引き込む力がナノポアのごく近傍にしか有効に働かないという事実起因する。タンパク質程度の小さな分子を検出しようとする場合には、非常に高濃度のタンパク質試料を用意する必要があり、その濃度は例えば5キログルトンから50キログルトン程度のタンパク質の場合、おおよそ 10^{13} 個/mlにもなる。非常に高濃度かつ高純度なタンパク質試料の準備が必要となるが、このような条件があると、それほど簡単にはタンパク質の計測ができないだけでなく、希少なタンパク質を対象とした場合にはそもそも高濃度レベルまで濃縮ができないという技術的課題が生じる。さらに、これはナノポア計測だけに特化した課題ではなく、プロテオミクス分野で主要技術となっている質量分析法においても同様に課題となっている。

その状況を打破するために、ナノポアに必要な事柄を考えてみる。計測したいタンパク質が細胞の中にある

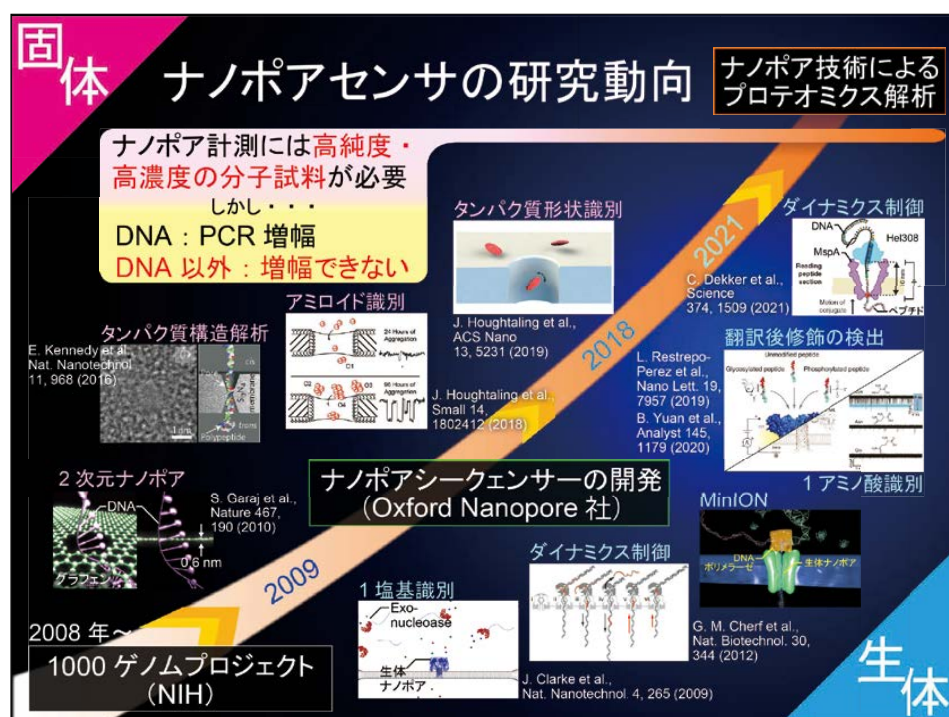


図3-4-4 世界のナノポアセンサの研究動向

とすれば、細胞をナノポアの近くで破碎すれば、中から出てくるタンパク質などの分子を速やかに検出できることが期待される。先ほど紹介した集積ナノポア技術はまさにその用途に使える技術であり、細胞内のゲノムを検出可能であることはすでに示されているため、タンパク質においても同様に検出できると期待している。また、「熱刺激で細胞を割る」、「ナノワイヤで細胞を破碎する」といった優れた技術が国内にはいろいろ存在しており、これらの技術をナノポアセンサと組み合わせることで、図3-4-5に示すような「1細胞から分子を取り出して1分子レベルで網羅的にその分子を検出するセンサ」をつくることができると考えている。また、そこから得られる情報は非常に膨大で複雑なものになってくるため、解析に当たっては我々ナノサイエンスの研究者だけではなく、様々なライフサイエンスの研究者を巻き込みながら生命現象の一端をひもといていく、そうした研究開発がなされるべきだと考えている。

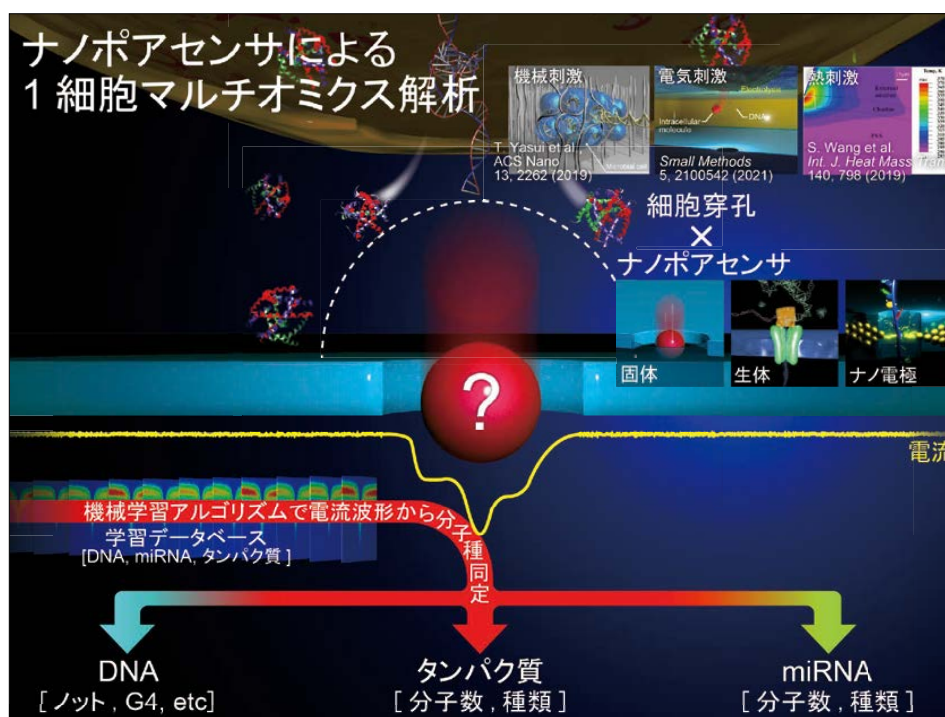


図3-4-5 ナノポアセンサを用いた一細胞マルチオミクス解析

【質疑応答】

Q：1エクソソーム解析が重要になってきているが、ナノポア近傍で小胞を割って中身を解析する手法を、細胞外小胞に対して適用した結果はあるか。

A：エクソソームについては、まだ集積ナノポアでは試していない。今のところは、エクソソーム自体をナノポアに通して、そのエクソソームを形状で識別するところまで出来ている。原理的にはエクソソームを破碎することさえできれば、例えばその中の遺伝子を読むということも十分に可能だと考えている。

Q：エクソソームをナノポアに通すときには、エクソソームの表面電荷が重要になるか。

A：その通りで、表面電荷は非常に重要。基本的にナノポアで有効に働く力は静電気力であるため、表面電荷に応じてかける電圧を変化させ、ナノポア近傍に持ってくるというのは非常に重要なプロセスになる。

3.5 ナノテクが切り拓くデジタルバイオ分析

渡邊 力也（理化学研究所）

リキッドバイオプシーとは、血液、唾液、尿などの液性検体を検査し、それを診断へとつなげる技術であり、僅かな体液から早期疾患診断が可能になるというポテンシャルを持っていることから近年着目されている。既存のリキッドバイオプシーでは、夾雑環境の中にある 10^9 個から 10^{12} 個ほどの標的の分子から出るシグナルををまとめて解析するということがよく行われている。そのため、生体分子の個々の情報が平均化されてしまい、疾患に伴う分子の僅かな量・質の変化を識別・検出することは難しい。

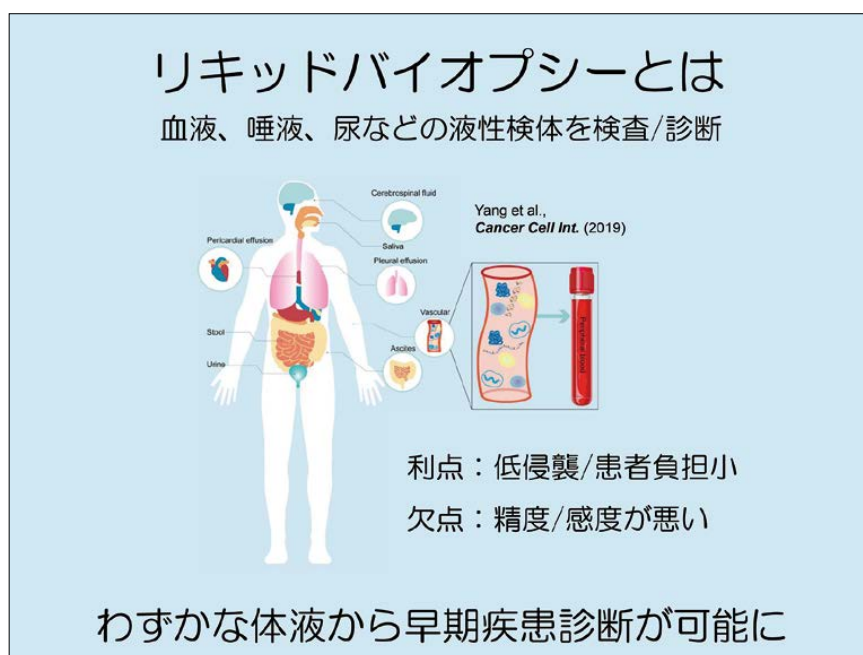


図3-5-1 リキッドバイオプシー

この課題を克服するのが、デジタルバイオ分析である。デジタルバイオ分析は、生体分子の量と質の僅かな変化を1分子単位で評価し、疾患診断へとつなげることができる。色々な手法が世界中で開発されているが、近年、マイクロチップを使った計測系の開発が著しい。マイクロチップを使った計測系では、チップの上に集積した均一な大きさの試験管アレイを使い、それらに1分子ずつ分画して、生体分子の評価を行う。通常のバイオアッセイの場合、吸光・発色の変化もしくは蛍光の反応を介して、大きな試験管に含まれる大量の生体分子の平均化された情報の評価を行うが、デジタルバイオ分析の場合は1分子単位で評価を行うことができ、個数などの量の情報はもちろんのこと、経時変化の解析から質の情報も個々に取得することができる。また、デジタル検出系の検出限界値は大体 aM から fM ($10^{-15} \sim 10^{-18}$ M) くらいであり、通常のバイオアッセイを凌駕しているため、近年、様々なデジタルバイオ分析装置が開発・上市されている。特に高感度・定量性が求められる分野への展開が著しく、例えばデジタルPCR、デジタルELISAなどの装置は基礎研究分野で汎用されている。

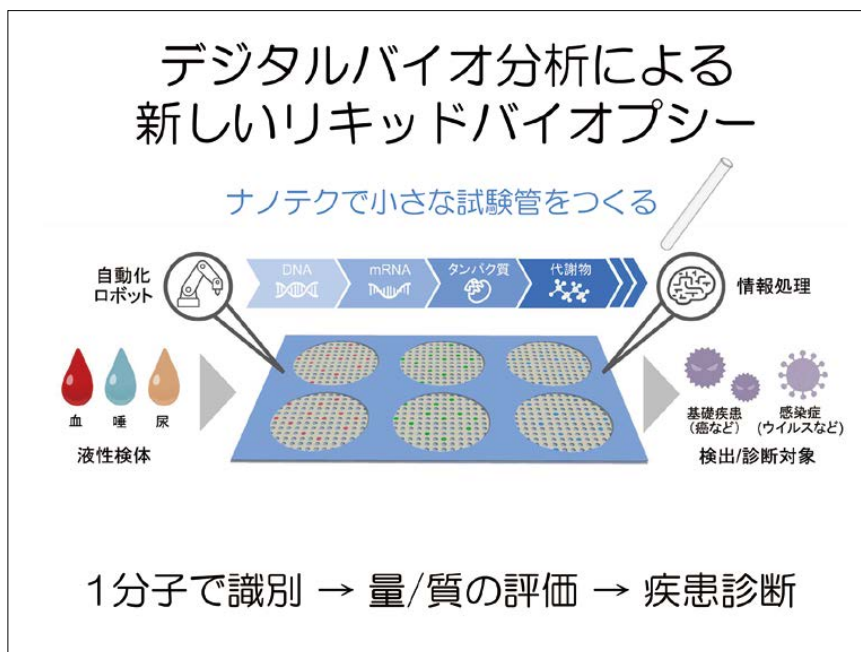


図3-5-2 デジタルバイオ分析によるリキッドバイオプシー

この背景をうけ、我々も様々なデジタルバイオ分析技術を開発している。その中でもRNAの検出にフォーカスを絞った新しい技術、SATORI法について簡単に説明させていただきたい。SATORI法は1分子レベルで1本鎖RNAを識別して検出できる技術で世界最速・超高感度検出技術である。この方法のポイントは、従来のPCRのような増幅をせずとも、マイクロチップを使うことで直接RNAを検出できる点にあり、故に、僅か9分以内の迅速検出が実現している。この技術を使って我々が最近取り組んでいるのは、新型コロナウイルスのRNA遺伝子の迅速検出装置の開発であるが、ただ速いだけではなく、感度も非常に優れているため、次世代のウイルス診断技術として期待されている。

まとめをさせていただくと、デジタルバイオ分析は、1分子単位で識別して迅速検出ができる次世代のバイオ分析基盤である。今後、デジタルバイオ分析を更に発展させるためには、測定対象を拡張する（量の戦略）とともに、機能評価を徹底すること（質の戦略）が必要であると考えている。例えばアッセイの測定対象を拡充するのであれば、蛍光プローブの拡充をケミカルバイオロジーの専門家と進めていくと共に、蛍光以外の検出原理を積極的に導入していく必要があると考えている。また、自動化装置を導入することで計測のハイスループット化を実現し、更には、それらに基づいたビッグデータへの対応が必要であると考えている。これらが実現した5年、10年後のデジタルバイオ分析の未来としては、液性検体中の色々な生体分子を1分子単位で丁寧に調べてあげることで、感染症から基礎疾患に至る種々の疾患を早期に診断できるようになるのではないかと期待している。

これからのデジタルバイオ分析 より汎用的な分析基盤へ

1, 測定対象の拡張 (質の戦略)

- ・ 蛍光プローブの拡充
- ・ 蛍光以外の検出原理の導入
電気 / 化学 / 物理の計測技術をライフサイエンスへ
(非染色 / 非侵襲 / 高感度 / 高定量 / 高時間分解能)

2, スループットの向上 (量の戦略)

- ・ マイクロマシニング技術(MEMS)の利用
- ・ 計測システムの集積化 → ハイスループットを実現
- ・ 計測 / 解析の自動化 → ビッグデータへの対応

図3-5-3 これからのデジタルバイオ分析

【質疑応答】

Q : 蛍光以外の検出原理を用いたデジタルバイオ分析としては、こういった手法が考えられるのか。

A : 他の先生方の技術、例えばナノダイヤモンド、電気計測などの技術を、こういう小さな試験管と組み合わせると、汎用性が広がってくるのではないかと考えている。

Q : 今回の技術は、基本的には分子の数を数える技術であると理解した。一方で、例えば病気で何か一つ特異的なマーカーがあるのでなくて、複数のマーカーを組み合わせないと分からないことがあると思うが、そうした場合はこういった手法を考えているのか。

A : 共同研究の事例として、例えばケミカルプローブのほうを少し工夫して反応点を変えると、多色のイメージングと組み合わせることによって1分子単位でアイソザイムを分けることができる。例えば、疾患のときに血液診査でALPとかを調べると思うが、血液診断だけだとどの臓器から出てきているのかというのは調べることはできない。それに対し、活性を一分子ずつ解析すると、由来となった臓器や病気まで調べることができるということがわかってきた。今後いろいろなパラメーターをこのチップの中で多元的に測り、個数と質の両方を評価することによって、これまでできなかった解析が実現してくるのではないかと考えている。

Q : 個数や質を考える場合は、元となるサンプルの質の影響をまろに受けると思うが、そこは何かうまくコントロールするテクニックとかは考えているか。

A : おっしゃるとおりだと思う。そうすると、やはり我々だけではなく、医療者と連携してサンプリングする条件などを検討し、フィードバックをかけながら定量性を上げていくという状況だと思っている。

3.6 広範な標的検出を可能にするメタ表面バイオセンサーの応用展望

岩長 祐伸（物質・材料研究機構）

汎用的なバイオセンサーの高感度化というのは積年の課題である。蛋白質の典型的なバイオセンシング法の一つにELISAというものがあり、市場の標準になっている。核酸に関しては、最近の新型コロナで有名になったPCRがある。これらはターゲットごとに手法が異なり、高感度な検出をするためには、それぞれ熟練した操作者が必要になる。また、簡易的な検査キットは、偽陽性が出るといった問題もあり、補助的な感染確認という目的にしか使えない。そこで、汎用的かつ高感度なバイオセンサーがあれば、ワンストップの検査が可能になるのではないかと、というのが基本的な発想である。これまで汎用的なものは感度が低かったが、蛍光を高輝度化できるメタ表面センサーの発見により、これらの課題解決に向けた道筋が見えてきている。

はじめに：汎用的なバイオセンサーの高感度化

- 典型的なバイオセンシング**
 - タンパク質（抗原）：ELISA 法
 - 核酸（DNA, RNA）：PCR 法
- ターゲット毎に手法が異なる**
- 高感度な検出には個別の装置が必要になる（人も個別に必要）**
- 低価格なキットは低感度で、偽陽性の懸念（補助的な感染確認が主な用途）**
- もし汎用的なバイオセンサーがあれば、ワンストップで検出（検査）できる！**
 - 汎用的な方法は、これまで感度が低いなどの課題があった。
 - 蛍光を高輝度化できるメタ表面センサー**の発見により、この課題解決が見えてきた！！

図3-6-1 汎用的なバイオセンサーの高感度化

メタ表面というのは、基本的には基板の上100nm～200nm程度の表面に構造をつくったものである。メタ表面による蛍光増強の報告例は多数あるが、中でも人気があるのはボウタイアンテナというものや、金属の先がとがった構造で、増強度が1000倍以上ある。これらはホットスポットを使うという昔からの発想である。しかし、ホットスポットはボリュームが全体の中で小さいので、再現性がどうしても低くなるという難点があった。それを回避する構造として、プラズモン・フォトンハイブリッド型のメタ表面、あるいは全誘電体型のメタ表面というものを考案した。それにより、100%近い再現性で1000倍以上の蛍光増強度を得ることができた。

その起源の一つを簡単に説明する（図3-6-2）。このメタ表面の光の放射率（＝吸収率）に注目する。光の放射率というのはマクロな物理量であり、ローカルなナノ構造にはよらない。図3-6-2には光の放射率を紫色の点線でプロットしているが、そのピークのところで蛍光が極端に大きく増強されていることが分かる。この例では、平坦なシリコン基板に比べて2600倍程度も蛍光増強度が大きくなっており、均一かつ大きな蛍光増強が可能になることが分かった。

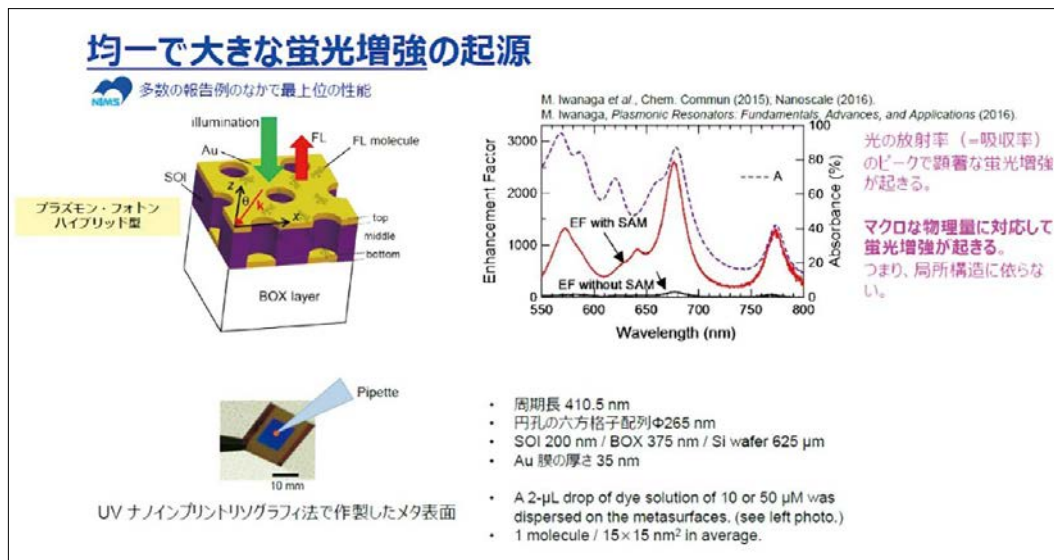


図3-6-2 均一で大きな蛍光増強の動作原理起源

このメタ表面をバイオセンサーに適用するために、マイクロ流路と結合させてナノ・マイクロ構造体をつくった（図3-6-3）。これは初期の例であるが、下側がメタ表面基板であり、メタ表面基板とマイクロ流路を結合させて、3チャンネルのメタ表面バイオセンサーを作った。少量の試験液でも試験することができ、分子固定の定量性を担保して検出ができるようになった。

図3-6-4にがんマーカーCEAを検出した例を示す。この場合はシリコンのナノロッドタイプのメタ表面であり、半導体ファウンドリーで大量生産できるものである。がんマーカーのCEAは検査で一番よく使われているマーカーで、それを間接検出するためにCEA抗体でサンドイッチにして、それに二次抗体として蛍光付きの抗体を固定して測定を行った。図3-6-4の四角の部分がメタ表面のエリアに対応しており、メタ表面のエリアだけがよく光っていることが見てとれる。CEAが5ng/mlというのが診断基準であるが、その50分の1の濃度であっても問題なく検出できることが分かった。実用的に十分な精度といえる。

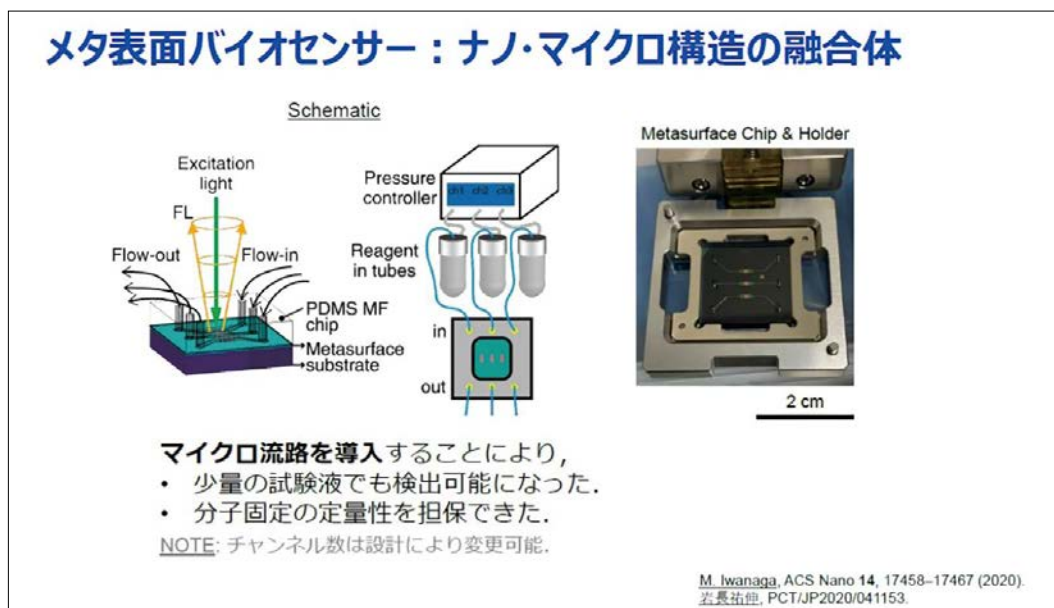


図3-6-3 メタ表面バイオセンサー：ナノ・マイクロ構造体

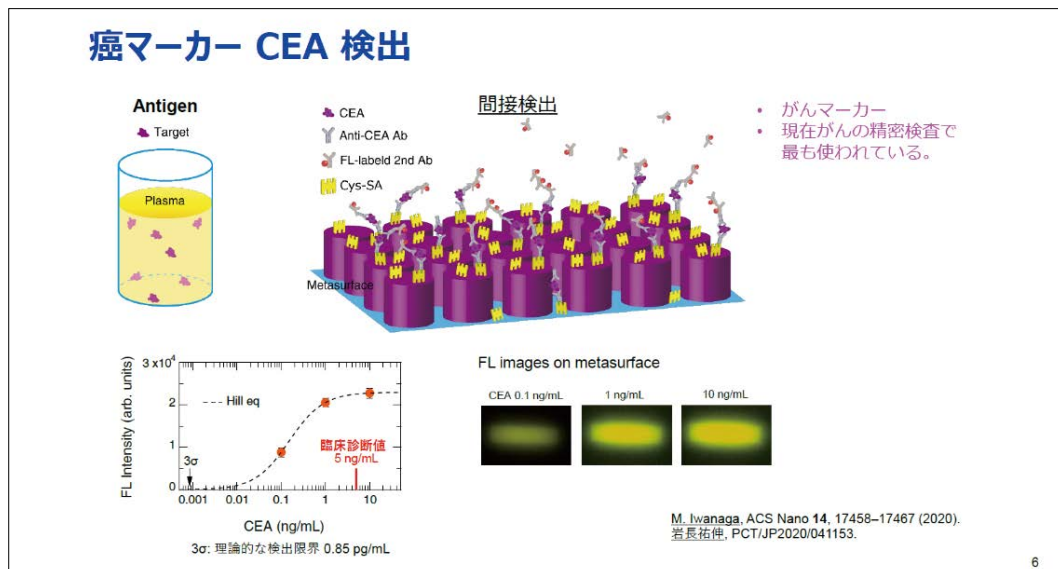


図3-6-4 がんマーカー CEA 検出

また、新型コロナウイルスにはこの2年大きな影響を受けているが、その相補 DNA の検出を行った。これは直接検出であり、増幅しないで直接的に測定するというシンプルな実験である。メタ表面に相補 DNA などをして、固定されたものを検出した結果が図3-6-5の写真であり、四角の部分メタ表面に対応している。直接的に測っているので、検出感度としては250 amol/ml程度ということで、抗原検査よりは高感度だが、PCRほどではないという結果になった。最近では、核酸増幅なども含めて、1コピーとゼロコピーを区別して測れる単一 DNA 検出レベルに到達している。

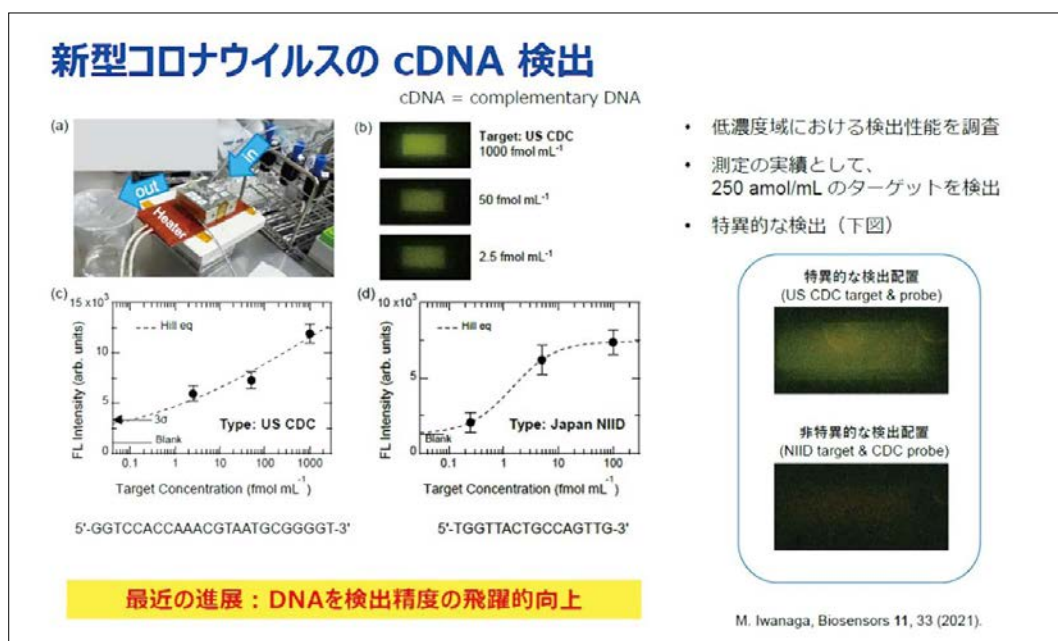


図3-6-5 新型コロナウイルスの相補 DNA 検出

周辺の研究トピックスとして、診断応用を目指すバイオセンシングというのは多数ある。定量性には問題があるが、定性的に見る、簡易的に見る方法としてはメリットのあるものが出てきている。また、欧米で先行するマイクロRNAの検査サービスというのもある。既存のがんマーカーはステージ0では検知しにくく、ステージが上がるにつれ検査値が大きくなっていくのに対し、マイクロRNA検査はステージ0から検知できるのが一つの特徴である。しかし逆に、ステージゼロでもステージ4と同じ判定が出てしまい、医療診断を行う上でのステージ判断には使えないという問題がある。また、未病の時に発症と判定してしまったり、1回の検査に1か月かかったり、1回で50万円程度かかったりすることもある。非常に高感度な技術であるが、知りたい情報・必要な情報といった需要や価格とのミスマッチがある。また、マイクロRNAの応用ではアルツハイマーについての検査も行われており、これについてもマイクロRNAは患者数が増える年齢よりもずっと前からその兆候を捉えられるというのが宣伝文句・売り文句である。しかし、タウ蓄積を見るほうが相関としてはよいこともあり、マイクロRNAをマーカーとして見るかどうかは、高額な費用を含めて、検討が必要と思われる。

今後の方向性として、メタ表面バイオセンサーに関連すること、バイオセンシングに関連することを図3-6-6に示す。万人のウェルビーイング（Well-being）・個人に最適化されたヘルスケアという観点から、リキッドバイオプシーや核酸検査というのが将来的に入ってくることは間違いないと思われる。また、様々なものを測定し、データ分析・AI分析を行い、各個人に対して健康支援、治療アプリなどで情報提供するというように、データを大きく回していくことが必要になる。このようなシステムを組むためには、広く使えるセンシング技術であると同時に、高感度、短時間、大量処理、低コストといった要件を全て満たさなければいけない。ハードルは高い。メタ表面バイオセンサーはこれを満たすことができると考えている。さらに、多くのデータを取得してDX化し、個人の遺伝的特質、ある時点でのマーカーの検査値などを全て学習して、どういう疾患になりやすいか、どういう兆候があるのかといった健康サービス提供につながるバイオセンサーの開発を今後進めていきたい。

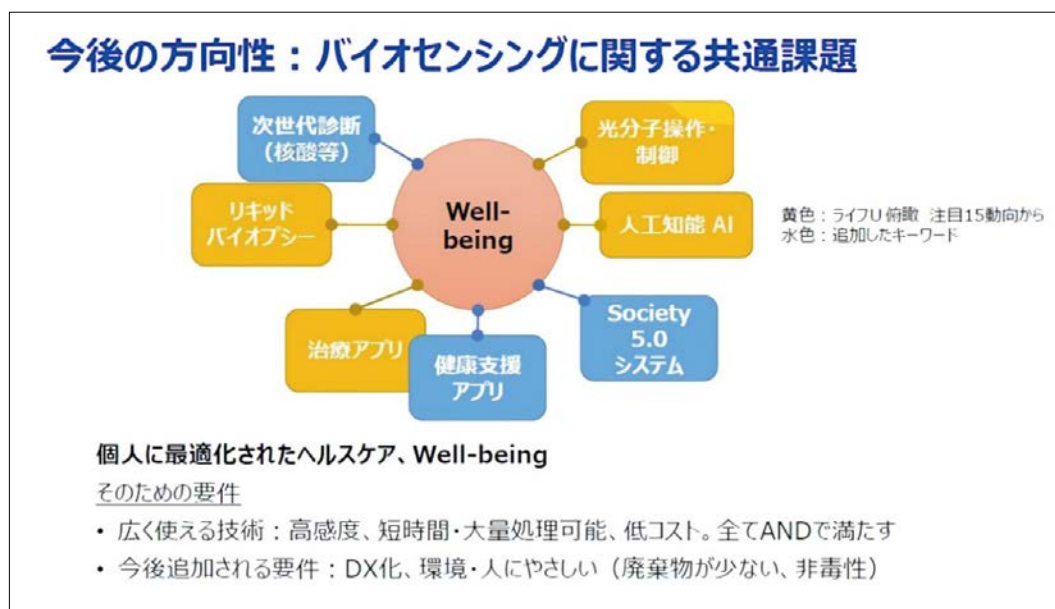


図3-6-6 今後の方向性：メタ表面バイオセンサー関連

【質疑応答】

- Q：がんは異なる種類がたくさんあり、乳がんや前立腺がんなどの検出では、世界的には勝てないと感じる。一般的ながんの早期発見では駄目という感じがするので、例えば日本が先行していると思われる希少がんを狙うのはどうか。希少がんは頻度は非常に少ないが、種類は200程度あるので、これを合わせるとがん患者の15%程度になる。また、希少がんに関しては、あらゆるデータやバイオ材料が日本で集められている。例えば、希少がんのときに特別に出てくる酵素やたんぱくなどを狙っていくということはあるか。
- A：何をターゲットにすべきかというのは重要な問題であり、希少がんというのも重要なターゲットの一つだと思う。希少がんに関する一つの取っかかりとして、医療機関などと共同で、遺伝子やタンパク質などマーカーとなり得るものを探していくことも重要な戦略だと考えている。

4 | 細胞・組織等の操作・制御技術

4.1 微生物シングルセル解析と大規模ゲノムデータが拓く 革新的なバイオ生産

細川 正人（早稲田大学）

シングルセル解析が非常に注目されているが、私が行っているのは、動物細胞ではなくて微生物を対象としたシングルセル解析である。特に、ゲノムを一細胞から読むという技術をJSTのさががけで開発し、この技術をbit-MAPと名づけて活用している。2018年には、世界初のシングルセルゲノム解析技術を使ってベンチャーを創業し、今はアカデミアとの兼業という形を取っている。このbit-MAPをてこにした多彩なゲノム解析、そしてバイオ生産プラットフォームを提供していくというのが我々の考えである。

なぜ微生物かというと、産業的価値が大きいことに注目している。地球上には多様な微生物が存在しているが、一説には、地球上で発見されている微生物種は推定総数の0.001%以下であり、ほとんど未発見、未利用の微生物であると言われている。それにもかかわらず、医療や食品など微生物を活用した市場は非常に大きく、12兆円とされている。この潜在的資源を掘り出すことができれば、様々な医療面、産業面に活用できると考えている。

一方、バイオによるものづくりという観点では、合成生物学という分野が注目されている。これは生物を人工物のようにプログラムする技術であるが、コンピューターを半導体からつくり上げるように細胞が作り出す物質を組み上げていくことが行われている。

ここでは、Design、Build、Test、Learnというサイクルを高速に回すということが重要であり、特に設計部分が非常に重要であると言われているが、実はその下層の部分、分子であるとか遺伝子の部分にこういったものが含まれているのか、そこに機能性が高いものがあるのかということも非常に重要である。

この点に気づいているのが海外企業であり、海外の合成生物学の巨大ベンチャーであるGinkgo BioworksやZymergenは、微生物遺伝子データベースの価値を認識していて、買収などでデータの囲い込みを狙っているという状況である。彼らは、土壌微生物など今までカルチャーコレクションなどから取られてきた様々なゲノムのデータを他社から買い取って、自分たちしか使えない遺伝子資源を取りためて、そこから産業的価値の高いものをつくり出そうとしている。

そのような企業に伍してデータを貯めていくことが重要になってくる。どうやってゲノムを取ってくるのかということが鍵になるが、旧来の方法では微生物を培養しなければいけない。培養可能な微生物は1%以下ともいわれ、重要なものがそこにあっても数年間かけてでも培養できるようにしなければならないという問題があった。そこで、近年では培養をスキップして、多種多様、雑多な微生物が含まれている状態から全部DNAを取り出し、NGSで読んで、それをコンピューターの中でつなぎ合わせればいいんだという考えが出てきた。

この方法は非常によいのだが、遺伝子配列の断片をパズルのピースのようにつなぎ合わせる処理は非常に難しく、どの微生物がどの遺伝子を持っていたのかがわからなくなるなどの問題があった。この複雑なパズル問題を紐解く方法として、細胞一個ずつゲノムを読んだらよいのではないかと考え、我々が開発したのが、bit-MAPという技術になる。

まとめると、多様な微生物の集団を複雑系のまま全体を解析しようとしていたのがメタゲノム解析だったのに対して、物理的に一細胞ごとに分けて、一つ一つのゲノムを解読して理解するのがシングルセルゲノム解析である。

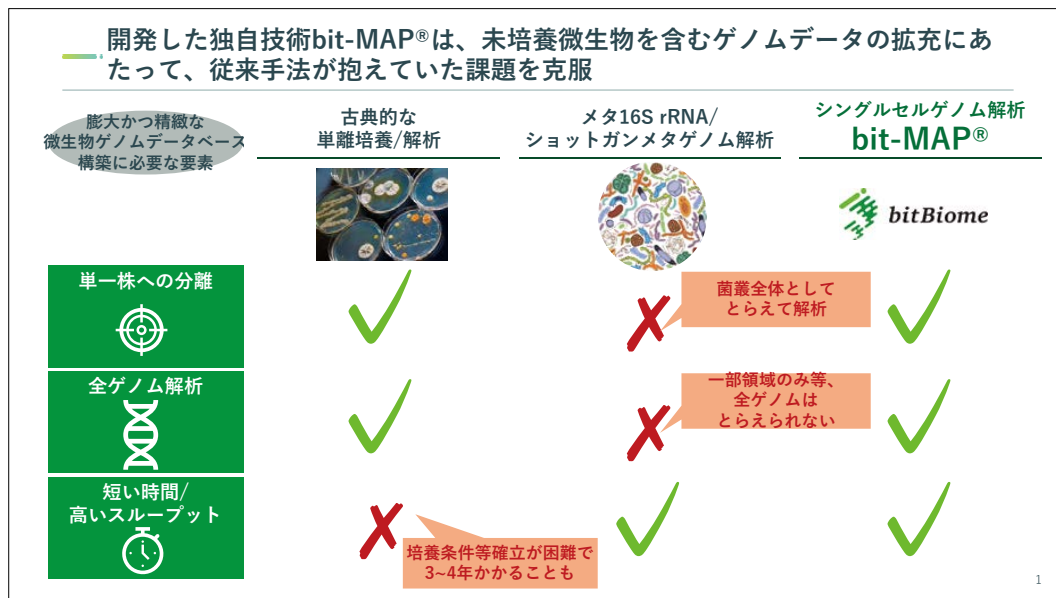


図4-1-1 シングルセルゲノム解析の利点

このプロセスにマイクロ流体技術が登場する。まず微生物は、ヒトの腸内細菌、口腔細菌から土壌、海洋に存在するものまで何でも分析することが可能である。微生物サンプルをマイクロ流体デバイスの中に入れて、図4-1-2にあるように、一つ一つの細胞を秒間数千個の速さでカプセルの中に閉じ込めていく。このカプセルをゲルの状態に固めることができ、ゲルの構造体の中に細胞あるいはDNAを保持したまま周りの溶媒、溶液を変えることによって、中にある生体分子に作用させることができる。

例えば、周りの溶媒を細菌を溶かす酵素に変えてDNAを露出させたり、そこにポリメラーゼを加えて、DNAの複製を行うということが出来る。すなわち、細胞一個が入っていた状態から何倍にも複製されたDNAの状態にゲルのカプセルを置き換えることができる。このゲルカプセルを細胞一個単位ずつ分取して、これをNGSでシーケンシングし、バイオインフォマティクス解析を行うことで、シングルセルのゲノム解析を超並列に

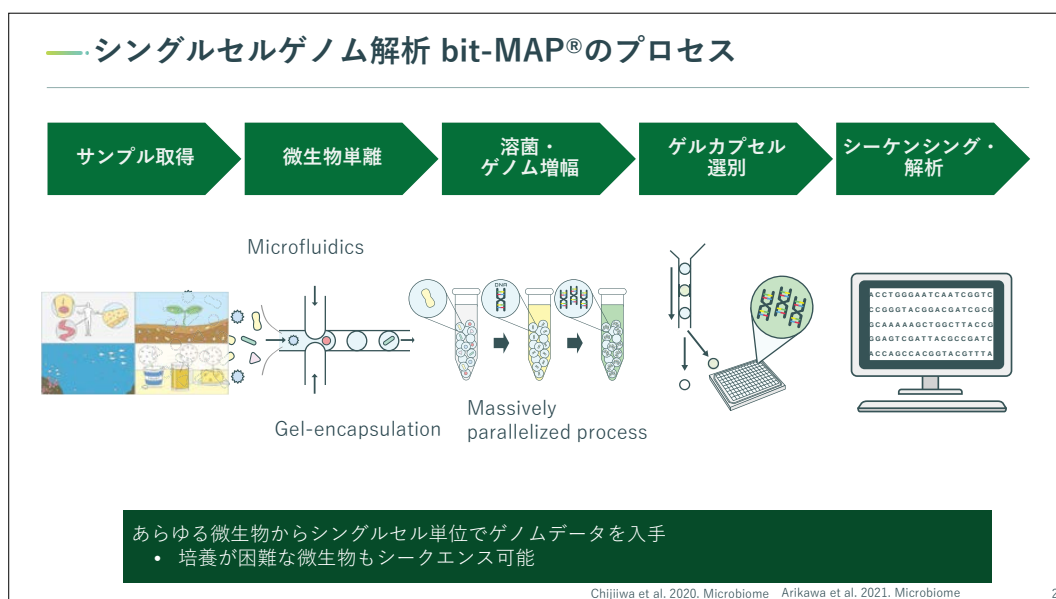


図4-1-2 シングルセルゲノム解析のプロセス

行うことができるようになってきている。この方法により、あらゆる微生物から一細胞シングルセル単位でゲノムデータを入手でき、培養できない微生物もシーケンスが実施できる状態になっている。

この技術を用いて、ヒトの腸内細菌や口腔内細菌、皮膚常在菌などのほか、土壌などの環境中に存在する細菌のゲノムを解読している。ヒトの常在菌などでは非常に高効率にゲノムを復元できていて、土壌細菌はまだまだ改善点が残るが、未知の誰も知らないゲノムをどんどん蓄積することができている現状である。

この能力を使って、どんなことができるのかというと、bitBiome社では、2年ほど前からゲノムデータの蓄積を始めて、現在16万のシングルセルゲノムを蓄積している。2年後には100万ゲノムに到達する見込みである。この規模は、先のGinkgo BioworksやZymergenを大幅に超えるゲノム情報量であり、一企業単独で国家プロジェクト規模の遺伝子数を獲得できるようになってきている。

この中身が重要であり、がらくたであつたら困る訳である。この点に関しては、従来のショットガンメタゲノム解析が1万遺伝子、土壌のサンプルから回収できたのに対して、我々の方法では、およそ30万以上の遺伝子が取れること、重複しない未知の遺伝子もたくさん取れてくることが分かった。現在これらの遺伝子から実際に酵素などを発現させることなどに取り組んでいる。

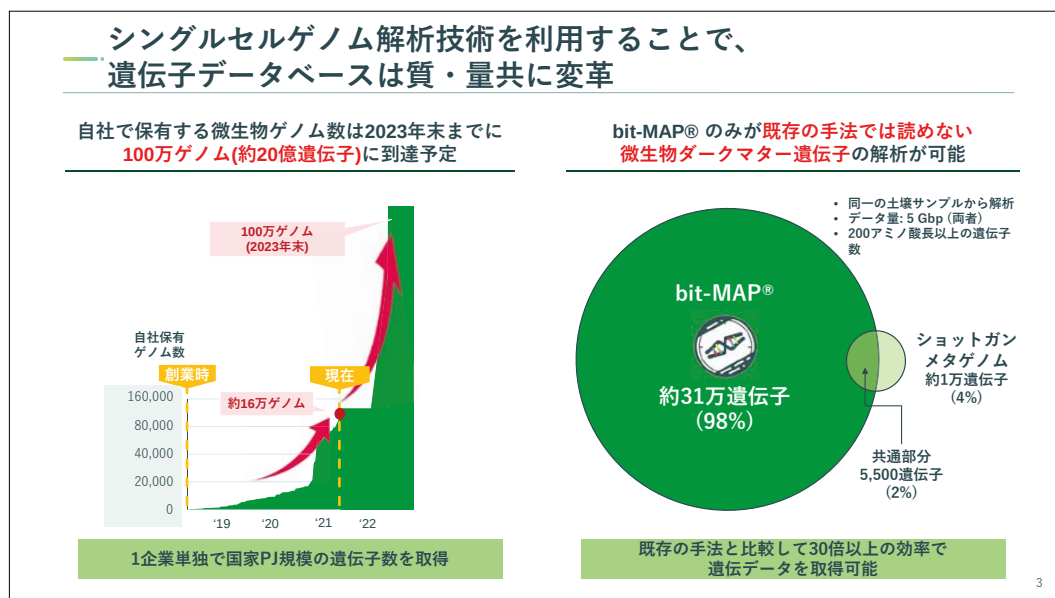


図4-1-3 シングルセルゲノム解析によるゲノムデータ蓄積

資源、データ、遺伝子というものを確保できるようになったので、その先に我々が行おうとしているのは、遺伝子から分子を設計して産業利用できるような部品であるとか装置を生み出していくこと。これもまさにバイオとナノテクノロジーの融合だと考えている。

図4-1-4の矢羽根にあるように、左からシングルセル解析とかNGSを使ってデータをためていく。データはデジタル情報になっているので、コンピューターの中でde novoで酵素やドメインを検索して、たんぱく質を設計する。産業上、有用なものを選んでいく。そこで、ロボット技術とかを使って自動的に遺伝子配列からたんぱく質生産を行って、その評価までも超並列に実行していくことで、アウトプットとして創薬や素材に関わるものを生み出したいと考えている。現在は、医薬品候補物質、微生物を制御する分子、産業用酵素の開発を進めている。

この分野は欧米が先行しているが、シングルセルデータという新しいエッセンスを加えて、1つ大きな研究をしていきたいと考えている。また、先端技術、プラットフォームの提供者になっていきたいと考えている。

その中で重要なのが、実験の自動化技術とかde novoの分子デザインというバイオインフォマティクスとか、ウェット実験を必要とせずにバイオものづくりのデザイン、スクリーニングをするといった先端技術を取り入れることである。また、アウトプットとして社会課題の解決、カーボンニュートラルや薬剤耐性（AMR）などと合致したものを選んで研究を進めることも重要視している。

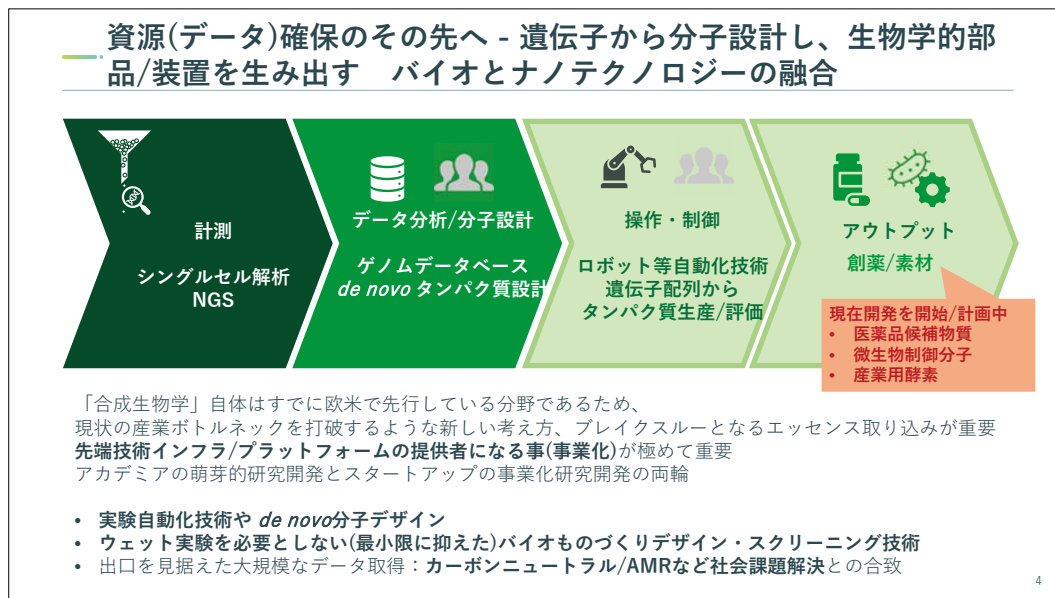


図4-1-4 シングルセル解析データが駆動する合成生物学

5年後、10年後に生まれる新しい領域としては、私たちのデータや他社の動向を見ていると、遺伝子アミノ酸配列データからバイオものづくりを自動大規模化を行っていくのが当たり前になっていくと考えている。

DeepMind AlphaFold2により、たんぱく質のAI構造予測ができるようになったことで、配列さえあれば、ある程度構造・機能予測ができるのがもう目前である。そこにロボットによる大量生産が加わり、バリデーションがしっかりできれば、このサイクルがぐるぐる回るのはではないかと思っている。

そこでは、アミノ酸、ペプチド、たんぱく質等の単一分子シーケンシング技術というのができると非常にいいなと思っている。私自身は、このような最終的なリードアウトの技術ができると、NGSの登場のように、周辺領域の技術開発が活発化するので、こういった技術の拡張に期待している。

5-10年後に生まれることが期待される新しい領域

注目技術 遺伝子/アミノ酸配列データからバイオものづくりの自動大規模化

タンパク質のAI構造予測 × ロボットによる大量生産 × 単一分子プロテインシーケンシング

バイオテクノロジーにおけるものづくり(創薬/酵素等物質改良)のスピードを変える技術群

DeepMind AlphaFold2等：テストすべき新しい分子の構造予測・設計

ロボティクス：多様なタンパク質のハイスループット生産

プロテインシーケンシング：人工・天然タンパク質の配列/構造確認

単一分子プロテインシーケンシング

単一細胞レベル、最終的には単一分子レベルでタンパク質配列を読み取る技術

読み出し技術の変革による周辺領域活性化の期待

DNAシーケンサー(NGS)は、バイオ・化学・光学・流体力学・計算科学などの融合物

NGSによりシーケンスのコスト/情報量が変革したことで周辺領域の技術開発が一挙に活性化

5

図4-1-5 5-10年後に生まれることが期待される新しい領域

【質疑応答】

- Q：膨大な遺伝子データから何をもってセレクトしているのか？また、どこから微生物を取ってくると、
 どのようなものが得られるのか？
- A：現在の方法は、基本的には既存のもの、配列が分かっているものとの類似性に依存している。それは
 DNA配列の類似性、アミノ酸の類似性であるが、今後は立体構造の類似性というのが出てくる。予測
 ができることによって、新しい展開が生まれると考えている。また、どこから微生物資源を取ってくるか
 という点では、PCRのポリメラーゼは耐熱性酵素であり、高温・高圧環境の微生物が作り出すものが
 産業利用されており、温泉とか海底とか、熱水環境とかから取ってくる例が有名である。
- Q：我々は、バクテリオファージを使った研究をしていて、今回の発表のように、どのゲノムがどの細菌か
 ら来ているというのが分かると、そのプロファージとかと対応できてすごく面白いなというふうに聞いて
 いた。この一微生物、一細菌を解析したときに、例えばバクテリアの形態とか、どこから取られてきた
 のかとか、そういった情報も蓄積されているのか。
- A：私たちのデータベースでは、いわゆる土壌だとか海洋のどこからというところも附帯して情報を取っ
 ており、その遺伝子配列がどういった細菌種から取られているのかということも全部記録されている。プ
 ロファージもしっかり見ることで、実際それを発現して置き換えていくということもチャレンジし
 ていると考えている。

4.2 超分子ペプチドゲルを利用した損傷脳組織再生

味岡 逸樹（東京医科歯科大学）

神経生物学、有機化学、計算物理学を専門とする3名の研究者の共同研究成果を紹介する。

異分野共同研究のきっかけは、JSTさきがけ「分子技術と新機能創出」であった。研究総括の加藤隆史先生の下で、有機化学を専門とする村岡貴博先生と、脳の再生に関する共同研究を2015年から開始し、2016年からは計算物理学を専門とする渡辺豪先生にも加わっていただいた。3年半というさきがけの期間では成果を出すことはできなかったが、さきがけ終了後も共同研究を進め、6年かけて得られた研究成果を本日紹介する。

まずは研究背景として、脳梗塞とその治療の現状を紹介する。

脳梗塞は、国内で年間約20万人が発症するが、全体の半分以上の患者が要介護1～3となり、リハビリが必要な状態になる。しかし、この分野の技術発展は著しく、患者も希望を持って治療に取り組むことができるようになると思う。

一方で、全体の約25%を占める要介護4や5の患者にとっては、リハビリでの改善が期待できるように症状を改善することが重要な状況だ。これは患者のQOLの問題にとどまらず、日本における要介護4、5の直接費用は年間約1兆円であり、経済的にも喫緊の課題となっている。

要介護4、5の患者の症状を改善できるかもしれないということで現在注目を浴びているのが、幹細胞を脳に移植するような脳の再生治療だ。しかしながら、幹細胞移植による脳梗塞の治療効果は幹細胞が分泌する増殖因子の効果だと考えられていて、細胞を使わずに細胞の足場を使った再生治療も戦略の一つである。

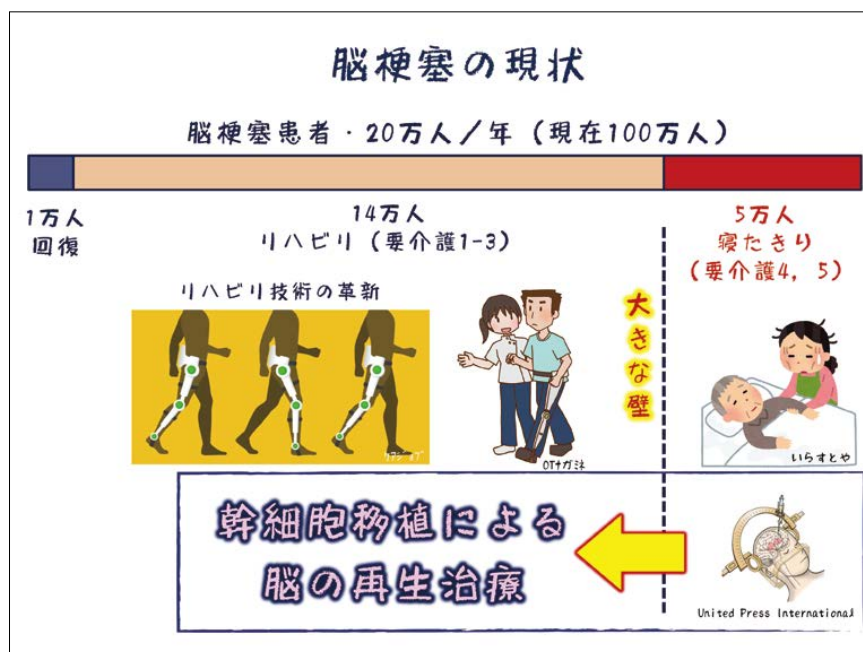


図4-2-1 脳梗塞の現状

細胞足場は、細胞接着の促進効果だけでなく、増殖因子の拡散を防ぐような吸着と放出を効率的に行う機能もある。このような機能を持つ合成高分子足場は多く存在するが、ほとんどが基礎研究での応用にとどまり、ヒトへの応用が難しい状況である。

その理由は、高分子は重合、すなわち共有結合でつくられるので、体内分解産物の分子構造が不明で安全性試験を通すことが難しいためである。一方、本で紹介する超分子は非共有結合でつくられるので、体内分解産物の分子構造が明確で、安全性の高い材料を設計しやすいという特徴がある。

余談だが、生物学でアクチン重合という言葉があるが、これは共有結合ではなく非共有結合なので、重合したアクチンは高分子ではなく超分子と言っているかもしれない。

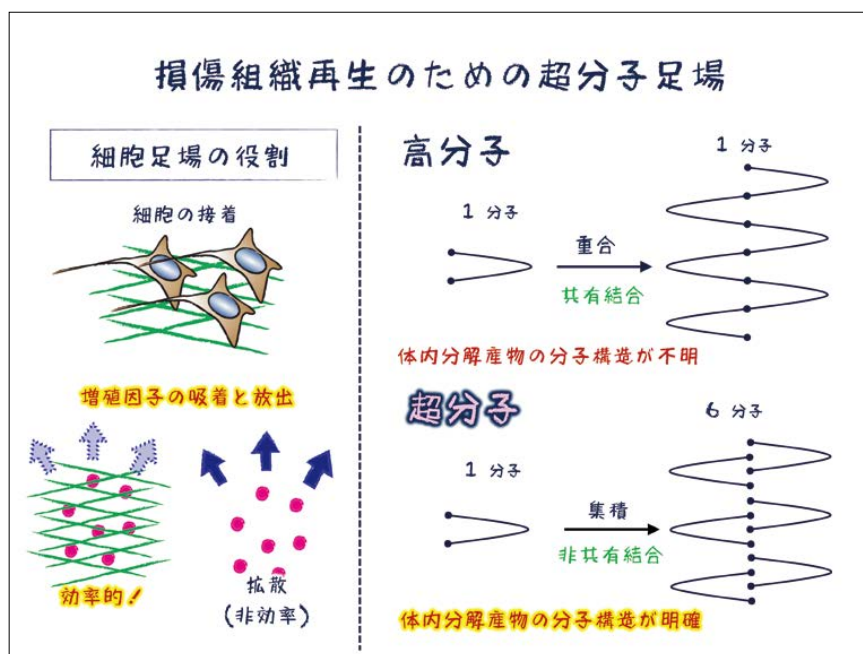


図4-2-2 損傷組織再生のための超分子足場

私たちは、安全性の高い超分子ペプチドゲルを使って、増殖因子の吸着と放出という、通常トレードオフとなる機能を発揮するような細胞足場を開発した。それが今回開発したJigSAPであり、分子設計の特徴は、疎水性の側鎖がジグソーパズルのように凹凸になっている点である。

計算物理学を専門とする渡辺先生に分子動力学シミュレーションで集合体構造の予測をしていただき、分子設計に反映させて、実際にジグソー構造によってマイクロレベルではファイバー形状をとるゲルになることが分かった。

本研究では、脳梗塞領域の血管新生を促進させるために、血管内皮細胞増殖因子VEGFに着目した。JigSAPタグをつけたVEGFと過剰量のJigSAPを混合すると、VEGF-JigSAPがJigSAPゲルに取り込まれる。さらに、試験管内で徐放効果を検討したところ、VEGF-JigSAPの約50%が1週間かけて放出されることが明らかになった。

このVEGF-JigSAPとJigSAPの混合物を脳梗塞モデル作製7日後の亜急性期脳内に単回投与すると、歩行機能が改善され、血管新生や神経細胞死抑制効果があることを見いだした。

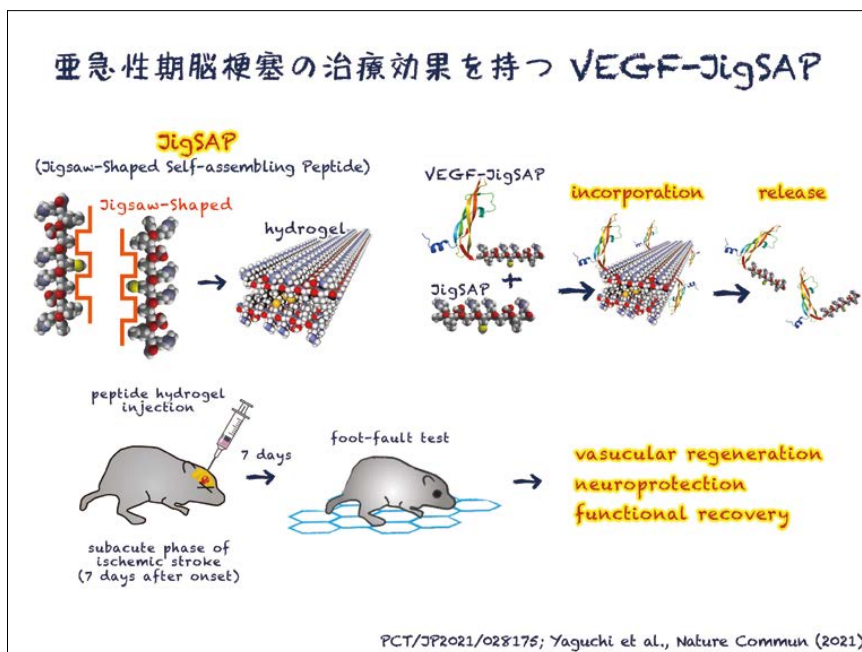


図4-2-3 亜急性期脳梗塞の治療効果を持つ VEGF-JigSAP

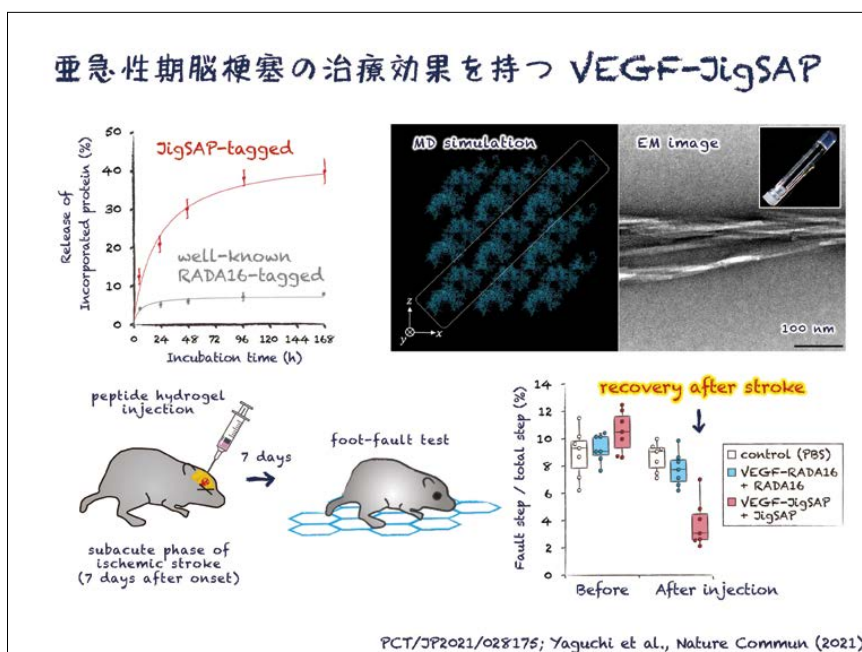


図4-2-4 亜急性期脳梗塞の治療効果を持つ VEGF-JigSAP

まとめると、精密な分子設計を行うことで、増殖因子の吸着と放出という天然の細胞の足場に似た機能材料を創製し、損傷した脳の潜在的な再生能力を発揮させて、アンメットニーズである亜急性期脳梗塞の機能回復を実現した研究成果である。

神経科学と材料科学の融合研究の現状について紹介する。

国内でこのような融合研究を推進するような部局はないと思うが、海外では珍しくない。今回の投稿論文の査読コメントに対して感じたことだが、単一の査読者が神経科学と材料科学の両分野で鋭い指摘をする。

国内にはこのような研究者は皆無だと言い切れる。

この背景として、国際的には両分野融合研究を担うセンターがある。例えばCenter for Neural Engineering and Therapeuticsなど、アメリカや中国ではこの分野の研究や研究者育成が精力的に行われていることを強調する。

新しい領域の提案に加え、神経科学と材料科学の融合を日本で実現するために必要だと考えるものに関しても触れる。

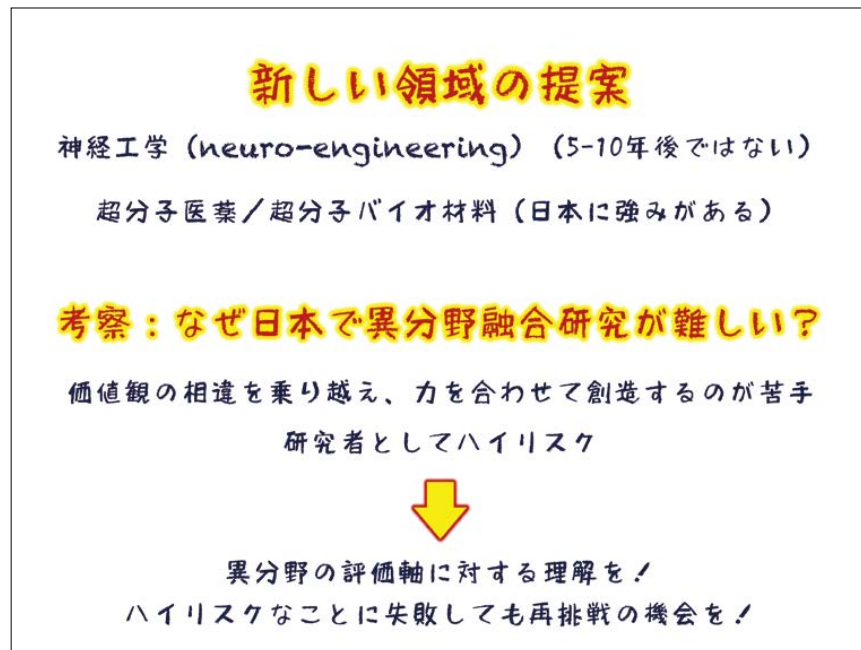


図4-2-5 新しい領域の提案

新しい領域の提案として、1つ目に神経工学を挙げた。しかし、これはアメリカや中国で既に精力的に進められているので、追っていくのも手遅れ感がある。

2つ目に、日本はものづくりに強く、既に超分子材料という分野で国際的にも優位性があることから、超分子医薬/超分子バイオ材料を挙げた。日本で異分野融合が順調に進めば、魅力的な領域になると思う。

しかし、なぜ日本で異分野融合研究が難しいのか。私の考えだが、日本人が価値観の相違を乗り越えて、力を合わせて何かを創造するというのが苦手であること、また、私自身もそう思ったのだが、異分野融合研究はハイリスクなので、研究者のキャリアそのものがハイリスクになってしまうという問題点がある。

自分自身の経験として、異分野融合を推進するのであれば、異分野の評価軸に対する理解があるとよいということと、ハイリスクなことに失敗しても再挑戦の機会をもらえるような環境があればよいと思う。

【質疑応答】

Q：日本人が異分野融合の研究が苦手である理由について、見解をいただきたい。

A：日本人がなぜグローバル社会で活躍できないのかということも同じと思うが、日本人は単一的な考え方をすることがある。特に海外に行ってみると、違う考えを持つ人に対してまずは受け入れてみて、それもいいよねというのがあるが、日本人はそういうことが苦手である。一方で、団結するとすごい力を発揮するので、あまり悲観的にならずに、日本人の強みを生かして異分野融合研究を進めていくとよ

いと個人的には考えている。

C：〇〇人の特性、という問題では恐らくなく、私の印象だが、仕組みの問題が大きい気がする。

Q：バイオマテリアル領域のうち、超分子ではない研究の進捗に関しての意見はどうか。

A：もちろん非常に進んでいるとは思いますが、ダイバーシティーの問題と思う。バイオマテリアル学会の中心の人たちの周辺で非常に進んでいることは間違いないが、ちょっと外れたところは、私もそうだが、なかなか日が当たらないのが現状。個人としては、日が当たるように頑張っていけばいいと思うが、どうしても全部に日が当たるというのは難しいと思っている。

C：バイオマテリアル学会自体は、かなり臨床に近いところをやるので、これからという基礎の分野は、やはり注目を浴びないところもある。JSTでもバイオアダプティブ材料など、基礎の分野で面白い研究を医学の方々と進めており、まさしく神経工学はそのような領域だ。そういう分野が今少し遅れつつあるところを心配しているので、ますます発展したらいいと思う。

4.3 遺伝子の非コード領域を標的とした核酸医薬の創製と物質共生学の構築

山吉 麻子（長崎大学）

核酸医薬は、標的となる遺伝子に相補配列を有する人工核酸を生体細胞内に投与し、メッセンジャー RNA などに配列特異的に結合させることによって、その遺伝子発現を特異的に抑制するものである。

最近では様々な人工核酸が開発されており、標的遺伝子に対し高い結合能を有するものや、核酸分解酵素に対する耐性を獲得するものがある。近年では一昨年、日本初の核酸医薬「ビルトラルセン」が上市されたことは記憶に新しい。私は、このような核酸医薬の中でも、タンパク質をコードしているメッセンジャー RNA ではなく、非コード領域の標的化を行っている。

2001年のセントラルドグマによって、ヒトとチンパンジーのDNAの配列は98%相同性があることが分かった。当時はこの違いは、タンパク質をコードする遺伝子の数に違いがあると思われていたが、タンパク質をコードする遺伝子ではなくコードしない遺伝子が重要で、非コードRNAが、メッセンジャー RNA やタンパク質あるいはDNAを直接的に制御することにより、遺伝子発現を制御していることが分かっている。私は、このような非コードRNAの中でも、マイクロRNAと呼ばれる小さな核酸を標的化していて、小さな核酸の中でも、エクソソームと呼ばれる細胞外小胞に含まれるマイクロRNAを標的化している。

エクソソームは、あらゆる細胞が放出する直径100ナノメートル程度の小胞である。たとえばがん細胞の場合、自己の増殖や転移を促進する様々なマイクロRNAを搭載して遺伝子発現を制御することで、転移や増殖能を支配することが報告されている。マイクロRNAの中でも、エクソソームに入っているマイクロRNA (exosomal miRNA) の標的化をしたいと思ったのが最初の研究のモチベーションである。

通常マイクロRNAを標的化するときは、マイクロRNAに相補的な配列を有する人工核酸を用いてその機能に蓋をする手法が用いられる。しかし、exosomal miRNAはエクソソームの中に含まれているため、核酸医薬を投与しても、in vivoでエクソソームの中に導入することは困難である。また、エクソソームはどの細胞にでも取り込まれるのではなく、例えばインテグリンのクラスターが郵便番号のように働いていて、選択的に受容細胞を決めているという報告もある。したがって、エクソソームが運ばれる細胞に核酸医薬を送達することは極めて困難である。

そこで、抗体結合型の核酸であるExomiR-Trackerを考案した。ExomiR-Trackerはエクソソーム表面抗原に対する抗体に核酸医薬が複合化されたものである。これを血液中に投与するとエクソソームの表面に結合し、exosomal miRNAの機能をanti-miRが阻害できるのではないかと考えた。

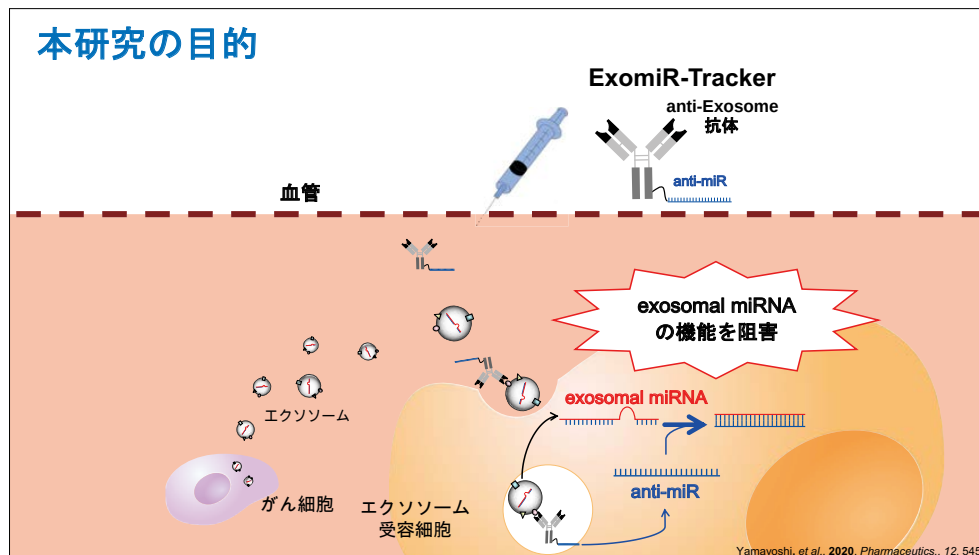


図4-3-1 本研究の目的

このようなことができるか確認するために、エクソソーム表面抗原を認識する抗体に蛍光標識して細胞内に取り込まれるか検証した。図4-3-2では、抗体を赤色で染色しているが、CD63タンパク質を認識する抗体（anti-CD63抗体）が細胞質中に取り込まれることが分かった。現在、anti-CD63抗体に遺伝子発現抑制分子が結合した物質として特許を申請しており、各国移行手続きの途中である。また、製薬企業との共同研究により実用化を目指している。

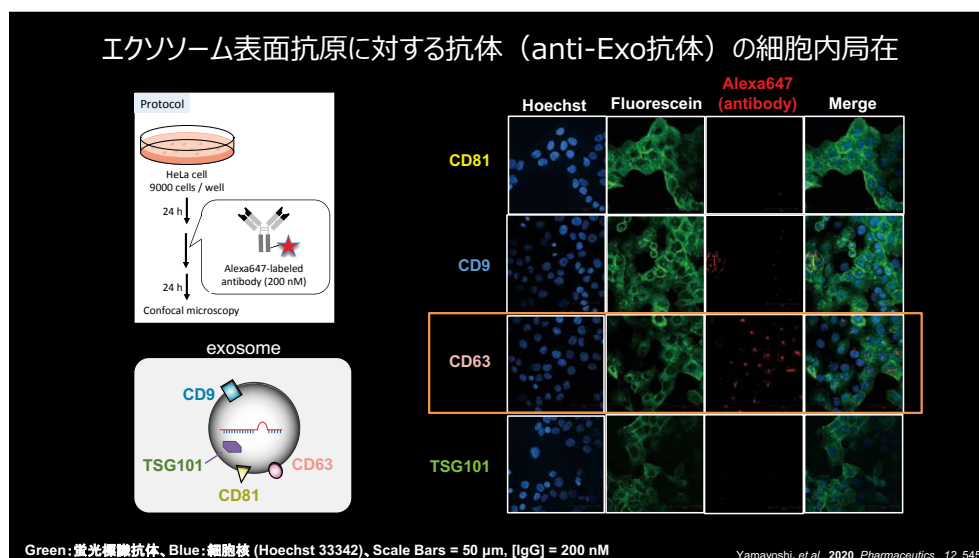


図4-3-2 エクソソーム表面抗原に対する抗体（anti-Exo抗体）の細胞内局在

これに核酸医薬を搭載したExomiR-Trackerをin vivoでヒト腫瘍モデルマウスに打ったところ、ExomiR-Trackerは腫瘍に選択的に集積することが分かった。解剖して腫瘍、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓を調べても、腫瘍に選択的に集積することが見いだされた。

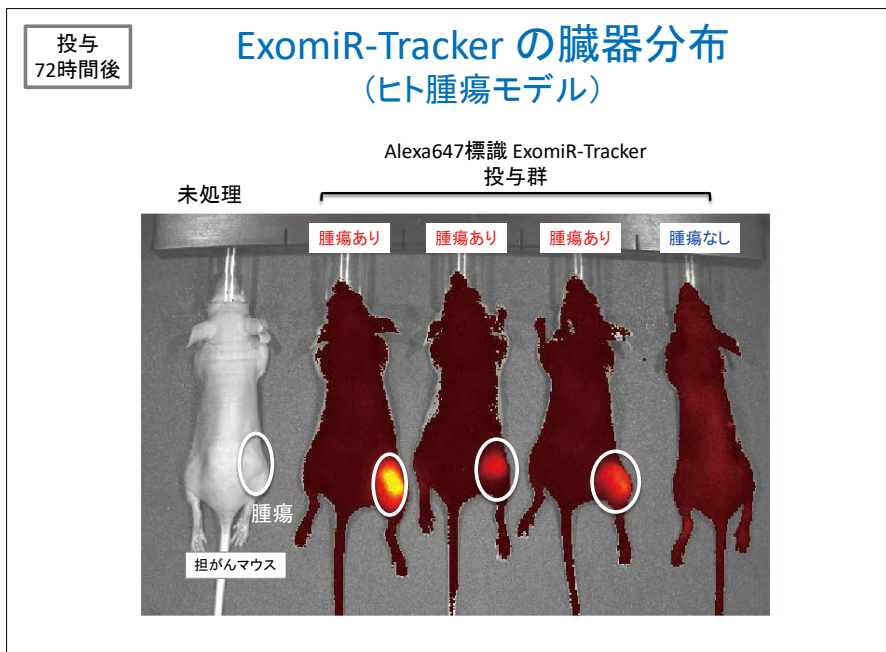


図4-3-3 ExomiR-Trackerの腫瘍集積性の評価

腫瘍に集積した後に腫瘍の増殖能を見たところ、低用量で抗腫瘍効果が見いだされた。

また、予備的検討結果ではあるが、肺転移があるマウスでは、原発腫瘍だけでなく転移先にも ExomiR-Tracker が集積していることが見いだされた。したがって、腫瘍の転移をも追跡して薬物を送達できるようなシステムへ展開していきたいと考えている。

これまでもエクソソームを薬物輸送担体として用いる手法は多くあったが、エクソソームを単離精製し、様々な処理をして、薬物等を封入して体内に戻すものだった。我々の手法では、抗体に核酸医薬を連結すればよく、また、特異性があれば核酸医薬だけでなくペプチドや低分子医薬品にも適用可能と考えており、様々な医療分野への実用化を目指して研究を遂行している。

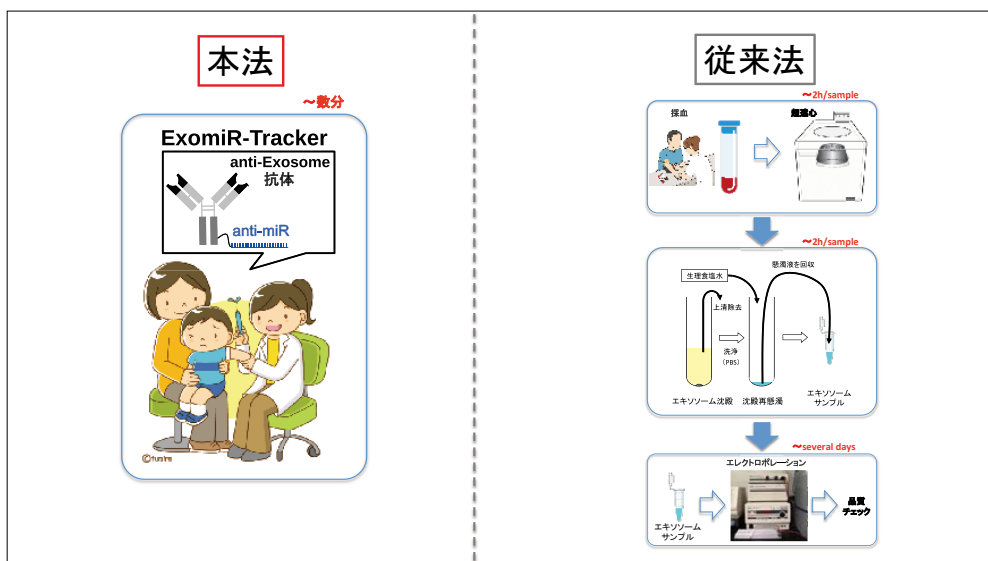


図4-3-4 ExomiR-Tracker法（左）とエクソソームを薬物輸送担体として用いる従来法（右）

また、全RNAのうち、タンパク質をコードしないRNAが大事だと申し上げたが、この事実は「DNAのどの領域がRNAとして転写されるのか」ということが重要であることを示している。このDNAの転写領域を決めている目印の一つとして、シトシンの5位炭素原子に施されるメチル化修飾（5-メチルシトシン: 5mC）が挙げられる。すなわち、5mCからメチル基を配列特異的に除去することが可能になれば、遺伝子の発現状態を転写レベルで制御することが可能となり、疾患治療だけでなく発生や分化などを解析するツール開発としても期待される。

そこで私は、DNA中の5mCを光によって除去するような光応答性の人工核酸を創製している。私の開発した核酸は、3重鎖形成核酸に光架橋性分子が付与されたものだが、これが5mCに選択的に反応する性質を持っており、光によってメチル基を取るような技術を開発しているところだ。

ソラレン導入型三重鎖形成核酸を用いて、DNA塩基間に配列特異的にソラレンを挿入し、光照射することで位置特異的に架橋体が生成されるが、これがDNAの傷だと認識されることによって、塩基除去修復などの過程を経てメチル基が除去されることを想定し研究を進めている。

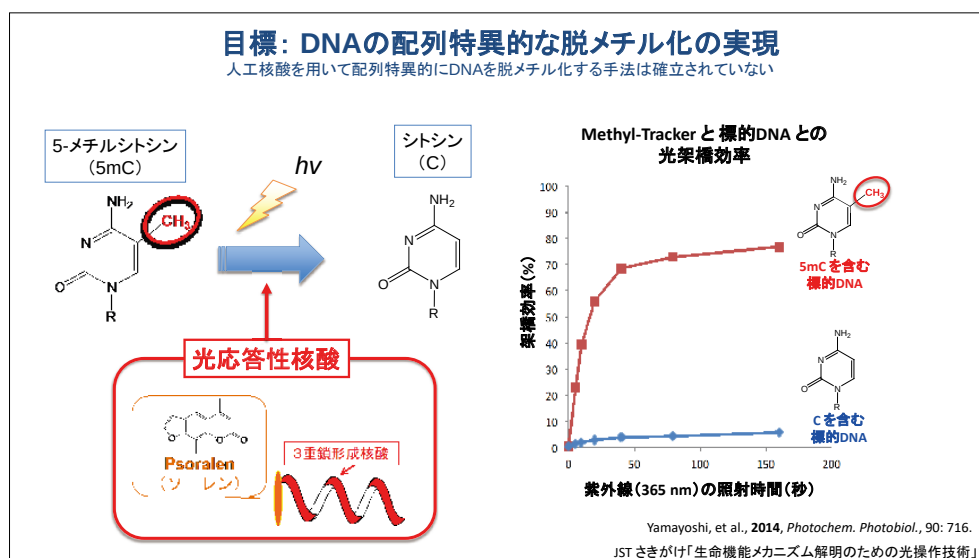


図4-3-5 目標: DNAの配列特異的な脱メチル化の実現

私は核酸医薬開発を中心に研究に取り組んできたが、最近、核酸医薬や抗体医薬などが、生体と上手く共生できていないのではと思い、「物質共生学（マテリアル・シンバイオシス）」という新たな学問分野を立ち上げるべく、学術変革領域研究（A）の領域代表として新たな研究に着手している。

生体には、母体と胎児の共生や腸内共生系など様々な共生形態が存在する。特に、「母体と胎児の共生」については私自身も経験したが、これまでの人生の中で最も神秘的な体験であった。母体と胎児の間では、胎盤が重要な役割を担って両者の共生が成立している。

一方で、最近、創薬モダリティや生体適合性材料の多様化が進み、核酸医薬、抗体医薬、細胞医薬など様々な医薬品開発が精力的に進められている。しかしながら、高度に最適化された最先端医薬品においても、生体はこれらを異物として認識してしまい、抗体産生や炎症反応などの課題が避けて通れない。また、生体適合性材料、例えばポリエチレングリコール（PEG）などと複合化した製剤も次々と開発されており、新型コロナウイルスワクチンのLNPにもPEGが使われているが、このPEGに対する抗体産生がワクチン接種後のアナフィラキシーの原因の一つと考えられているのは周知の事実であろう。

このように、様々な物質が生体内に入ってくるようになったが、様々な物質と生体との共生はうまくいって

ないのではないかと思います、物質に対しても「共生」という考えを取り入れるべきではないかと考えている。

先ほどの私のエクソソーム随伴導入システムの系だと、エクソソーム膜上にHLA-Gという分子が存在している。HLA-Gは、胎児が母胎にとって「異物ではない」という信号を入れる、胎盤に存在する分子である。そこで、エクソソームを利用することにより、核酸医薬による免疫反応を回避できるのではないかと考えて検証した。その結果、カチオン性のリポソームを用いて核酸医薬を細胞内導入した場合には炎症性サイトカイン産生量が増大したが、本法を使うことによってその免疫反応を抑制することに成功した。

先日、別のこのような会議に出席させていただく機会があり、生体内は非平衡系だというトピックが大変印象に残った。私は、物質共生学を立ち上げようとしているが、結合定数や速度論的な物理化学的な解析は、平衡が成立していないと適用できない。このため、AIなども駆使して、物質共生に関わる新たなパラメーターを見いだしたい。最終的には、環境や地球と人工物との相互作用解析にも発展できるような系ができればいいと思う。

例えばエントロピーという概念は、最初は熱効率の指標として提案されたが、後からボルツマンによって、系の乱雑さの指標として解釈し直された。AIを利用して膨大なデータからその特徴を拾い出し、後から人間によってその意味を考えるようなことができればと思っている。

【質疑応答】

Q：メチル化シトシンのメチル基を光で外すということだが、直接光で外すことは難しいと考えられる。どういった原理で外れるのか。

A：三重鎖形成核酸に光反応性の分子を導入しておき、メチル化シトシンと架橋体を形成させる。そうすると、これは遺伝子の傷だと細胞に認識されて、メチル化シトシンがヌクレオチド除去修復などで除去され、グアニンの対面にメチル化されていないシトシンが入ることで脱メチル化が進むと考えている。

Q：ExomiR-Trackerは、がんになぜ蓄積するのか。がんへの蓄積はナノテクの宿願であり非常に難しい課題だ。

A：腫瘍からは他の組織よりも多くのエクソソームが産生されている。我々は現在、anti-CD63抗体をExomiR-Trackerに用いているため、CD63を持つエクソソームには全て結合するが、相対的に腫瘍から出てくるエクソソームに結合する比率は高いと思う。エクソソームは、その産生細胞に取り込まれやすいという報告があるので、ペアレナルな細胞に導入されやすい性質を利用して腫瘍に集まっているのではないかと考えている。

4.4 がん細胞内で電子を放出してDNAを切断する新技術 新規放射線治療の確立へ向けて

松本 光太郎（京都大学）

がん細胞内で電子を放出してDNAを切断する新技術について述べる。細胞内で電子を発生させる機構として我々はオージェ効果というものを利用しており、初めにオージェ効果について説明する（図4-4-1）。ヨウ素やガドリニウム、金、銀など、比較的電子をたくさん持っている元素のことをHigh Z元素と呼ぶが、このHigh Z元素に単色X線が照射されると、そのエネルギーがK殻の電子により吸収されて、光電子がはじき出される。そうすると、外側のL殻やM殻から電子がK殻に落ちてきてエネルギーを放出し、さらに電子が放出される。この過程で放出される電子のことをオージェ電子と言う。

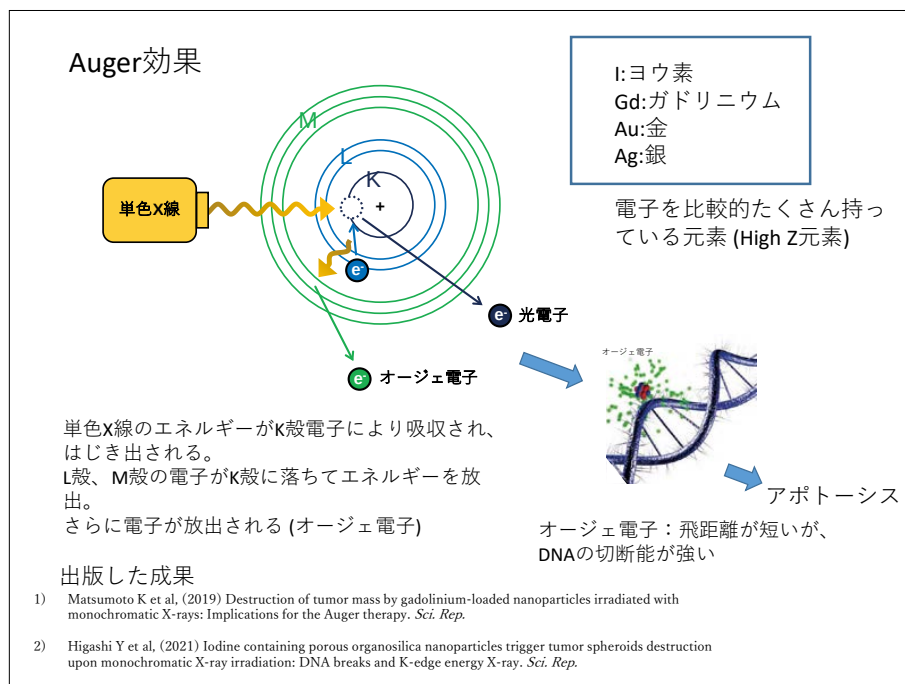
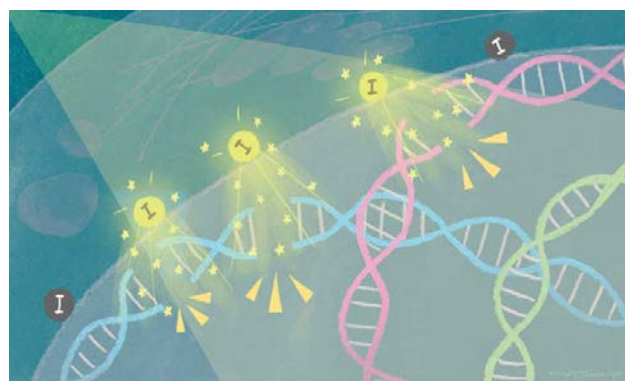


図4-4-1 オージェ効果の概念図

オージェ電子は飛距離は短い、DNAの切断能は非常に強いという性質を持つ。その性質を利用してDNAを切断し、アポトーシスを誘導する。我々はこの方法を用いて、ガドリニウムを担持したナノ粒子やヨウ素を結合したナノ粒子を用いた実験を行い、成果をあげている。

オージェ効果を最適化するには、DNAの近くにHigh Z元素を運ぶ必要がある。DNAは核膜の近くに存在することが分かっている。図4-4-2はヨウ素を例にしたイメージ図であるが、DNA切断効果を引き出すために核膜の周囲にヨウ素を蓄積し、X線を照射することでオージェ電子が放出されてDNAを切断する。このような機構でがん細胞のDNAを切ることができる。



Auger効果を最適化するには、DNAの近くにHigh Z元素を持っていく。
DNAは核膜の近くに存在する。

イメージ：京都大学 高等研究院
高宮 泉水

図4-4-2 オージェ効果を最適化した場合のイメージ図

この方法を可能にした一つの鍵がナノ粒子である。ナノ粒子を用いて、High Z元素を細胞核近傍に局在させた。我々は、生体分解型多孔性シリカナノ粒子（BPMO）というものを開発した。多孔性のため表面積が非常に大きく、High Z元素をたくさんつけられるという特徴がある。

ガドリニウムが結合したシリカナノ粒子（Gd-MSN）や、ヨウ素担持ナノ粒子（IPO）を開発した（図4-4-3）。これらの粒子は、表面をローダミンBなどの赤い蛍光物質で修飾することで細胞内の蓄積の状態を

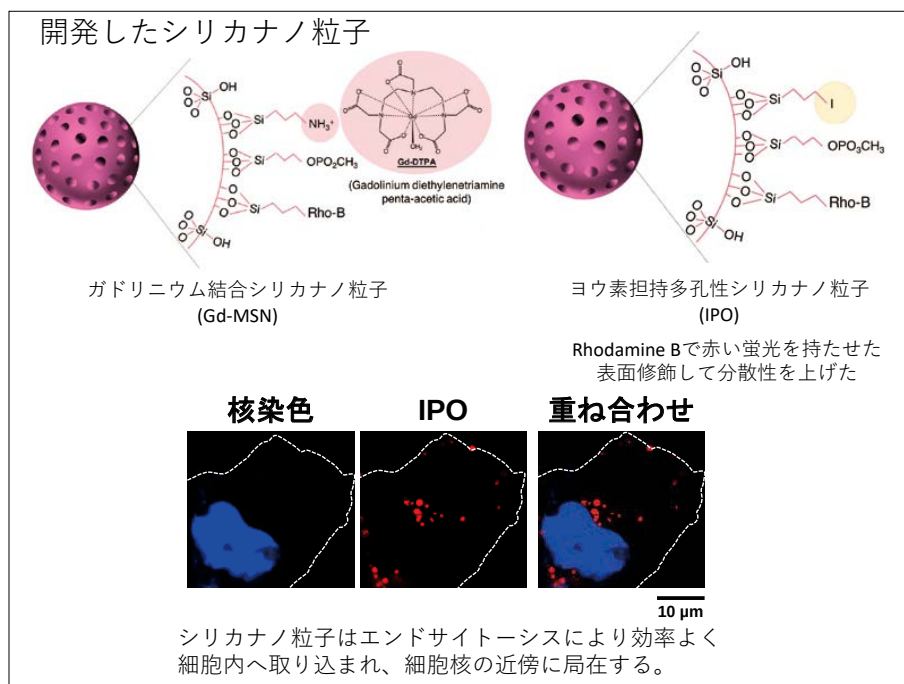


図4-4-3 開発したシリカナノ粒子とその性質

可視化できる。また、表面修飾によって負電荷にすることで液中での分散性を上げることができる。これを細胞培養液に添加すると、シリカナノ粒子はエンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれ、最終的に細胞核の近傍に局在する性質を持つことが分かった。

シリカナノ粒子が細胞核の近傍に蓄積されることが分かったので、次に単色X線を照射し、がん細胞あるいはがんの3次元モデルであるがんスフェロイドを破壊できるか検討を行った(図4-4-4)。細胞を特定のプレートに播種して直径500マイクロメートルのがんスフェロイドをつくり、ヨウ素を含むナノ粒子IPOを取り込ませた。このIPOを取り込んだスフェロイドに、エネルギー 33.2keVの単色X線を照射し、がんスフェロイドが破壊されるかどうかを調べた。33.2keVはヨウ素のK殻吸収エネルギーに近いエネルギーである。単色X線によりスフェロイドが破壊され、消えてしまうという結果が得られた。一方、ヨウ素がない場合は破壊されず、効果は見られなかった。したがって、単色X線照射によりDNAの二重鎖切断が起きてアポトーシスが誘導され、スフェロイドが破壊されるのではないかと考えた。

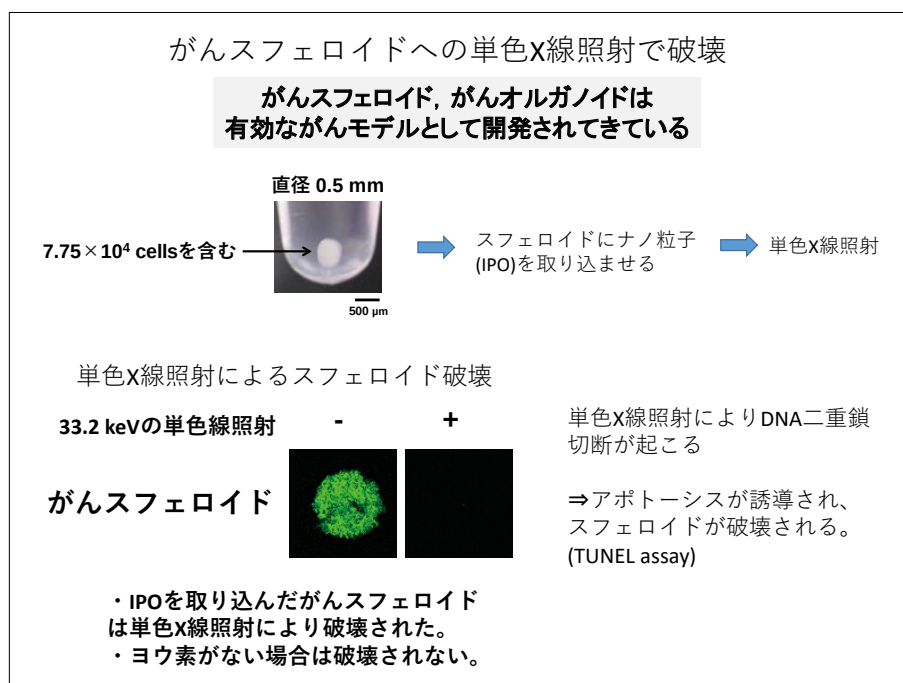


図4-4-4 がんスフェロイドにIPOを取り込ませて単色X線を照射した実験結果

次に、単色X線を用いてDNA切断の検討を行った(図4-4-5)。DNA切断の検出は γ H2AX法を用いた。DNAにはH2AXというヒストンが結合しており、二重鎖切断が起きるとH2AXはリン酸化されて γ H2AXが生成する。その γ H2AXを抗体を使って検出する方法である。図4-4-5の右側図が結果であるが、ヨウ素のK殻吸収端エネルギーである33.2keVの単色X線を照射した場合に、最も二重鎖切断が多く観測された。二重鎖切断によってクラスター切断が起きることが既に知られており、クラスター切断が起こればDNAが修復されにくいため、細胞死が引き起こされたのではないかと推測される。

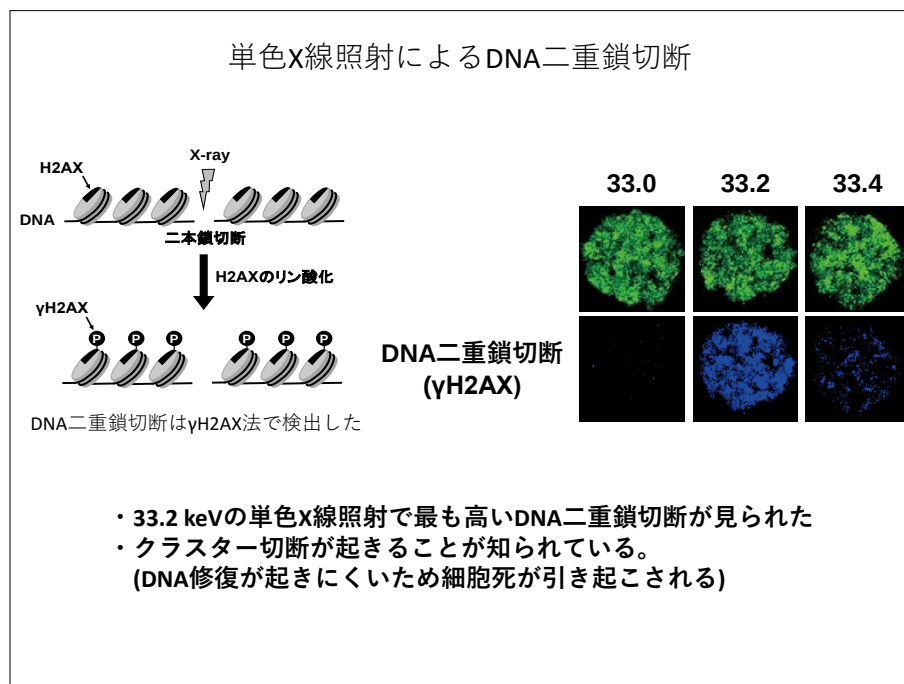


図4-4-5 γ H2AX法を用いたDNA二重鎖切断の検証実験結果

さらに、DNA二重鎖切断における単色エネルギー依存性を調べるため、0.1keV刻みでエネルギーを変えて単色X線を照射した。33.2keVのときにDNA二重鎖切断が最も顕著に表れ、エネルギー依存性が非常にシャープな効果であることが分かった。

現在、オージェ電子によるDNA切断の詳しい機構について検討している。例えば、オージェ電子照射の際にどのような性質の電子が放出されるか、DNAのどのくらいの領域にクラスター切断が起きているか、などである。また、ナノ材料の開発も行っている。これまではシリカナノ粒子を用いてHigh Z元素を細胞核の近傍に局在化させていたが、より効果を上げることのできるナノ粒子について検討を進めている。これらの研究開発により、我々の新技術が新しいタイプの放射線治療の開発につながると考えている。

現在の放射線がん治療とオージェ治療について比較する。既存の放射線がん治療では、X線のみでがん細胞を殺傷するが、オージェ治療では、細胞内で電子を発生させてDNAを切断する。また、既存の放射線治療では低酸素条件での効果が低いことが知られているが、これは活性酸素に依存する間接効果の割合が高いことによる。一方、オージェ治療では、DNAをオージェ電子が直接切断する直接効果が高いため、低酸素条件でも十分な効果がある。また、既存の放射線治療では正常な細胞を障害する副作用があるが、オージェ治療ではHigh Z元素のない正常細胞への影響は少ないため、副作用が少ない治療につながると期待している。

【質疑応答】

Q：High Z元素がDNA近傍に集まるということだったが、原理上、どれくらいの距離に存在すると効果があるのか。

A：オージェ電子は低エネルギーであり、飛程（飛ぶ距離）は数ナノ～数百ナノメートルオーダーである。したがって、細胞核の核膜の近傍にあれば飛程はカバーできる。

研究する中で分かってきたことであるが、DNAを含むユークロマチンなどが核膜のちょうど内側に蓄積している。そのため、細胞核の近傍にHigh Z元素を輸送できればDNA切断効果が非常に高いということが示されている。

Q：今後、いろいろなナノ粒子を試すということだったが、これまでに試した中で、細胞核の近傍に行きやすかったもの、行きにくかったものなどがあれば、教えてほしい。

A：ナノ粒子は、ほぼエンドサイトーシスによって取り込まれているらしいが、恐らくナノ粒子の大きさや表面チャージによって細胞への取り込まれ方が異なる。IPOに関しては、表面をホスホン基で修飾することで負電荷にし、大きさは200ナノメートル程度にすると蓄積されやすいということが分かった。

Q：オージェ効果はカスケード的にさまざまなエネルギーを持つオージェ電子が生成するが、どのオージェ電子がどのようにDNAを攻撃するのか。その中で一番有効なのは、化学結合エネルギーに相当する数eVの数倍程度、10～20eV程度ではないかと考えるが、いかがか。

A：どういった電子が出ているかというのは、まだ分かっておらず、検討中である。

C：その情報が分かると、治療効率をさらに上げられるかもしれない。

Q：生体内での実験結果はあるか。

A：今回示したのは、がんスフェロイドでのin vitro実験であるが、マウスを使った実験を共同研究で始めたところである。

4.5 リキッドバイオプシーに向けた細胞外小胞・microRNA捕捉技術の革新

安井 隆雄（名古屋大学）

リキッドバイオプシーとは、血液、尿といった様々な体液を利用した新たな低侵襲性の診断方法である。例えば、血液中を流動する循環腫瘍細胞（circulating tumor cells）、細胞の破壊・死滅に由来するセルフリーDNA、その他代謝物、タンパク質、細胞外小胞、セルフリーRNAを対象とした診断方法となっている。図4-5-1にリキッドバイオプシーの世界の研究開発状況を示す。例えば2018年にScience誌に発表されたCancerSEEKという方法を基に、Thriveというスタートアップができています。また、マルチオミクス解析技術をもとにfreenomeという会社が精力的な資金調達やサービス展開を進めている。さらに、GRAILという会社がセルフリーDNAに対するリキッドバイオプシーで今世界をリードしている。このように、世界ではリキッドバイオプシーをベースとしたスタートアップが活躍している状況にある。



図4-5-1 リキッドバイオプシーの世界の研究開発状況

一方、国が主導する研究開発としては、日本ではNEDOプロジェクト「体液中マイクロRNA（microRNA）測定技術基盤開発」が進んでおり、アメリカではNIHのExtracellular RNA Communication、ヨーロッパではEpiRNAというプロジェクトが生まれてきており、様々な研究開発が進められている。その中で、私は細胞外小胞に焦点を当てて研究を進めている。細胞外小胞（extracellular vesicles; EV）は、全ての細胞から放出される脂質二重膜の小胞であり、タンパク質やセルフリーDNA、microRNAを含むことが知られている。細胞外小胞は、様々な疾患、例えば脳疾患や自己免疫疾患、がん、心疾患、感染症と関連があることが幾つかの論文で報告されており、特に内部に含まれる遺伝子発現の微調整役のmicroRNAが重要な役割を果たすのではないかと世界中で様々な研究がされている（図4-5-2）。

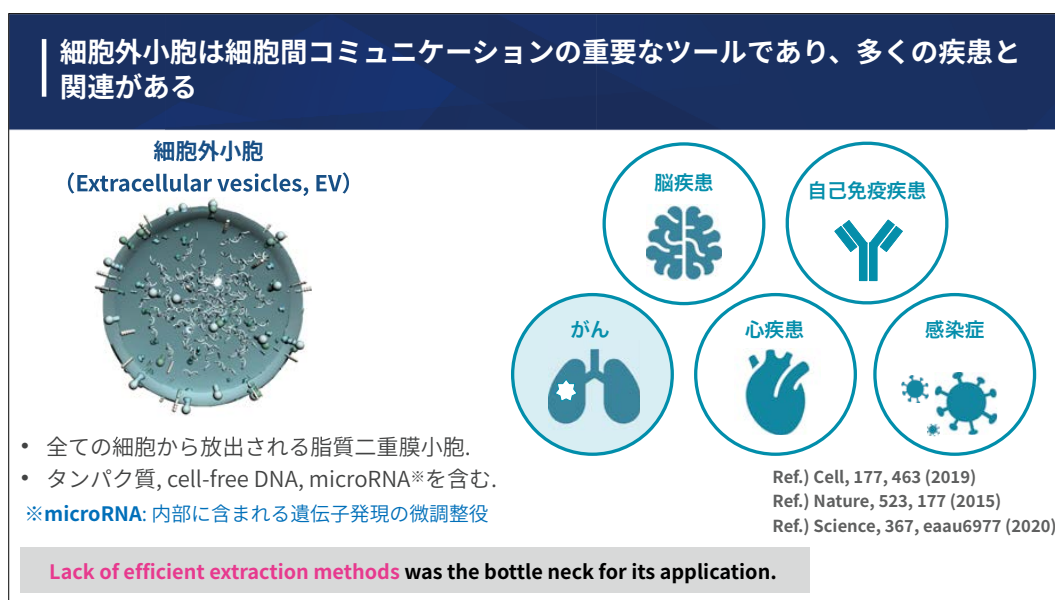


図4-5-2 細胞外小胞と多くの疾患との関連性

この細胞外小胞の研究を行う際に、十分なサンプル量を確実に集める方法がないということが大きなボトルネックとなっており、それを解決するために私はナノ材料を使った新たな捕捉概念の提唱を行っている。従来より、直径100 nm程度である細胞外小胞に対して、密度や表面の抗原、表面電荷といった物理的、化学的、生物学的パラメーターに基づいて従来より分離手法が提示されている。例えば、最も使われている超遠心法は、密度に基づいた分離方法である。また、抗原抗体反応を用いるイムノアフィニティー法は、表面の個々の抗原に対して化学的な結合親和性を利用した分離方法になっている。これらの方法について外力を概算すると、超遠心法では10 pN程度、イムノアフィニティー法では解離定数 K_D が1 nMから0.1 nMくらいとなっている。一方で、表面に電荷を持つナノ材料として酸化ナノワイヤを用いると、外力は100 pN程度となり、超遠心法に比べて10倍ほど強くなる。また、ナノ材料を用いて、細胞外小胞の水力学の抵抗力が小さいことを利用する分離も考えられる。これら2つのトピックを紹介する。

まず1つ目に、ナノワイヤを使って、尿中microRNAを解析して脳腫瘍と非がんの識別を可能にした。がん患者と非がん患者の尿1 mLを採取し、図4-5-3のようなマイクロ流路とナノワイヤで作ったデバイスの中に尿を導入し、細胞外小胞をナノワイヤで捕捉し、microRNAを取り出した。その後、microRNAを精製・検出し、機械学習解析を行うと、非がんと脳腫瘍で診断率98.6%、感度99%、特異度98.1%という結果が得られている。また、脳腫瘍患者の脳腫瘍を1細胞レベルまでばらばらにし、そこから作成されるオルガノイドを培養し、そのオルガノイド中の細胞外小胞のmicroRNAと脳腫瘍患者の尿中microRNAを比較すると、一致率が73.4%と高い数字が得られている。このような知見をもとに、脳腫瘍から尿まで実際に細胞外小胞が届いているかを確認するため、マウスを利用した実験を現在進めている。予備的な段階だが、脳腫瘍由来の細胞外小胞が尿中で得られるという結果が得られている。

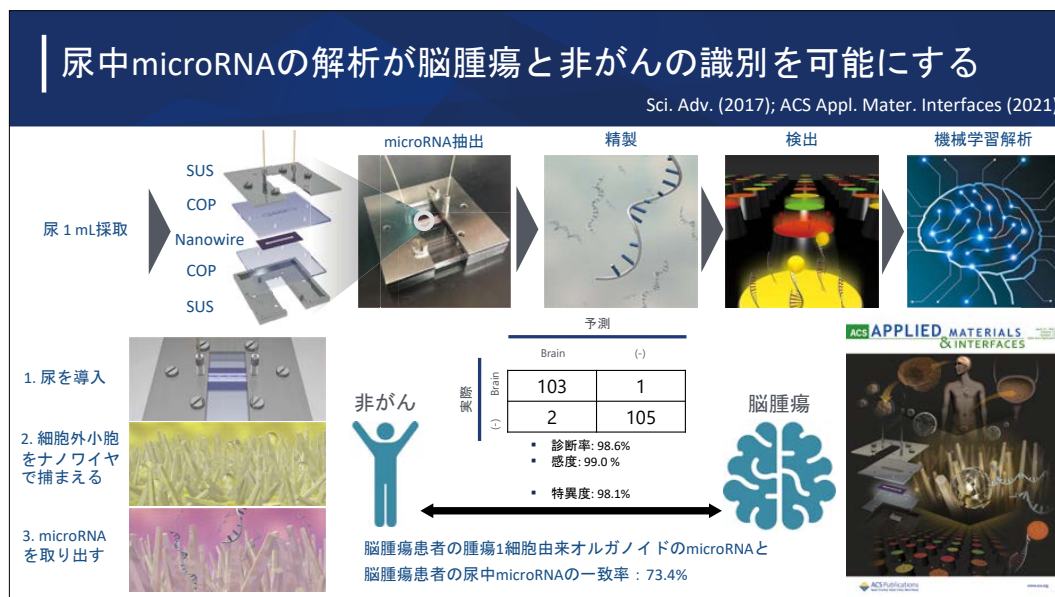


図4-5-3 ナノワイヤデバイスを用いた脳腫瘍と非がんの識別

続いて2つ目のトピックで、組織表面のリキッドバイオプシーの研究に取り組んでいる。組織表面のリキッドバイオプシーでは、組織表面の細胞外小胞を採取することができるナノ材料の開発を行なっている。必要なナノ材料の特徴として、非常に大きな比表面積を持つことがあげられる。大きな比表面積をもつナノ材料を開発し、そのナノ材料を用いて組織表面の細胞外小胞を取り出すことに成功し、洗浄処理後にmicroRNAを取り出すことにも成功している。この手法で取り出した細胞外小胞を解析することで、新たな知見が得られつつあり、現在研究を進めている。さらに、この方法は今までアクセスできなかった組織表面にアクセスできる技術であり、今後の研究展開に期待している。

今後の展望としては（図4-5-4）、細胞外小胞やそのRNA（extracellular RNA; exRNA）の生命現象の関わりが実はとても強いのではないかという仮説が見えてきている。例えば体内のexRNAの地理的なアトラスを描くことができれば、今まで臨床学的に分かっていた「なぜこの部位には転移しにくいのか」といった知見に対して、細胞外小胞やmicroRNAの観点で説明ができるようになるのではないかと考えている。



図4-5-4 細胞外小胞とexRNAのアトラス

【質疑応答】

- Q：細胞外小胞にも色々な種類のあることが知られてきているが、この方法で、細胞外小胞の多様性のよ
うなものがどの程度分かるか。
- A：ナノワイヤの例では、ナノワイヤの種類によって分離できるもの、できないものがあることが分かってき
ているので、材料を変えることで細胞外小胞の分類学に貢献できると感じている。
- C：エクソソームの循環などを調べる技術としての可能性を感じた。DDSの観点からも興味深い。

4.6 ナノカーボンバイオロジー

伊丹 健一郎（名古屋大学）

私は合成化学、有機化学をベースにした研究者であり、これまで存在していない、つまりライフサイエンス、バイオ、ナノバイオ分野で活用されることがない新分子、新物質、新材料を導入することでサイエンスとテクノロジーの両面で非線形のブレイクスルーを生み出すことができればと考えている。

また、所属するトランスフォーマティブ生命分子研究所（ITbM）では、異分野融合、具体的には合成化学、植物科学、動物科学、理論化学とイメージングの融合研究を進めている。

我々は、有機合成化学の力で、美しい、そして新しい炭素の形をつくるとともに、破格の物性や機能の一端というものを明らかにしたいと考え、これまで様々な新しい炭素の形、分子、ナノカーボンというものを作ってきた。それらは、主にエレクトロニクス材料への展開という形で、これまで様々なところで活躍してきた。これは直近3年間の企業との産学連携で、例えば電荷輸送材料とか有機ELとか結晶性・配向性炭素材料、高熱伝導性3次元炭素材料などがある。

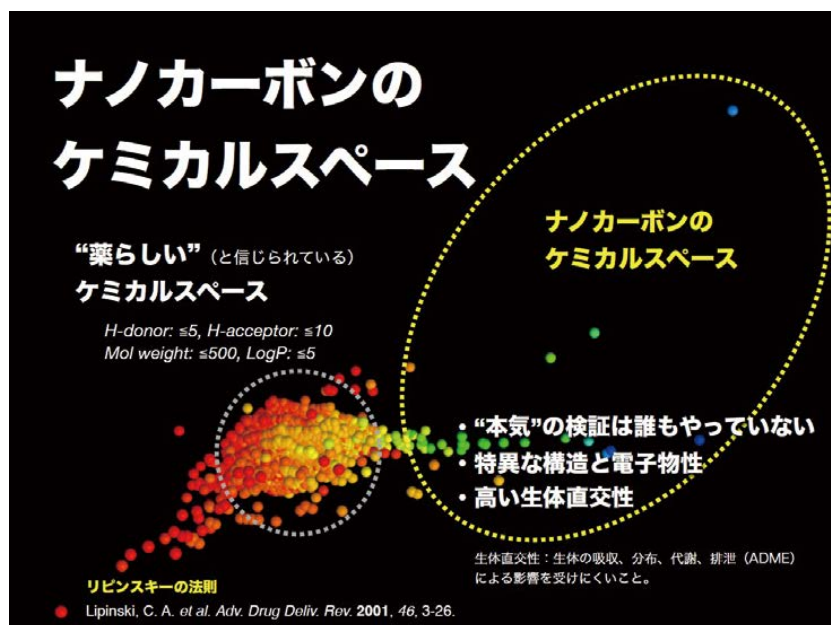


図 4-6-1 ナノカーボンのケミカルスペース

一方、ナノカーボンバイオロジーは、4年ぐらい前から我々が研究を始めた、次の新しい方向性である。まずナノカーボンをバイオに使っていくという形で考えたときに、一つの究極のゴールは、多分創薬だと考えられるが、これにはほとんど誰も賛成しないと思われる。その理由は、いわゆるリピンスキーの法則で、分子量やLogPの値によって、薬になりやすいケミカルスペースの目安がある（図4-6-1）。これと比較すると、ナノカーボンは、全くのアウトライヤーになる。従って、ナノカーボンが薬になる、生物活性を示すということは一見、信じ難いものの、実は本気の検証は誰もやっていないというのが現状である。ナノカーボンには特異な構造と電子物性があり、高い生体直交性もあるので、意外と活躍できるのではないかと考えて研究をスタートした。

そこで、ナノカーボンバイオロジーに向けた取組として、主に3つぐらい活躍できる可能性のある分野を考えた。1つ目はイメージングや診断、治療、2つ目はデリバリー担体に使うことで、3つ目が多分一番ハードル

が高い、そして個人的には面白いと思っている、生物活性の有無だと考えられる。以下、それぞれについて、現状を紹介する。



図4-6-2 ワープド・ナノグラフェンの構造

2013年、我々のグループでは、図4-6-2に示したワープド・ナノグラフェンと呼ばれる、馬の鞍のように非常に湾曲した新しい炭素の形を合成した。この分子は、多くの企業が電子デバイスの応用研究に取り組んできたものであるが、バイオの方向性ではどのような応用が可能であるかという興味から、非常にクレイジーではあるが、我々の研究室で少し試すことにした。その結果、このワープド・ナノグラフェンは、簡単に細胞の中に入ることができ、なおかつ、ほとんど細胞毒性がないということも分かった。さらに、ワープド・ナノグラフェン分子は蛍光性があるため、生きた細胞でイメージングすることも可能であった。また、このワープド・ナノグラフェンを取り込んだ細胞に少し光を当てると、細胞死を誘導することができた。いわゆる光線力学療法の手法も使うことができる。もちろん健康な細胞を殺してしまうのではなく、がん細胞などがターゲットになれば、これは非常に有用な一つの方法だと考えられる。

もう一つ、ナノカーボン類の生体へのアフィニティーをさらに少し高めるといふ形を見据えて、タンパク質と分子ナノカーボンのハイブリッド化にも取り組んでいる。独自の方法で、共役高分子、半導体性高分子、あるいはナノカーボンをしっかりと作れるという方法論を確立した上で、タンパク質とのハイブリッド化というものにも成功している。例えば、人の血清アルブミンと、ポリチオフェンのハイブリッド分子を作成してHEK293T細胞に付すると、膜上に局在化することができた。換言すれば、半導体分子が膜上に局在化できるという、非常にユニークな特徴が見えてきた。これで何か少し応用展開の足がかりができたと思っている。

また、2つ目のデリバリーについては、核酸医薬のみならず、ゲノム編集あるいは育種においても、核酸のデリバリーというのは非常に大事なテクノロジーである。従来では、パーティクルガン法、マイクロインジェクションといった物理的な方法に加えて、リポフェクションという化学的な手法、あるいはアグロバクテリウムなどのような生物学的な手法が用いられてきた。核酸デリバリーにおいて、ナノカーボンが活躍できるかどうかについては、実はカーボンナノチューブに、DNAのようなカチオン性のものを装着させると、DNA単独では当然通過できないところをしっかりと通過できるということが少しずつ分かってきた。核酸輸送可能なナノカーボンとしてこれまで知られているものは、アミノ基のついたカーボンナノチューブとかフラーレンとか、酸化グラフェンなどを挙げることができるが、種々の機能を付与したり調整ができる、実用的な分子骨格というのは、現状ではまだ登場していない。我々は、カーボンナノチューブは混合物で扱いにくく、毒性もあるといった問題はあるものの、こうした問題点の限界を突破する方法として、ライブラリーに基づく発見型で見つけるアプローチと、もう少しデザインするような形で超分子ナノカーボンポリマーを作るという方向性で、これらの問

題にアプローチしてきた。その過程で、KTU059という非常に小さな分子が、プラスミドDNAをHEK293細胞の中にデリバリーしてちゃんと発現させる能力があるということが分かった。これはKTU059を全く使わないものに比べたら3000倍ぐらい発現が上がる。加えて、構造修飾をちゃんとしていくと、オリジナル分子（KTU059）よりもかなりデリバリー能力が向上しており、しっかり遺伝子発現もさせることができるもの（KTU207）ができています。現在、トランスフェクション試薬はたくさんあるが、ベンチマークの一つであるリポフェクタミン2000、これに比べて4割のところまでやっと1年以内に来ることができたので、今後、活性を高くする、構造ユニークという形で進めていきたいと考えています。究極的には、これを使って新しい品種、植物、特にハードルの高い植物に応用するというプロジェクトを現在融合研究として実施中である。

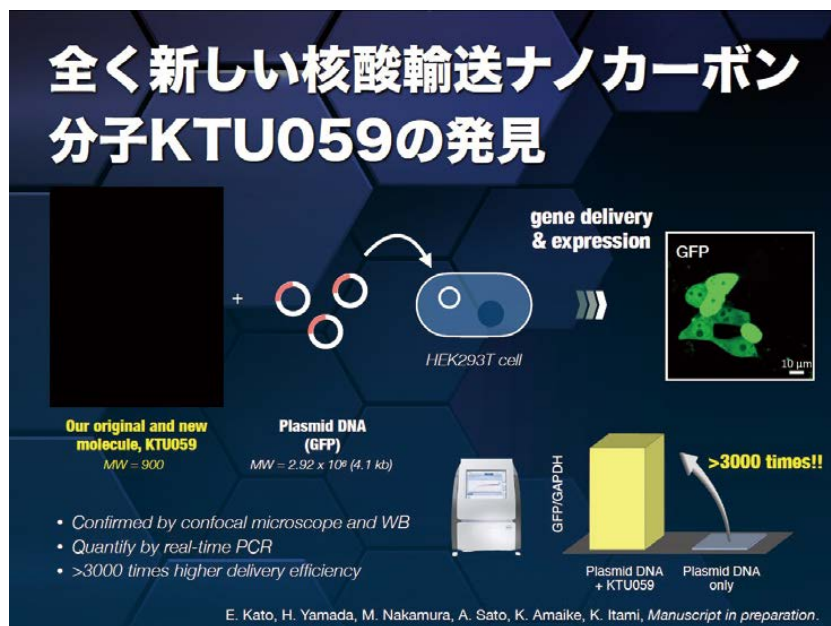


図 4-6-3 新しい核酸輸送ナノカーボン分子の発見

最後に、ナノカーボンに生物活性はあるかという点について紹介する。我々はナノカーボンを植物に吸わせ、遺伝子発現プロファイル調べたところ、毒性はあまりないものの、図 4-6-4 に示すように、幾つかの遺伝子の発現プロファイルに変化があったため、確かに生物活性はありそうだと思っている。

また、細胞レベルでは、哺乳類の体内時計、24 時間の概日リズム、これを制御するナノカーボンを発見している。体内時計は、病気と非常に密接に関連しているので、これ自体興味深いですが、実は我々が発見した分子は、急性骨髄性白血病、あるいは膠芽腫を患ったマウスに投与すると、確実に生き延びる時間が延びるということも明らかになっている。

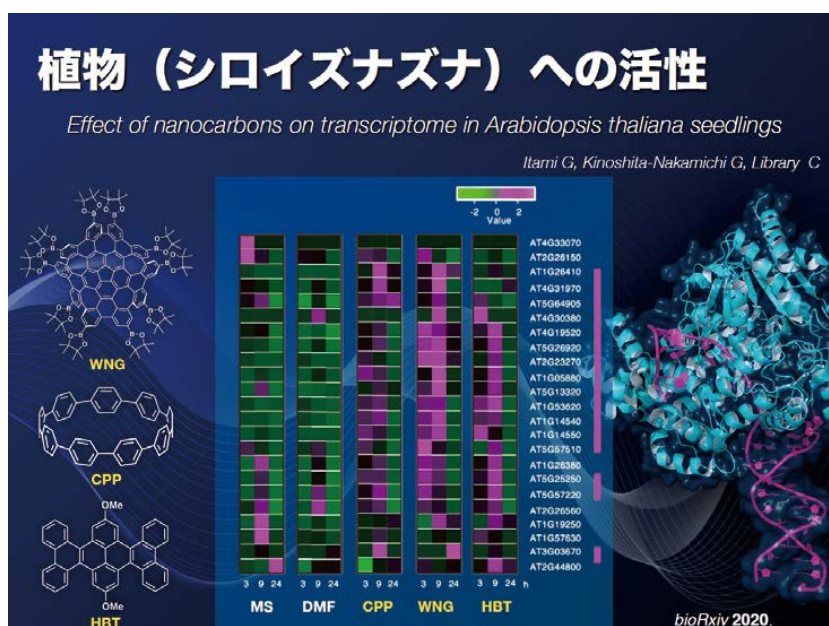


図 4-6-4 ナノカーボン分子の植物に対する生理活性の探索

5 | 人工分子システムのデザイン・創製

5.1 デザイナーファージの創出と社会実装

安藤 弘樹（岐阜大学、アステラス製薬株式会社）

私はファージセラピーの社会実装を目指している。ファージセラピーとは、細菌に感染するウイルス「ファージ」を使って細菌感染症を治療・予防するものである。薬剤耐性細菌感染症の世界的な蔓延により、ファージセラピーが注目されている。薬剤耐性細菌感染症はサイレントパンデミックとも呼ばれ、何も対策がなされなければ、2050年には年間1,000万人が死亡するとの報告がある。日本でも薬剤耐性に関する国家行動計画が策定され、この中にはファージセラピーについての言及もある。

私は、2012年にMITでデザイナーファージを創出するための研究を始めた。ファージの改変は一部のモデルファージを除いて極めて難しく、まずは改変技術の開発に取り組んだ。この技術を使い、私たちがシンセティックファージ（synthetic phage）・人工ファージと呼んでいるものを作った。

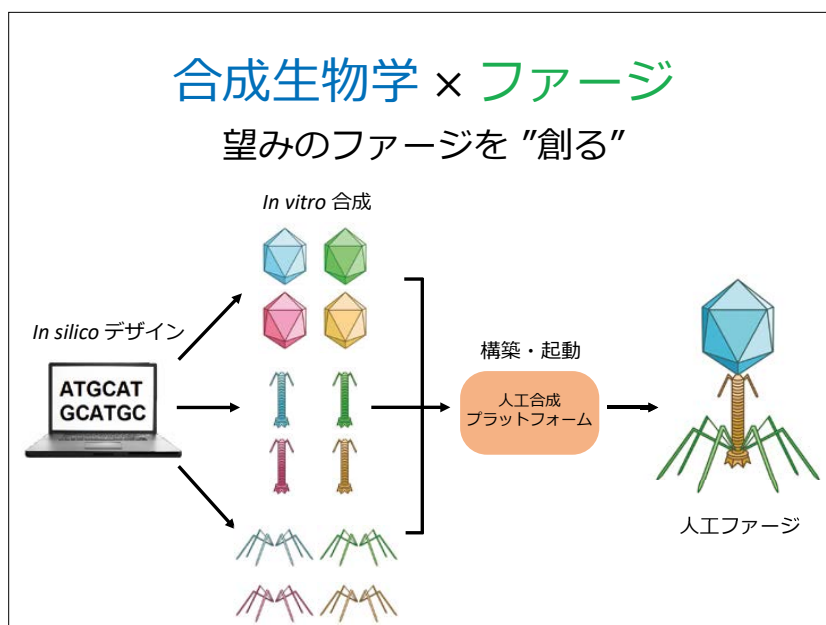


図5-1-1 人工ファージ

私がファージ研究を始めてからずっと掲げているキーワードが、「合成生物学×ファージ」である。自然環境にはたくさんのファージが存在するが、それらから得られる知見や材料を使い、合成生物学的手法によって自分たちの欲しいファージをデザインして創っている。ファージセラピーにおいて、デザイナーファージ・人工ファージが野生型ファージよりも優れているということではない。それぞれに長短所があり、野生型と人工型の両輪で進めるべきだと考えている。



図 5-1-2 人工ファージセラピーに必要な研究

合成生物学的アプローチの例として、大腸菌にしか感染できないファージの宿主特異性をデザインして他の細菌に感染できるようにさせたり、ファージ耐性菌を抑える Phagebody というコンセプトに基づいて宿主特異性をデザインしたり、CRISPR-Cas を搭載して塩基配列特異的に（毒素遺伝子や薬剤耐性遺伝子を持つ細菌だけを）殺菌するといったことも可能になっている。

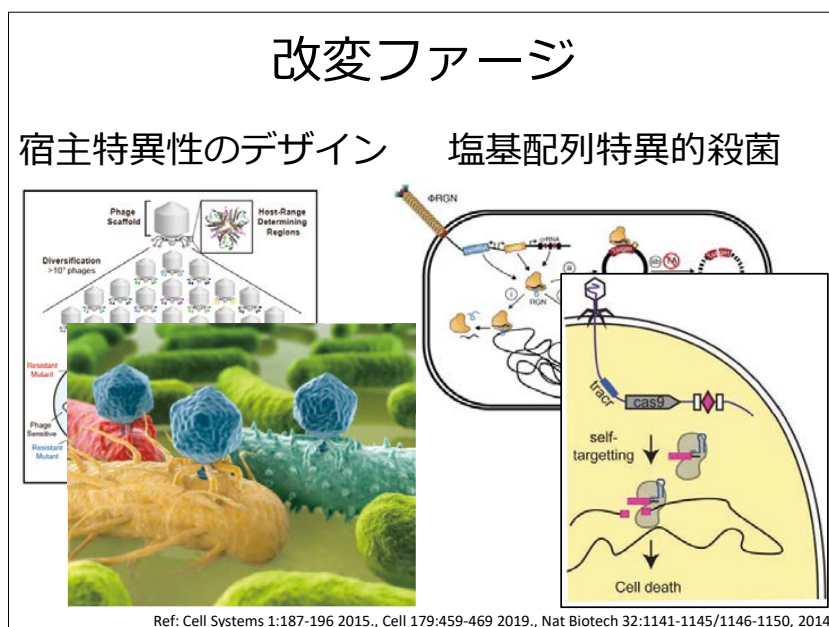


図 5-1-3 合成生物学的アプローチの例

ファージセラピー研究は、欧米のスタートアップが先行している。スタートアップにメガファーマなどからの投資が入っている。一方、国内に目を向けると、ファージセラピーを指向したスタートアップは私の知る限りでは存在しない。国内製薬企業の中でファージセラピーへの取り組みを広報しているのはアステラス製薬社の

みである。私たちのことで恐縮であるが、岐阜大学とアステラス製薬社が2020年3月にファージバイオロジクス研究講座を開設し、私が主宰させて頂いている。また、アステラス製薬社内にもベンチャーユニットとして、次世代ファージセラピー研究ユニット（Venture Unit Engineered Phage Therapy）を作った。両サイトで研究開発を進めているところである。



図 5-1-4 国内での取り組み事例

薬剤耐性抗酸菌症に対する世界初の改変ファージを使ったファージセラピーが報告されている。一方で、改変ファージを使うことに対する懸念や課題もあがってきている。例えば、改変ファージをどのように封じ込めるか、というのは極めて重要な課題である。物理的な封じ込めというのは現実的ではない。天災や人災を完全に防ぐことはできないからだ。いち生物、いちファージの中で完結するような封じ込め策が必要だと考えられる。2017年に帰国してから、すぐにファージの生物学的封じ込め技術の開発を始めた。本日は詳細を申し上げないが、ファージとしての機能を持ちながら、必須遺伝子を欠いているファージを開発した。これは、標的細菌に感染して殺菌するが子孫ファージを産出しない（産出できない）ファージである。*In vitro*の実験では、生物学的封じ込めファージは野生型ファージと遜色ないレベルの殺菌性を示した。生物学的封じ込めファージを使ってマウス敗血症モデルに対するファージセラピー実験を実施したところ、未治療群が3日目で全滅するところ、当該ファージ投与群では半数以上のマウスが生存していた。

今後は、*de novo* ファージ合成に関する研究が重要になると考えている。詳細は申し上げられないが、比較的大きなサイズのファージゲノムを化学合成し、機能的なファージを起動（rebooting）することにも成功している。改変ファージ、遺伝子組換えファージ、人工ファージの有用性が実証されれば、生物学的封じ込め策の必要性もさらに高まるだろう。今後は、ファージの設計ルールを理解や無細胞起動系の構築などに注力し、より柔軟なゲノムデザイン、より効率的なゲノム構築と起動を可能にしていきたい。

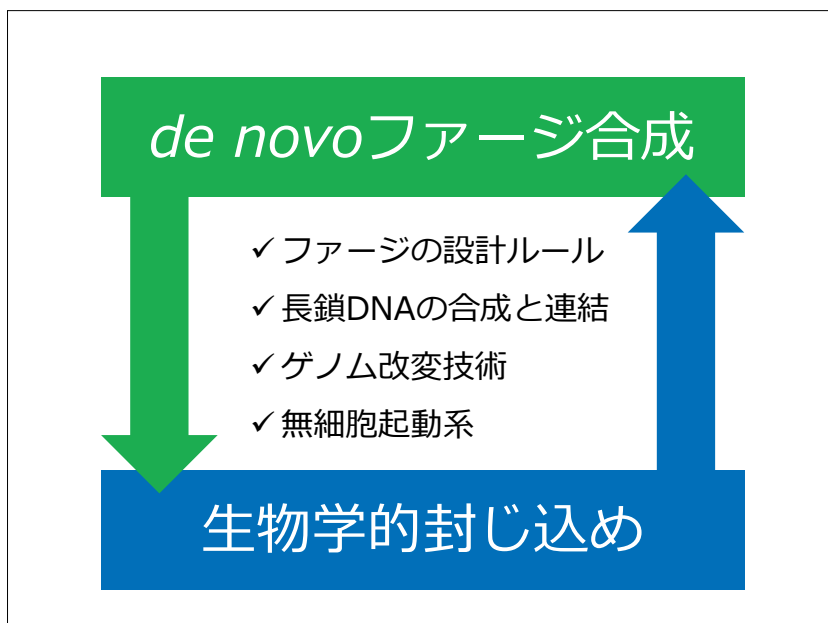


図5-1-5 *de novo* ファージ合成

【質疑応答】

Q：ファージセラピーでも遺伝子をバクテリアに導入することから、遺伝子変異により耐性をもつバクテリアが出てくると思うが、どのように対処するのか。

A：基本的には耐性が例外なく生じると考えている。その対策としては、図5-1-5で紹介したような手法や、ファージ耐性菌にも対応できる複数のファージをカクテルにしておくといったアプローチが必要と考える。

Q：医療現場から安全性の懸念を耳にすることがあるが、改変による安全性への影響はあるのか。

A：野生型では人への有害事象は報告されておらず、問題ないと考えている。一方、改変ファージについては、例えばCRISPR-Casを搭載した場合のオフターゲット等、技術的な検証がまだできていない部分があるが、そういった点をクリアできれば基本的には安全であると考ええる。

Q：ファージの大量生産の検討状況は？

A：力価の高いものを作ることが課題であり、条件検討している。

Q：ファージセラピーの臨床での実装はどのような状況か。

A：欧米では、緊急性の高い薬剤耐性菌をターゲットとした臨床試験が始まっており、数年以内に何かしらの成果が出てくると期待している。一方、特殊な施設内でしか扱えない細菌や、培養が難しい嫌気性菌に起因する感染症ではファージセラピー研究が遅れている。ファージの改変については、技術的ハードルはまだ高いと感じている。

Q：ファージセラピーにおいてナノテクノロジーが貢献する余地はあるのか。

A：ファージそのものではなく、ファージの機能を模倣するもの、例えば宿主特異性がある殺菌できるナノ粒子などを開発する、といった方向性は考えられる。

5.2 DNAナノデバイスの開発とメカノバイオロジー研究への応用

岩城 光宏（大阪大学、理化学研究所）

生きている細胞内で分子が機能している状況を、1分子の解像度で観察して理解することを目標に研究を行っている。そのための1分子蛍光観察技術や、操作技術の開発を続けてきた。ここ10年ほどは、DNAを材料にしてナノテクノロジーを組み合わせ、細胞の力を蛍光で計測するセンサーの開発や、超解像イメージング技術の開発を行っている。主にメカノバイオロジーの研究である。

近年のメカノバイオロジー研究の背景として、ほぼ全ての細胞は周囲の環境から受ける様々な物理的な力刺激に応答して、発生やホメオスタシス、病気などの幅広い生命現象と密接に関わっていることが知られてきている。特に重要な発見として、間葉系幹細胞を硬さの異なる基板上で培養すると、その硬さに応じて神経や筋肉、骨の基になる細胞へそれぞれ分化が制御されることが挙げられる。細胞は外部のメカノ情報を処理し、遺伝子発現パターンを変えている。しかしながら、どのようにしてメカノ情報を処理しているのかは未解明の部分が多い。その技術的なボトルネックの一つとして、細胞表面や組織内部で生じる「力」をイメージングする技術が不足していることが挙げられる。

そこで私たちはDNAを材料にした「分子フォースセンサー」というものを開発し、細胞の力を分子レベルで測定することを試みている。例えば、細胞内に力がかかると、センサーとしてDNAが変形して蛍光を発するような設計を施すことで、細胞の牽引力の時空間的なパターンをモニターすることが可能になっている。下図は、細胞接着過程における力をモニターした例示である。

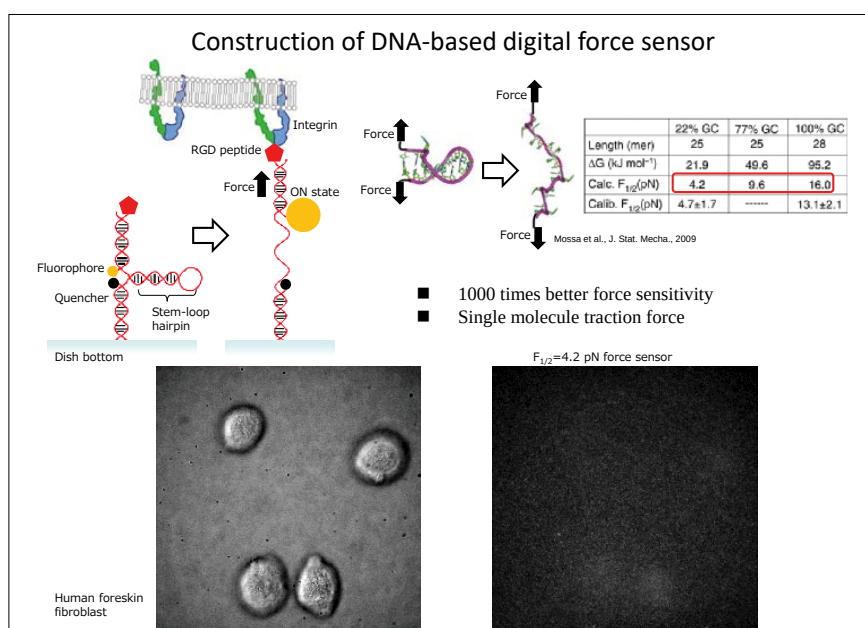


図 5-2-1 DNA-based digital force sensor

ただし、このようなセンサーはDNAの一部をアンフォールドする平均力というものがあり、その前後で光るか光らないかといった、いわゆる0か1かのデジタルな情報しかモニターできない。現状の技術では、力の絶対値が分からず、力の向きも分からないため、力の情報量としてはやや物足りないものがある。そこで、より詳細な力の情報をもたらしてくれる機能的な分子フォースセンサーの開発を進めている。同様にDNAを材料にしたデバイスであるが、「DNA origami」という技術をベースにし、様々なナノ構造物を作成することが

可能な技術を用いている。この技術を応用して、Nanospringと名づけたコイル形状のばね構造を設計した。タンパク質より少し大きいくらいのサイズであり、コイルの巻き数や半径、線の太さを変えることで、ばねの硬さをプログラムすることが可能である。幅広いスケールの力に応じて伸縮することが可能であり、広いダイナミックレンジで力をセンシングできると期待して作成した。

実際にばねとして機能することを示すために、音響力顕微鏡という手法を用いてNanospringを一本ずつ伸縮させて調べた。伸びと縮みで同じばね物性を示し、溶液環境下である様々な細胞培養液などの条件下でもばねの硬さや物性がほとんど変わらないことを確認している。

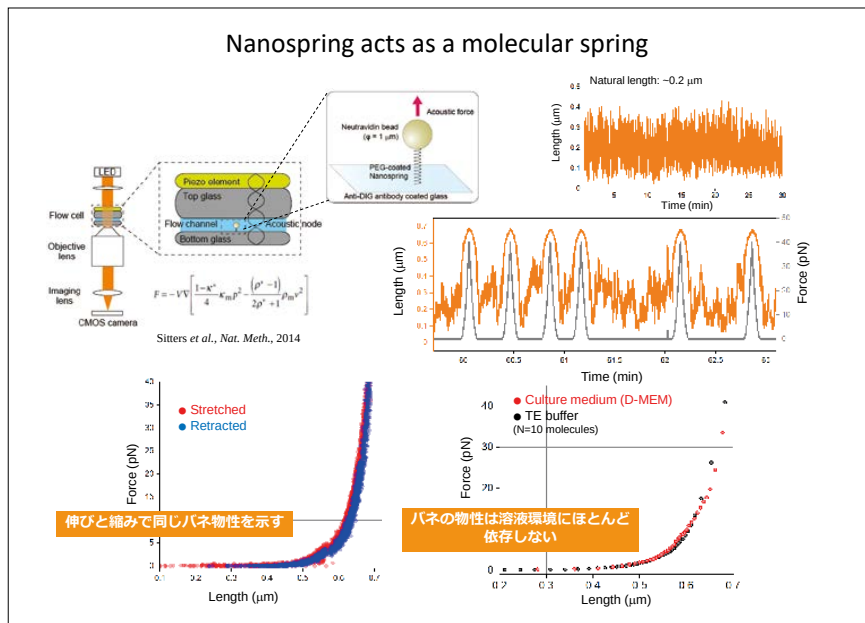


図 5-2-2 分子ばねとして機能する Nanospring

力をセンシングする例として、力を自立的に発生するモータータンパク質（メカノセンサータンパク質ともいわれる）の力計測では、Nanospringにモータータンパク質を連結すると、モーターが動き、伸縮を蛍光観察することができる。その画像解析から、ばねの長さや発生力の連続的な変化を1分子の高感度で捉えることができるようになっている。また、細胞の牽引力を1分子レベルで測定した例として、接着斑と呼ばれる領域に局在するインテグリンというレセプターにNanospringを連結し、インテグリン1分子に由来する牽引力を観察する系を開発した（図5-2-3）。細胞の外にあるばねは熱的に揺らいでいるだけだが、接着斑の中のばねは、ばねの伸展が頻繁に確認でき、一定の力の向きを示している。デジタル的なフォースセンサーとは違い、力の向きが分かることと、力の時間的な変動がアナログな情報として検出することができる。

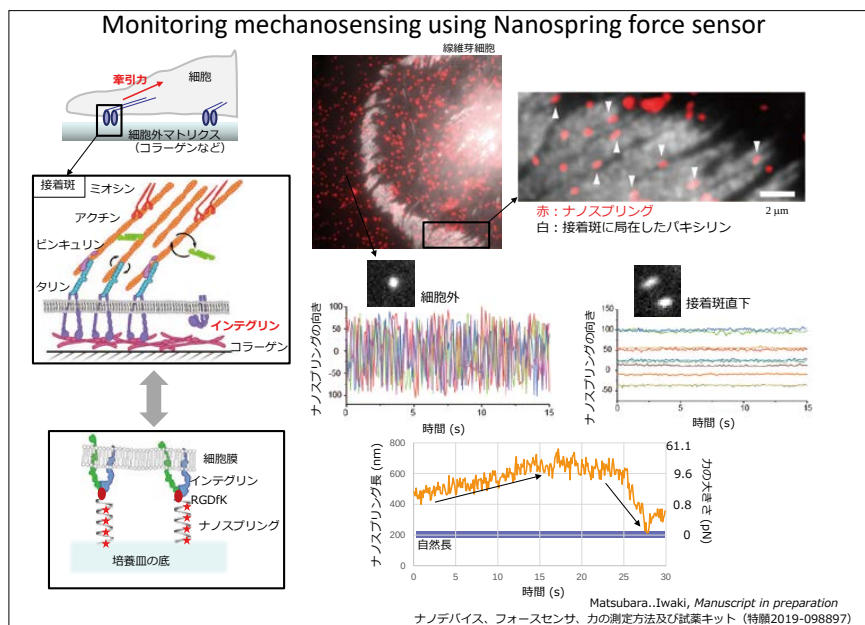


図5-2-3 Nanospringカセンサーによる、細胞の1分子レベルの牽引力測定

細胞はインテグリンを介して、様々な分子が関与して周囲の硬さをセンシングして、分化、制御等を行っている。その分子メカニズムを調べる際に、力の変動を1分子レベルで平均化することなく観察できる系は有効な手法となる。近い将来に、DNAメカノテクノロジーと呼ばれるような技術を開発することが目標の一つである。分子の力をただセンシングするだけのデバイスではなく、例えば光を使ってばねを伸縮させるなどの機能化をできるようにしたい。光で力の摂動ができると、細胞や組織に組み込んだばねを使って、非侵襲で機械刺激ができるということになる。力に関わる生物学の広範な研究によって、発生や形態形成等の研究にインパクトを与えることができるようになるだろう。

もう一件紹介したいのが、心臓のメカノバイオロジー研究である。心臓を拍動させるモーター分子から臓器までをシームレスにつないだ心臓シミュレーターと連携して、ミクロからマクロをつなぐ心臓のメカノバイオロジーの研究を行っている。心臓のメカニクスで特に重要となるのが、心筋のミオシンモーターである。500人に1人の割合で起こるとされる肥大型心筋症の主要な遺伝的原因は、このタンパク質の変異である。これまでは、分子の機能を筋肉のシステムに組み込まれた状態で1分子解析する技術がなかったが、私たちは筋肉のサルコメア構造の一部をDNA origamiで再現して、様々なサルコメアタンパク質をアッセンブルした人工サルコメア分子システムの開発に成功した。この分子システムを使うと、これまで難しかった個々の分子動態を同時に画像化したり、高速で1分子イメージングすることができる。心筋ミオシンの1分子機能解析や、力の可視化、薬剤応答の可視化、そして心臓シミュレーターとのデータ同化を行うプラットフォームとしての活用を進めているところである (図5-2-4)。

細胞の力測定に関する関連動向としては、私たちのアプローチ以外にも幾つか出てきている。ピラーアレイやトラクションフォース顕微鏡といった、いわゆる微細加工技術や、ゲルに埋め込んだビーズの内から力を推定する方法がポピュラーである。最近では、クモの糸を構成するタンパク質に由来するペプチドとばねを使い、その両端を蛍光タンパク質で挟むことでFRET効率が変わって力を推定する、分子フォースセンサーなどの利用も始まっている。また、超分子化学の技術のほうからも、力に応答する発光分子プローブやロタキサン構造を用いたメカノプローブなどの開発が進められている。他にも定性的な力をイメージングするようなプローブが、化学分野から少しずつ出てきている。

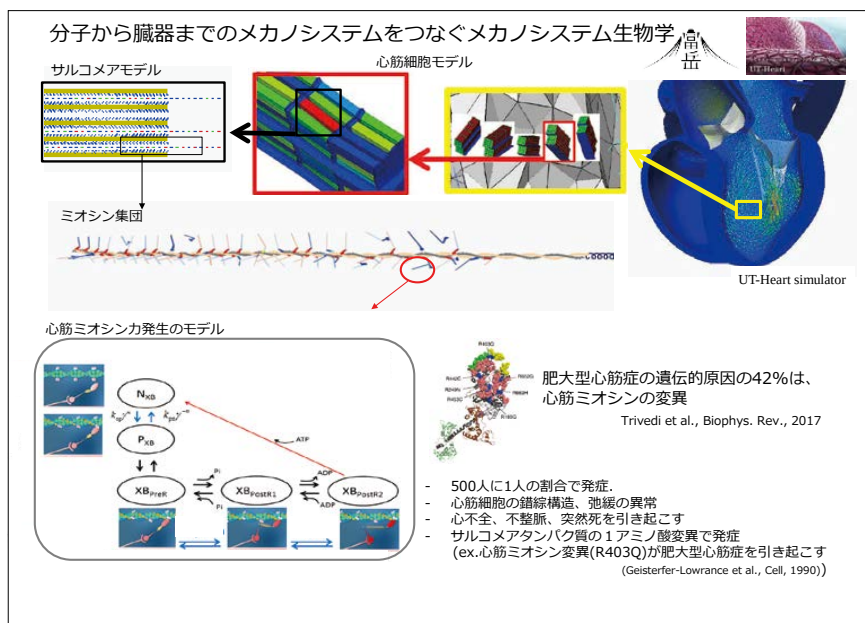


図5-2-4 分子から臓器までのメカシステムをつなぐメカシステム生物学

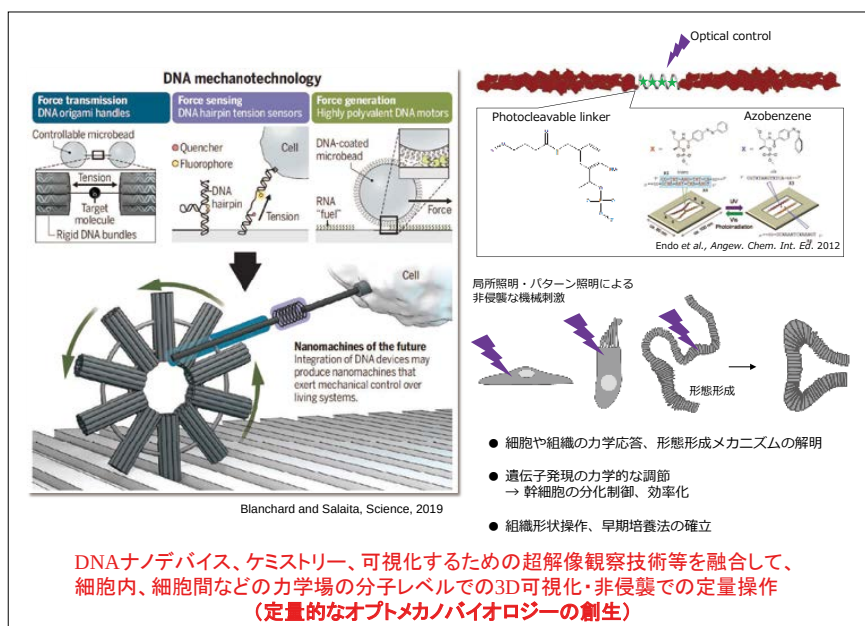


図5-2-5 定量的なオプトメカノバイオロジーの創成

今後の方向性としては、生物学の広範な分野にインパクトを与えるものとして、自在に細胞や組織内の力を計測したり操作するという技術開発への挑戦が課題である。DNA ナノデバイスや超分子化学など、化学の技術を融合することで、より高機能な分子システムやナノマシン設計を実現して、DNAメカノテクノロジーを発展させたい。また、力を検出するための観察技術を発展させたいと考えている。例えば最近では超解像イメージング技術が発展してきているが、そうした技術をセットにして融合することで、細胞の中や細胞間などの力学場を、分子レベルで三次元的に可視化して操作する。これによって、いわゆる既存のメカノバイオロジーを変革し、より定量的な「オプトメカノバイオロジー」の創生につなげることができると考えている。

【質疑応答】

Q：Nanospringなどのばねを細胞内へ導入することは可能か。生体細胞内でどのような力が生じているかまで測ることができるのか。

A：細胞の中の力として、細胞骨格やゲノム、核にどのような力が伝達され、どのくらいの力が出ているかにはすごく興味があり、少しずつ試しているところ。DNAを材料にした物質であるため、細胞の中に導入させることはできる。しかし問題として、細胞の中にはDNA分解酵素があるため、DNAナノデバイスが分解されてしまうリスクが高くなる。分解されないような化学修飾技術も発展してきているため、組み合わせることによって可能になると考えている。

Q：ばねによる力計測だけではなく、そこから細胞の機能や挙動ともリンクさせることができるのか。

A：現時点では、パッシブにばねの伸縮から力を計測するものである。光で外部から非侵襲のまま力をかけるなど、機能化ができるようになれば、細胞に組み込んだばねや細胞間などの目的の場所だけを狙って力をかけることで、そのレスポンスを見る、いわゆる定量的なオプトジェネティクスにつながっていく。現段階では定性的なざっくりとした制御がなんとなくできるくらいである。今後はいかに定量的な測定をできるかに取り組んでいきたい。いわゆる定量生物学が、これからの生物学の方向性の一つであると考えている。

Q：光活性化局在性顕微鏡法によって、今では細胞の中の1分子の動態を見ることができる。日本でも技術的に取り入れられているのか、あるいは技術が改良されているか。

A：国内外含め進んできており、特に細胞表面のレセプターなどは1分子イメージングで、一つ一つのレセプターの動態などが見えるようになっている。核の中のヒストンや、細胞骨格のアクチンモノマー単量体を1分子で見るなどができる。しかし万能ではなく、様々な条件が揃わないとできない。例えば分子一つ一つを見るためには、分子が塊のようにしていると見分けが付けられない。ケース・バイ・ケースで、できる対象もあればできない対象もあるというのが、細胞の中の1分子イメージングの現状。蛍光1分子イメージングなどは日本発の技術だが、今では海外の研究グループのほうが、in vitro から in vivo まで精力的に行っている。日本でもアドバンテージを生かして伸ばしていく必要があるだろう。

5.3 ウイルス1粒子計測からウイルスを作って理解する

田端 和仁（東京大学）

私はインフルエンザウイルスを使って研究している。インフルエンザウイルスは過去何度もパンデミックを繰り返してるが、その原因はウイルス自体の変異速度が非常に速いことにある。ヒト細胞に比べると変異の導入速度が100万倍くらい速いと言われている。この変異が固定されて集団として進化していくといえるが、その際、集団としての不均一性が非常に重要である。昔は、細胞は均質・均一なものだと考えられていたが、近年の1細胞の技術の開発によって、細胞は不均一な集団であることが分かってきた。

私は、ウイルスでの同様の研究をして、ウイルスの進化を観測したいと考え、まずインフルエンザウイルス1個を検出する系であるデジタルインフルエンザアッセイを開発した。図5-3-1に示すように多数の微小な反応容器を用意し、そこにインフルエンザウイルスを確率的に1個だけ閉じ込める。インフルエンザウイルスは表面にノイラミニダーゼという酵素を持っているので、この酵素の蛍光基質であるMUNANA（2'-(4-Methylumbelliferyl)- α -D-N-acetylneuraminic acid）を微小な反応容器の中に一緒に閉じ込める。同じ反応容器の中にウイルスがいれば、このMUNANAが分解されて4MU（4-Methylumbelliferone）という蛍光色素が生成する。ウイルスがいれば蛍光を発し、ウイルスがいなければ蛍光は発しないというようにウイルス1粒子が検出できる方法である。

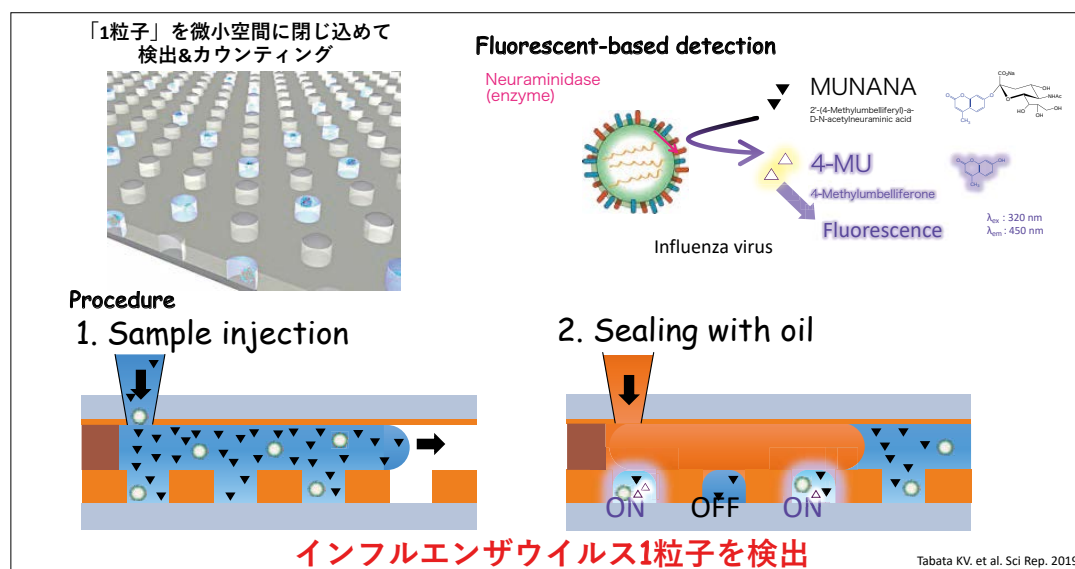


図5-3-1 デジタルインフルエンザアッセイ

インフルエンザデジタルアッセイの結果を図5-3-2に示す。白い点一つ一つが光っているチャンバーであり、各チャンバーにインフルエンザウイルス1個が閉じ込められている。その数を数えることでウイルス数が定量できる。コントロール実験によって、光っているのがインフルエンザウイルス由来であることを確認している。

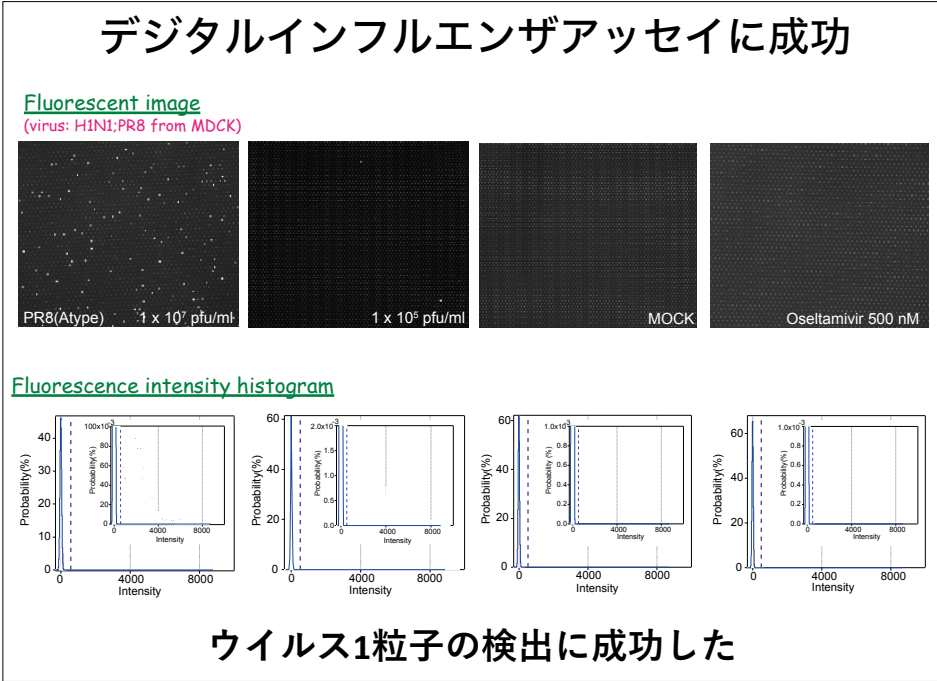


図5-3-2 デジタルインフルエンザアッセイによってウイルス粒子の検出に成功

デジタルアッセイの定量性を評価した。通常、ウイルスの定量はブランクアッセイで行われ、感染力価として pfu/ml という単位で値と与えられる。さまざまな感染力価のウイルスを調製して、デジタルアッセイでウイルスの個数をカウントした結果を図5-3-3に示す。デジタルアッセイは直線性が高く定量性がよいことが分かるが、感染力価に対してウイルスの個数が一致していない結果になっている。

感染力価は感染できるウイルスの数を示すものである。感染できるウイルス数とウイルス全体の数が一致すれば青線上に乗るが、測定結果ではウイルス全体数は感染できるウイルス数の100倍以上高い値となった。図5-3-3は、H1N1PR8株での実験結果であるが、他の13NDRやB型、また他のウイルスで検討しても、同様に100倍や、大きいものになると10万倍ぐらいウイルスの全体数のほうが多い結果となった。

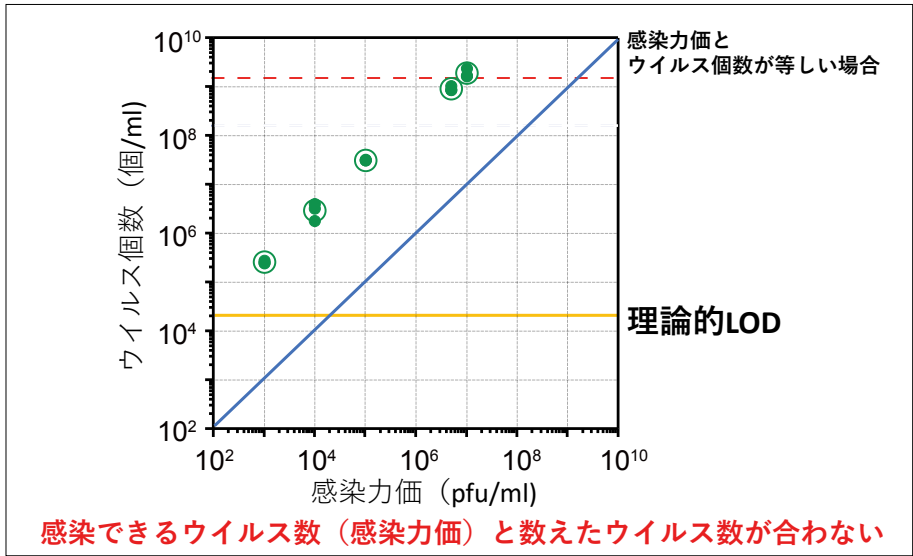


図5-3-3 インフルエンザデジタルアッセイの定量性

この結果は、ウイルスの集団はほとんどが感染できないウイルスであることを示している。

感染できないウイルスは何をしているのかを検討するための実験を行った。ここでは、図5-3-3で検討したウイルスを使った。1細胞あたりにそのサンプルを加えていき、感染の有無を確認してみると。このウイルスは約200個に1個が感染できるサンプルであるので、1細胞にウイルス200個を入れると感染率が100%になるはずであるが、実際はウイルス数10個ぐらいから、感染率が100%に到達する結果となった。この結果は、一つの細胞に、感染できないウイルスが複数個入ることで、感染を成立させている可能性を示唆している。

ウイルス中のゲノムに原因があると考え、個々のウイルスのゲノムを解読するシステムを検討した。今回、異なる8本のゲノムを読んだ結果、それぞれHA配列に変異が入っているものが見つかった。通常、インフルエンザウイルスの変異は、14キロ程度あるゲノム中に1つか2つというレベルであるが、HA配列はただか1.6キロであるにもかかわらず変異が多く見られた。コントロール実験から、これはシークエンスエラーではなく、ウイルスのゲノム由来の変異であると考えている。現在は、より大規模に、数10万粒子のゲノムを読み、集団全体の中で変異分布がどう広がっているかを調べようとしている。

また、インフルエンザウイルスもウイルスのゲノム配列をプラスミドにコードすることで再構成することができるので、人工的にDNAで配列を定義したウイルスをつくり、それを起点として、どのような変異がどれくらいの速度で入っていくのか、どのようにウイルスが進化をしていくのかを調べられるのではないかと考えている。

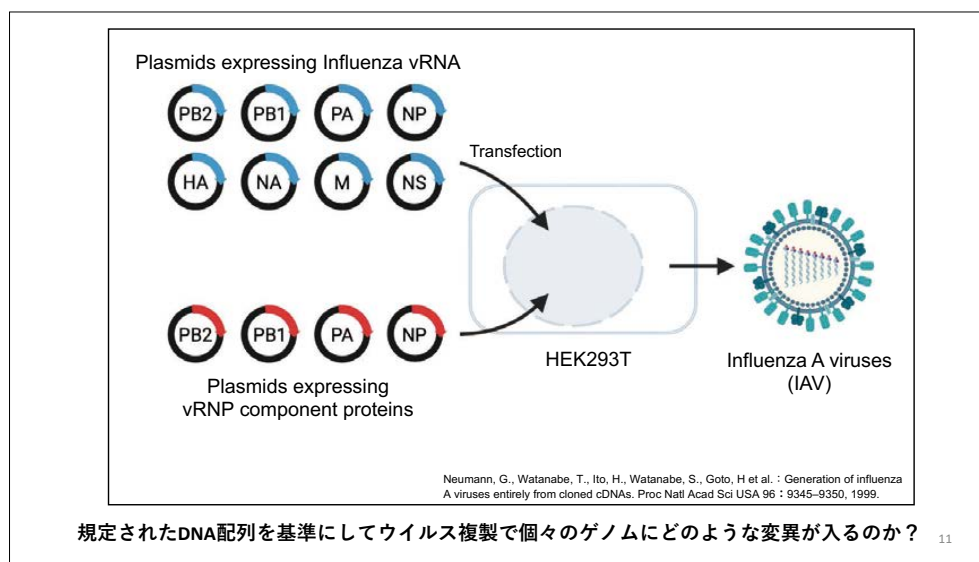


図5-3-4 ウイルスを理解するために“つくる”

このウイルスを“つくる”ということは、今後10年の話につながっていく。

現在、バイオには、食料問題の解決や石油化学産業の転換への貢献が求められている。バイオプロセスで材料や石油代替燃料などさまざまなものを作る検討がなされている。そのときに必要になってくるのが、人工細胞であろう。今までは、目的のものをつくるバクテリアやウイルス・細胞を探してきたが、それではいずれ限界が来る、適した人工細胞をつくる必要が出てくると考えている。

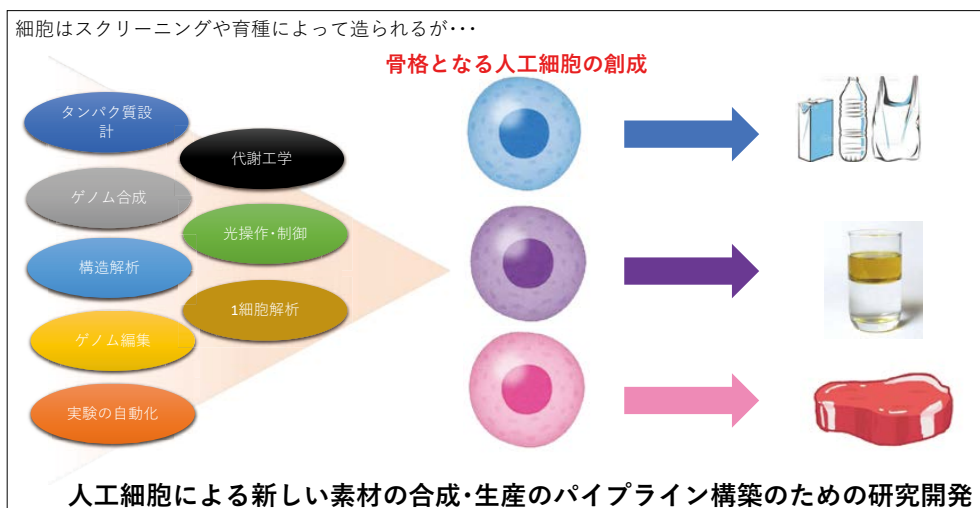


図 5-3-5 これからの“人工細胞工学”

そこで、ウイルスをベースに人工細胞をつくることを提案したい。ウイルスは細胞ではない、生物ではないとも言われるが、生物のシステムを乗っ取って自分を増やすことができる。つまり、遺伝子を足すことでウイルスは細胞のように増えるかもしれない。必要な遺伝子を付加していくことでミニマムな物質生産細胞を作る可能性があり、将来的にはこのようなこともやっていく必要があると考えている。

デジタルアッセイに関しては、今後、スマートフォン技術の活用が考えられる。スマートフォンのカメラの感度は、ここ数年向上しており、蛍光観察はもちろん、生物発光も撮影可能である。これは、研究室で使っている1000万円するような顕微鏡・検出器を皆が手に持っているのと同じであることを意味しており、この検出器を使わない手はない。例えばウェアリングデバイスとスマホを組み合わせ、自分の身体の状態や、ウイルス、バクテリア検出、環境測定も可能である。さまざまなデータを統合することで、ニューノーマル、新しい社会をつくることができるのではないかと考えている。

【質疑応答】

Q：ウイルス粒子と感染の関係について。HAタンパク質は親のウイルスがコードしていたものであり、そのウイルスが感染できないという説明は難しいのではないかと。感染の成立には膜との融合など複雑な要素が多くあるので、そちらを考えるべきではないか。

A：個々の細胞の状態にも依存する。プラークアッセイはかなり慎重に検討したが、細胞の状態では説明しきれないと考えている。

Q：ウイルスの変異について。以前から知られていたことと何か違うのか。

A：従来のウイルス変異の研究は、あるシーケンス方法による平均の結果である。例えば100パーティクルの配列の平均が結果として出てきている。今回の検討は、平均ではなく、一個一個の違い、広がりを変えたいというのが目的である。

Q：ウイルスをベースに人工細胞をつくることについて。ウイルスに何を足すのか。

A：一部のファージは、ピュアシステムの中で再構成することができる。つまり、タンパク質合成系があれば自身を複製してつくることができる。例えばウイルスのゲノムの中にピュアシステムをコードする遺伝子を加えておくと、ウイルス単体でも増えるようになって考えている。

Q：レトロウイルスを使って有用物質を発現させるなどの例は、これまでにもあるのではないかな。

A：これまでの例は、発現させる細胞に大きく依存するものである。物質生産を考えていても、結局は発現させる細胞の代謝にほとんど依存しており、そこを改良しないと物質生産に使える細胞にならない。であれば、専用の細胞を最初からつくればいいというのが今回の発想である。

5.4 mRNA ワクチン、医薬のためのデリバリー技術開発と mRNA 分子設計

内田 智士（京都府立医科大学）

現在トレンドとなっている RNA ワクチンについて、自身の研究に加え業界全体の概観も紹介する。

私自身はプラスミド DNA やメッセンジャー RNA (mRNA) のデリバリーシステムとその治療応用について研究している。また、相補鎖 RNA を用いた mRNA の修飾について研究してきており、その内容について以下に述べる。

2010 年代半ばの研究で、内因性 mRNA の 2 次構造は非常にフレキシブルに細胞内で形成、解離していることが明らかになってきた。これらの報告に着想を得て、この現象を mRNA の化学修飾へ応用できないか検討した (図 5-4-1)。具体的には、機能修飾した相補鎖 RNA を mRNA にハイブリダイズさせると、この相補鎖 RNA は、内因性 RNA の 2 次構造と同様に細胞内では解離し、mRNA の翻訳活性は維持されるだろうと考えた。従来の mRNA の化学修飾では、mRNA 自体に修飾を入れていたため、翻訳活性を維持するために利用される修飾は限られたが、相補鎖を用いた方法を用いると、より多様な修飾が許容されると考えられる。一方で、2 本鎖形成を伴うため、免疫原性、翻訳阻害等の懸念は生じる。

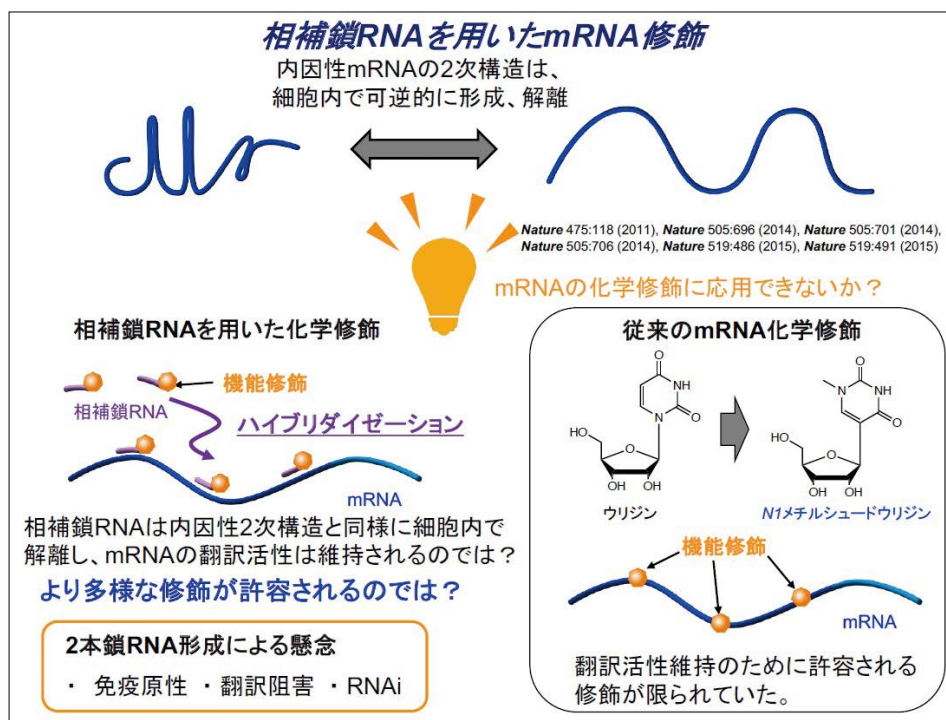


図 5-4-1 相補鎖 RNA を用いたメッセンジャー RNA 修飾

網羅的な解析の結果、タンパク質コード配列に 23 塩基以上の相補鎖 RNA をつけると、翻訳活性が低下し免疫原性が増強するが、17 塩基では翻訳活性は維持され免疫原性も変わらないことがわかった (図 5-4-2)。そこで、17 塩基の相補鎖 RNA を用い、mRNA へのコレステロール修飾や PEG 修飾、mRNA 同士の集合体、mRNA とポリカチオンの架橋など、mRNA の生体内安定化に関する研究を行っている。

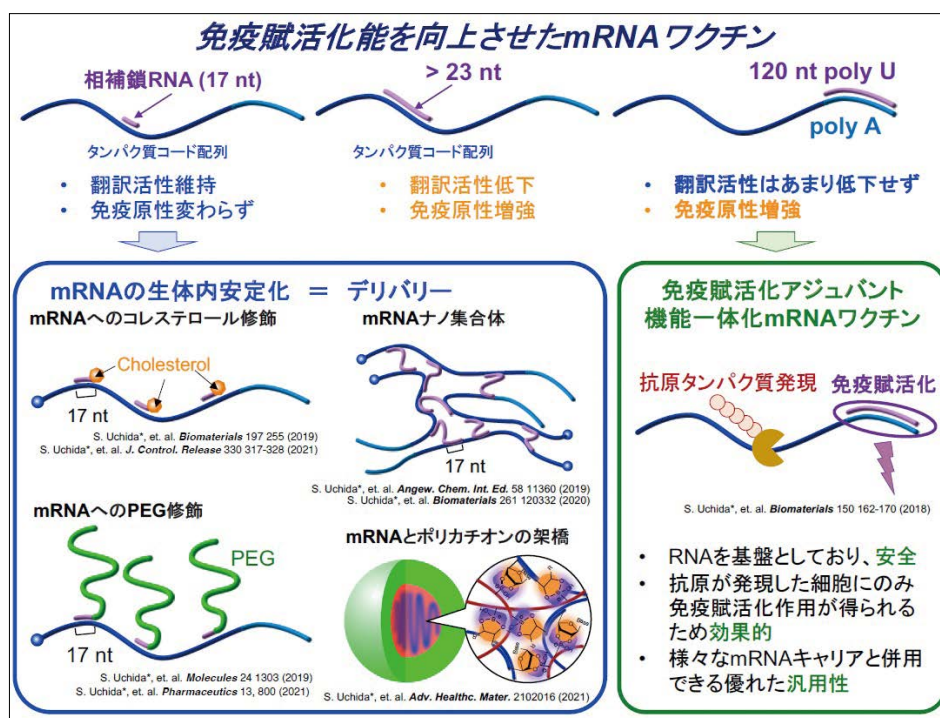


図5-4-2 免疫賦活化能を向上させたメッセンジャー RNA ワクチン

さらに、ハイブリダイズさせる場所に注目し、ポリA鎖を標的としたところ、120塩基のポリUを修飾しても、翻訳活性にはあまり影響がなく、一方で、免疫原性は増強することを見出した。これを用い、mRNAに免疫賦活化アジュバントの機能が一体化されたようなワクチンの作製を試みた。このmRNAは抗原タンパク質を発現し、かつ末端の修飾部分が免疫を活性化する。生体に元来存在するRNAを基盤とするため安全であり、抗原が発現した細胞のみ免疫賦活化作用が得られるため効果的であるといえる。

その後、このワクチンシステムの改良を重ね、免疫賦活化の強度制御や、短いRNAを用いた効果的な免疫賦活化、化学合成の併用による副生成物の回避などが可能な、新たなmRNA設計を見出した。本設計を用いることで、COVIDの抗原に対して、既存の脂質性ナノ粒子（LNP）の筋肉内投与と同程度の効果が得られている。

次に、本分野の概観を述べる。現在mRNAワクチン、医薬は急速に注目され、世界各国で研究されている。そのパイプライン（医療用医薬品候補化合物）のおよそ4割がCOVIDなどの感染症予防ワクチンだが、残りの6割はがん治療ワクチンや疾患治療であり、標的が多様化している。2035年における市場予測においても、半数はやはり感染症予防ワクチンだが、他分野も高い期待を持たれ続けると見られている。

現時点で、これらの基盤となるテクノロジーは、脂質性ナノ粒子と、mRNAの塩基の化学修飾が中心である。これらの技術の持つ限界をいかに突破していけるかが、今後の方向性の鍵を握っている。

図5-4-3に示した脂質性ナノ粒子は、筋肉で効率的に抗原発現できることに加え、アジュバントとしても機能する。さらに、リンパ節に直接移行しリンパ節内の抗原提示細胞に直接mRNAを導入できるという特長がある。疾患治療としては、特に肝臓に非常に強く遺伝子導入できるため、肝疾患によく用いられる。CRISPR-Cas9の昨年の治験では、ヒト肝臓でも一回の投与で、8割以上のノックアウトに成功したと報告されている。

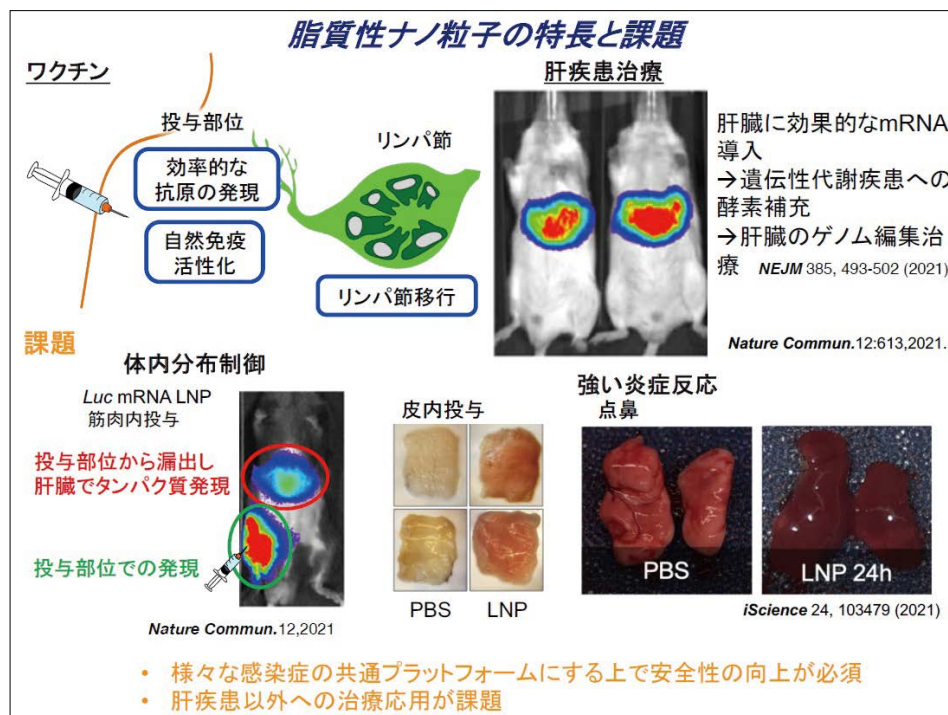


図5-4-3 脂質性ナノ粒子（LNP）の特長と課題

次に課題について述べる。例えば図5-4-3左下図はルシフェラーゼ（Luc）発現 mRNA を脂質性ナノ粒子に搭載し、筋肉内投与しているが、投与部位から漏出し肝臓でタンパク質を発現している。もしヒトで起こると、例えばCOVIDのワクチンを注射した後に肝細胞でスパイクタンパク質が発現するということになる。更に、非常に強い炎症反応を起こすことも知られており、例えば図5-4-3右下図では脂質性ナノ粒子を点鼻すると肺が真っ黒になっている。このように、安全性の向上や肝疾患以外への治療応用が今後の課題である。

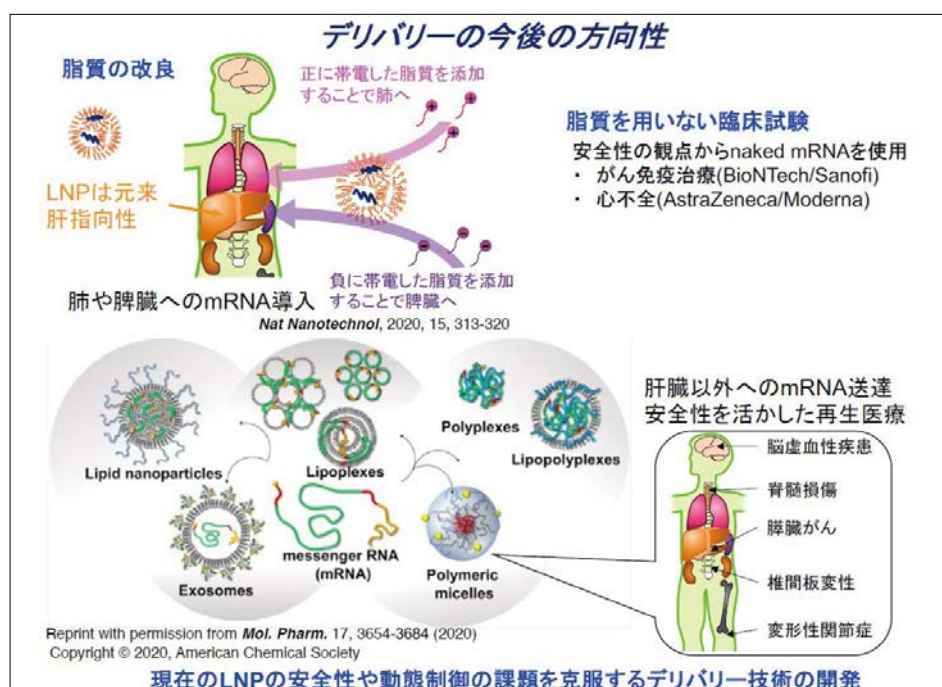


図5-4-4 デリバリーの今後の方向性

その方法論としてシンプルなのは脂質の改良であり、ある脂質性ナノ粒子に別種の脂質を足すことによって、肺や脾臓へ mRNA が導入できるという報告がある（図 5-4-4 左上）。また、安全性の観点から、脂質を用いない方向の検討も進んでおり、実際にがん免疫治療や心不全の治療において、脂質を用いず RNA 単体が使用されている。

単体よりも優れたデリバリーキャリアを求めて、高分子やエクソソームを基盤としたものが開発されているが、私たちは一貫して高分子ミセルに注目している。非常に安全性が高く、組織を傷つけずに mRNA をデリバリーできるため、再生医療など疾患治療の応用に向けた研究も進めてきている。

mRNA の設計に関しては先ほど示したように、私自身は相補鎖を用いた修飾に取り組んでいるが、それ以外に、mRNA を環状にする、塩基ではなく糖リン酸部分を修飾する、計算科学と組み合わせてコドン最適化する、自己増殖させて mRNA を長寿命化させるなどの技術が出てきている。

融合領域としての課題もある。先に述べたように、例えば脂質性ナノ粒子の免疫賦活化作用はワクチンに重要だが、mRNA の免疫賦活化作用は塩基修飾（シュドウリジン修飾）によって軽減させなければならないという矛盾するような話もある。様々な説明がなされているものの、きれいな回答には至っていない。そもそもシュドウリジン修飾が必要かということに関しても、最近の Nature 誌では、猿のレベルでは未修飾の COVID-19 ワクチンでファイザー社の修飾 mRNA ワクチンと同等の効果が得られたと報告されている。業界全体として、スクリーニングの後をサイエンスが追いかけている印象があり、詳細な生体内反応評価など、バイオロジーも含めた技術開発が今後必要になると考える（図 5-4-5）。

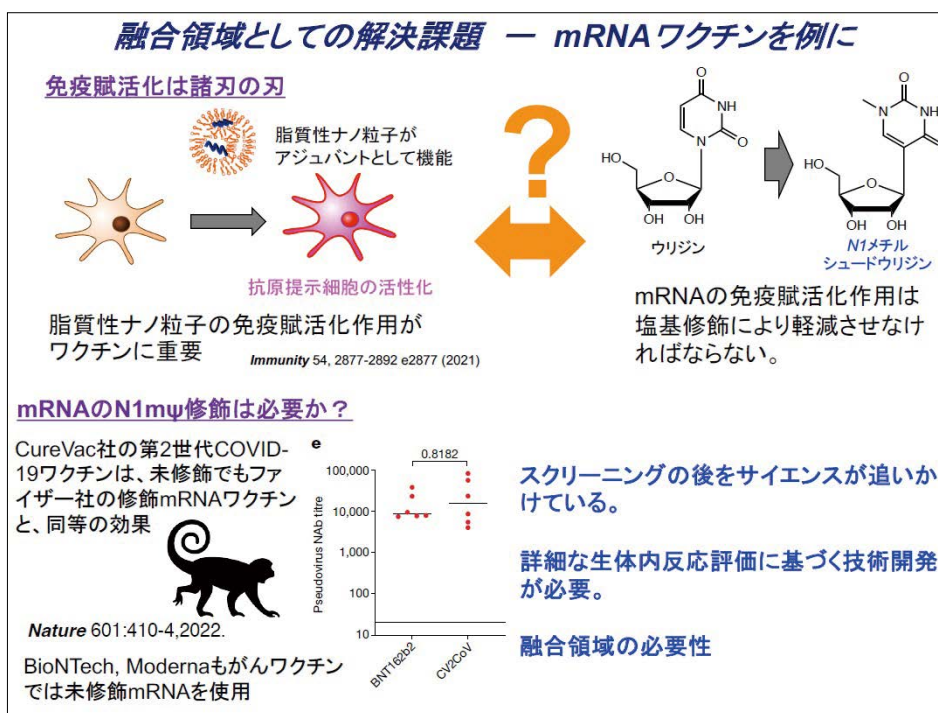


図 5-4-5 融合領域としての解決課題

最後に簡単に展望を述べる。現在ワクチンとして注目されている技術を、再生医療や遺伝子治療など、より大きな「メッセンジャー RNA 治療」という概念に置き換えていくことは私たちの一つの使命である。さらに今後それを超えて、生体を制御するためのバイオロジーのツールや合成生物学、人工細胞に展開していく、より大きなプラットフォームをつくるためには、分子設計、デリバリーについて取り組んでいく必要がある。

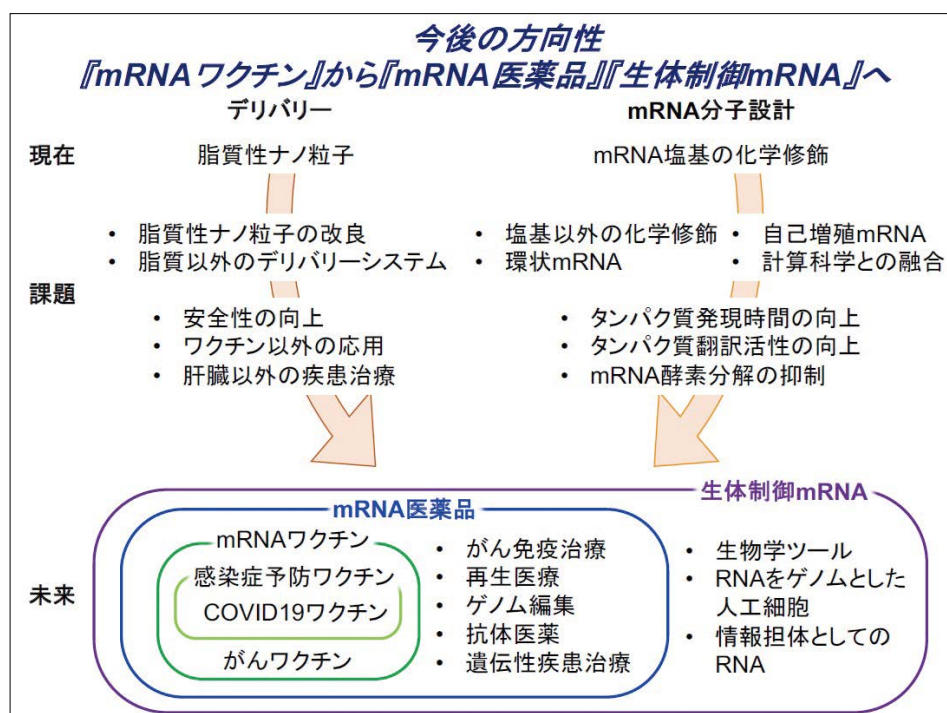


図5-4-6 今後の方向性

【質疑応答】

Q：ネイキッドのmRNAの場合、どのように細胞内に入るのか。

A：昔から研究されているが、諸説あり、まだわかっていない。打った時の衝撃で細胞膜が壊れて入っている、浸透圧ショックで膜が壊れて入るなど、様々なことが言われているが、結局ある程度のハイポリウムを組織に投与すると、一定程度の圧がかかり細胞膜を貫通しているようだ。元々mRNAが初めて使われた90年のScience誌論文では、プラスミドDNAやmRNAをただ筋肉に打ったら細胞に取り込まれたと報告されている。実際、特に筋肉内投与などでは、遺伝子発現量のみに着目すると、ポリマー等で固めるよりもただRNAを打つの方が発現することもある。まだ経験則から出ていない。

Q：国内でこのような技術開発がなされているにもかかわらず、応用が難しい理由は何か。

A：今回ワクチン開発に成功しているようなベンチャー企業が技術開発を担うという土壤が、日本にはあまりなかったものと感じる。また、海外の脂質性ナノ粒子はほぼ全てスクリーニングベースでつくられていることが、功を奏した可能性もある。

5.5 RNAを基盤とする合成生命システムの創成

齊藤 博英（京都大学）

RNAを基盤として生命システムを理解し、また新たに創成したいというモチベーションで研究を進めている。特に、RNAとRNA-タンパク質複合体（RNP）の相互作用が生命システムの根幹を担うと考えている。現状の生命システムの研究においてはDNAやタンパク質に関する研究は進んでいるが、その間をつなぐ、RNAやRNPが生命システムを制御している機構の多くは未知である。また、生命の起源を考えたときにも、化学物質と生命の間をつなぐ上でRNAは重要と考えられているが、このRNAワールドやRNPワールドが、いかに原始細胞のようなものをつくり出したのかということは明らかになっていない。私はこのRNA、RNPの研究を通じて、生命システムを理解し新しいテクノロジーを創出しながら、生命や細胞の成り立ちに新しい解を与えるような研究を目指している。

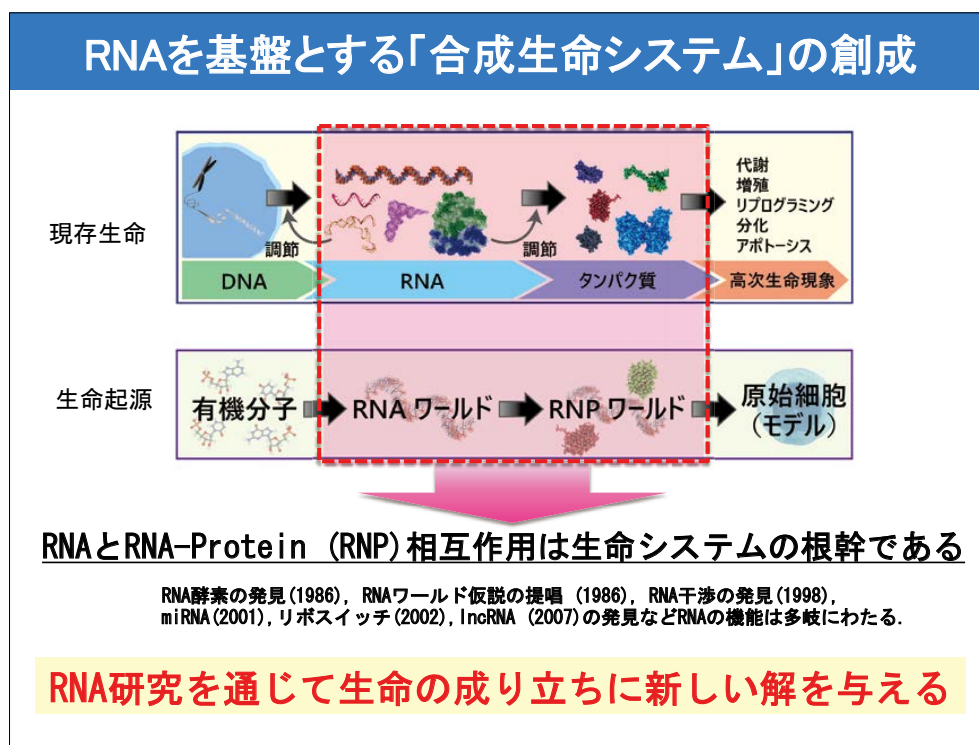


図5-5-1 RNAを基盤とする「合成生命システム」の創成

生命システムをつくることを志向した研究分野においては、これまでゲノム合成やゲノム編集に代表されるように、主にDNAやDNAを制御するタンパク質に関する研究が注目されてきた。しかし、DNAやタンパク質の配列や構造のみでは予測できない生命現象が多く存在している。私は、特にRNAの機能と構造、またRNAとタンパク質の相互作用に着目し、それらを基盤として生命システムを制御、創成する研究を実現することで、現存の生命システムの研究から生命の起源などにも絡めるような統合的な研究を進め、新しい研究分野をつくるという想いで研究を進めている。

RNAは配列に応じてさまざまな高次構造を形成する。この構造がタンパク質の相互作用やRNAの機能には重要である。特に、RNAとタンパク質からなる遺伝子ネットワークや、細胞内の構造の場として最近着目されている膜を持たないRNP顆粒、オルガネラなどを、人工的につくっていくアプローチに注目している。こ

れらRNPネットワークやオルガネラの作動原理を理解していくことで、機能性の人工RNA / RNPや生命の起源解明に示唆を与える人工細胞の創成、あるいは環境・食料などの問題解決に貢献できる新しいテクノロジーをつくっていきたいと考えている。

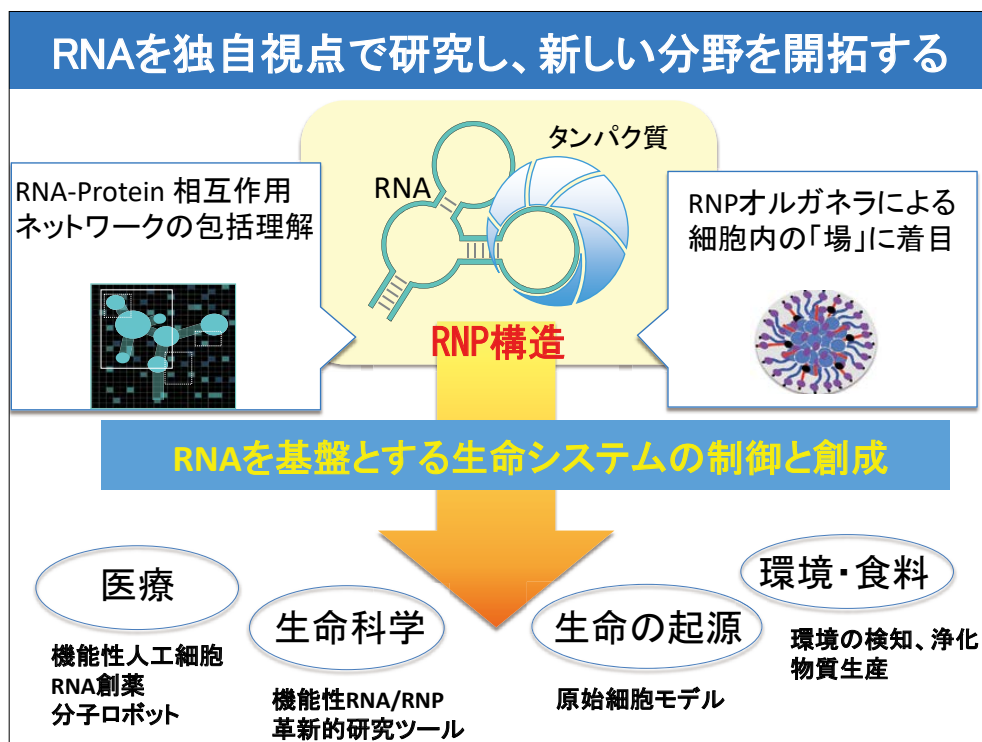


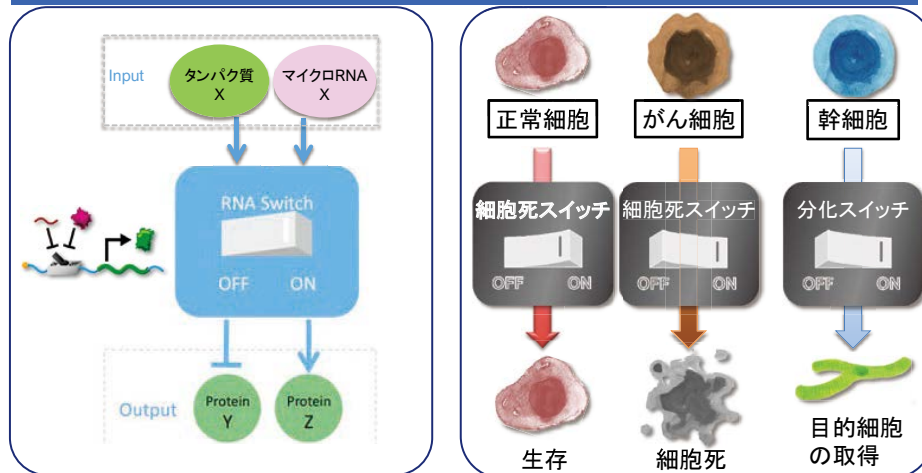
図5-5-2 RNAを基盤とする生命システムの制御と創成

具体的な研究例としては、図5-5-3に示すように、例えばタンパク質やRNAのような細胞の中にあるものを検知して遺伝子の発現や細胞の運命を制御する「RNAスイッチ」の開発に成功している。このRNAスイッチを細胞に導入することで、特定のタンパク質やマイクロRNAを発現している標的細胞（未分化細胞やがん細胞など）を特異的に死滅させることができる。また、iPS細胞から分化する際に細胞がヘテロな細胞集団になってしまう等の課題があるが、この技術によって目的の細胞のみを効率よく取得することができる。これら独自のRNA技術をもとに、ここ5年の間でバイオベンチャー企業2社が設立された。

最近のRNAスイッチの例としては、マイクロRNAに応答して、メッセンジャーRNAからのタンパク質の発現を活性化できる「ONスイッチ型mRNA」の開発に成功し、論文発表（Science Adv. 2022, 8(1): eabj1793.）したところである。通常のメッセンジャーRNAはポリAで終了するが、メッセンジャーRNAをデザインし、ポリAの下流にマイクロRNAに応答するアンチセンスを入れ、その後ろに翻訳を抑制する配列を入れておく。その細胞は、マイクロRNAがない場合にはタンパク質を生成しないが、マイクロRNAがある場合は、メッセンジャーRNAが切断され翻訳を抑制する配列がなくなり、タンパク質が生成することになる。マイクロRNAは、通常、細胞の中で遺伝子の発現を抑制するが、この場合はマイクロRNAがある細胞で、遺伝子の発現を活性化するメッセンジャーRNAを作成できたことになる。この技術を使うことで、細胞内の環境を見分けて、例えばがん細胞だけに細胞死を誘導するようなタンパク質をつくり出して、不要な細胞を死滅させ、目的の細胞を純化することができるようになる。

これまでのRNA研究の成果 (1): RNA合成生物学

細胞の状態を検知し、運命制御できる「RNAスイッチ」の開発に成功



RNAベンチャー2社 (aceRNA technologies, xFOREST therapeutics)設立
*Nature Chemical Biology (2010), Nature Biotechnology (2015), Cell Stem Cell (2015),
 Science Advances (2019), Nature Communications (2011, 2013, 2018, 2020)*

図5-5-3 RNA研究の成果：RNAスイッチ

また、RNAとタンパク質からなるナノ構造体の研究例を図5-5-4に示す。RNA構造を60度に曲げる性質を持つタンパク質があるが、このタンパク質とRNAでできた三角形構造体は、タンパク質が頂点に並びRNAが三角形状になっている様子が原子間力顕微鏡 (AFM) できれいに観察できる。このRNP構造体の機能応用として、例えばがん細胞表面にある抗原を認識するペプチドをRNA結合タンパク質に付加し、三角形RNAに搭載したsiRNAを標的培養細胞にデリバリーすることに成功している。またナノ構造が連なったRNA構造

これまでのRNA研究の成果 (2): RNAナノ構造物

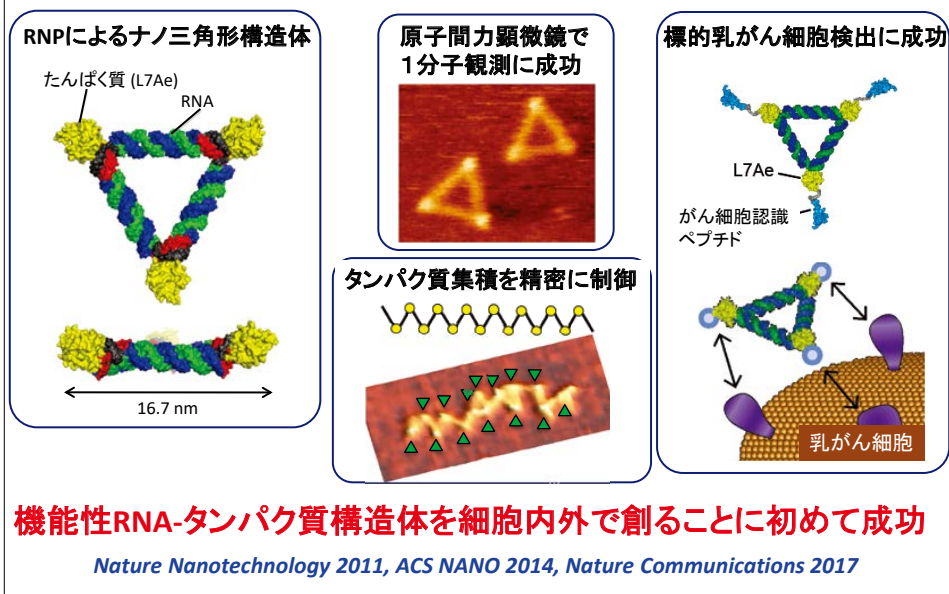


図5-5-4 RNA研究の成果：RNAナノ構造物

を細胞内でつくり、そこにアポトーシスを制御するCaspaseタンパク質を集積させその数を制御することで、細胞の環境（特定のタンパク質を発現しているかどうか）に応じて、細胞死を選択的に誘導することにも成功している。

さらには、RNP相互作用を利用して標的メッセンジャーRNAの翻訳を制御する、RNPによる翻訳制御システムや、細胞の中で目的のタンパク質やRNAを集積させる技術の研究も進めている。これらをもとに、設計した人工メッセンジャーRNAからなる遺伝子回路や、目的のRNAやタンパク質の貯蔵・排出を制御できる人工RNP構造体を細胞や個体に導入することで、細胞の状態に応じて細胞死を誘導したり、細胞の運命をリプログラミングする技術が今後重要になると考えている。

今後の注目分野を図5-5-5に示す。分子デザインを基盤とする「統合的な合成生物学」と、細胞を自由自在にプログラムできる「細胞プログラミング技術」、また「分子ロボット工学」が重要になると考える。

統合合成生物学としては、分子デザインを基盤に、様々な細胞の成り立ちの理解につながる基礎研究から、iPS細胞のような機能性人工細胞の応用研究までも包含する、技術革新につながる合成生物学分野の推進を期待している。

細胞プログラミング技術としては、目的の機能を有する細胞を安全性の高いメッセンジャーRNAデバイスや遺伝子回路などでプログラムする技術基盤の構築が重要と考える。天然の細胞にとらわれずに目的機能を持つ人工細胞を自由自在に作成することができれば、その設計原理をもとに機能性の人工細胞をつくったり、また、細胞の運命変換（例えば、細胞の老化制御や、がん細胞の制御）を自由にプログラムすることができるようになり、生命科学の理解にもつながり、新たな医学分野の進展にもなると考える。

これらは、基礎科学の意味でも重要であるが、応用科学へのインパクトも大きい。細胞特異的にRNAの機能構造を制御することで運命変換ができれば、新しいメッセンジャーRNA創薬などにつながる可能性もある。また人工細胞や分子ロボットは、今後、環境調査や浄化、食料・物質生産などにも活用できる時代が近づきつつあるのではないかと考えている。

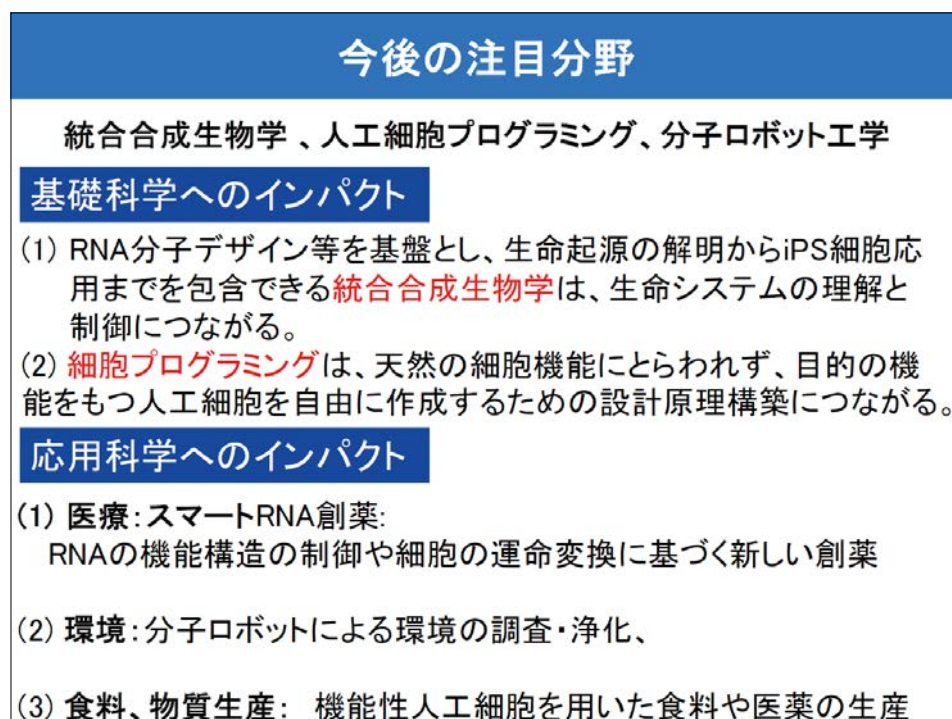


図5-5-5 今後の注目分野

【質疑応答】

Q：マイクロRNAが切れて、翻訳を抑制する部分が外れてRNA翻訳が活性化される系は、マイクロRNAがRNAに結合した段階で、そのRNA自体の細胞内分布が変わってしまい、予期せぬことが起こることではないか。

A：基本的にマイクロRNAがRNAスイッチに結合した後で、マイクロRNAやマイクロRNAのターゲット遺伝子の発現パターンには変動がないことを確認している。RNAスイッチの細胞内での半減期は短く、マイクロRNAは、siRNAのような機構で相補的な配列をもつRNAスイッチを切断するため、切断された後はマイクロRNAがリリースされるメカニズムを推測している。

Q：マイクロRNAの検出系について、細胞中で意図しない切断によってバックグラウンドが出たりしないか。

A：ONスイッチの系は、応答性をさらに強化する必要がある。論文中では、オンとオフを組み合わせでリークが出て大丈夫なようにしている。細胞死を起こすタンパク質と細胞死を起こさないタンパク質のバランスを調整することで、機械等を用いずに細胞の純化ができるということを示している。こうすれば、切れ味はよくなるが、ON単体ではリークの問題が残っている。現在、その改善を目指している。

Q：RNAを60度曲げるタンパク質は、合成タンパク質か、あるいは何かの生物に存在していたものか。

A：古細菌のリボソームのL7Aeタンパク質である。L7AeタンパクがRNAを60度に曲げられることを論文で見つけ、当時研究室にいたメンバーと、これを使ったらナノ構造のマテリアルになると考え、試してみた。古細菌のリボソームタンパク質は安定性が高く、RNAに結合すると離れにくい性質を持つものが多い印象がある。実際に、このような三角形構造をRNAとL7Aeタンパク質で作るとかなり安定に保持できることが分かった。RNAを約90度に曲げるリボソームタンパク質もあり、それで正方形をつくることもできる。

そのようなものを細胞の中でつくると、タンパク質をナノメートルのサイズで精密に集積できるので、アポトーシス経路など細胞シグナル伝達もコントロールできる。

Q：古細菌は、角度を厳密に曲げるタンパク質を持つことで、高次構造体としてのRNPをつくって生存に使っているということか。

A：60度に曲がるRNAは、キンクターンというさまざまな生物種で保存されている配列であり、リボソーム構造の形成などに重要な役割を果たす。例えばタンパク質が結合することでRNAがある角度に保持されることが、リボソームの機能発現に重要かもしれないと考えている。また、このL7Aeタンパク質は、生物の中でRNAに低分子が結合することで転写・翻訳を止める現象、リボスイッチの制御にも関わっていることが論文として報告されている。構造を固定できるタンパク質は、遺伝子発現のスイッチにも使えるのではないかと考えている。

Q：RNPを用いた合成遺伝子回路の設計について。複雑な回路をつくらうした場合、複数の転写ユニットが必要になり、それぞれのコピーナンバーの影響を受けるのではないか。そこを制御する方法があるか。今回の紹介内容はデジタルアウトプットであるが、アナログアウトプットにしようすると、そこがクリティカルになると思う。

A：今回示した研究では、メッセンジャーRNAを直接導入することで回路が構築できるので、転写を介する必要はない。デジタルアウトプットの制御はRNPの相互作用によってできる。アナログ的な挙動についても、RNP相互作用の強さやmRNA上でのRNP相互作用の部位のチューニングによって翻訳レベルを定量的に制御できる系はあるので、今後さまざまな人工RNA回路ができるようになって考えている。

5.6 人工オルガネラ・人工液滴創出技術に基づく細胞機能制御・人工細胞構築への挑戦

岸村 顕広（九州大学、理化学研究所）

私は様々な分子システムをつくっており、特に人工オルガネラ、人工液滴を紹介しつつ、少し展望を述べる。

私の研究のバックグラウンドは合成化学であり、分子をつくり、それをひとつのパーツとして使い、それらを集めて機能性材料にしたり、ナノ構造をきちんとつくるといったことを行ってきた。最近では、その中に生体高分子をインテグレートしたり、機能性ナノ粒子を集める場として使うといったことも検討している。応用として、ライフサイエンスへの貢献やドラッグデリバリーシステムのような医療応用にも取り組んでいる。具体的には、水中で分子集合体をつくる技術を確立している。静電的に集まるアニオン性物質とカチオン性物質の集合化を制御して、人工オルガネラなどをつくるものである。

最初に、ベシクル型の構造を使った例について話す。

ポリマー分子をうまくデザインしておくと、水中でこれらを混ぜるだけで自発的にサイズが揃ったベシクルが得られる。水中で得られるので、酵素を封入したナノリアクターや核酸を封入した薬物キャリアーなどになる。細胞の中に入れば人工オルガネラ、サイズを大きくすれば人工細胞といった捉え方で検討を進めている。

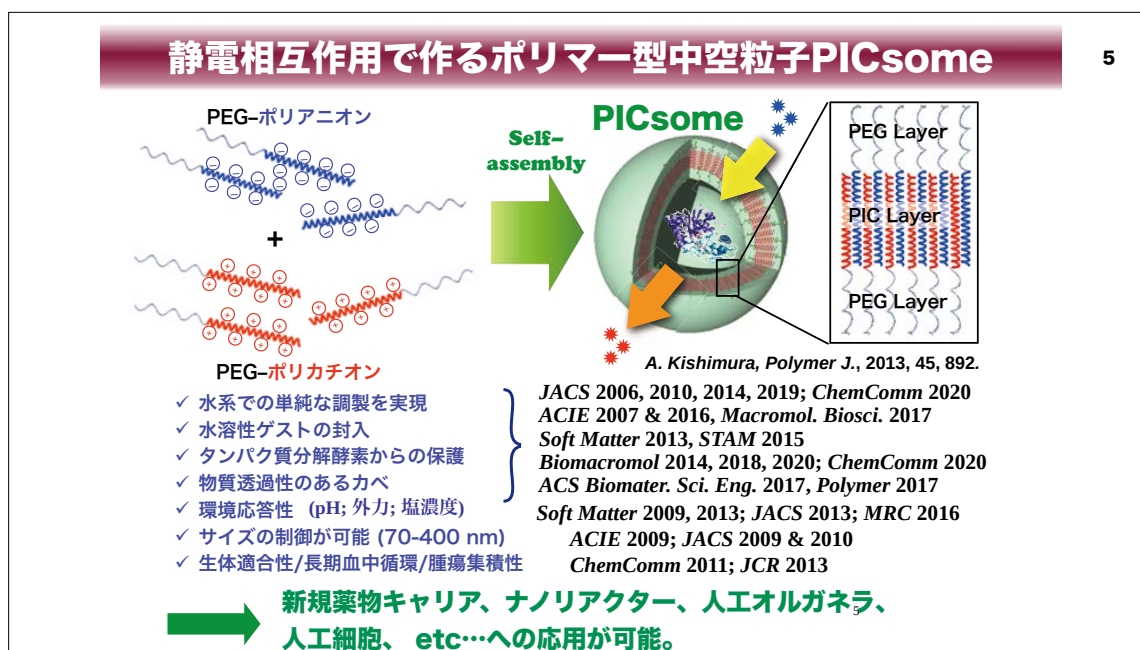


図 5-6-1 ポリマー型中空粒子 PICsome

これまでに、機能性材料と組み合わせて生体内でのイメージング、薬物デリバリーによるがん治療といった成果を報告している。ナノリアクターとしても、 β -ガラクトシダーゼを封入してがんへのデリバリーし、イメージング、治療に応用している。小胞型の人工オルガネラ創製とすることができる。

また、最近、液-液相分離のような状態を合成ポリマーから作る新手法を見出した。コアセルベートと呼ばれる物体で、ドロドロした構造がない液体に思えるが、デザインされたポリマーを使うと液体中に非常に制御されたナノ構造を発達させることができた。

生物系では、細胞質内の濃厚環境において特定の分子、タンパク質、核酸などが集積、液-液相分離する

ことで、メンブレンレスオルガネラとも呼ばれる液滴を生じる。この液滴が様々な機能を発現し、生命現象に非常に重要であると言われている。合成系では、コアセルベートとして液-液相分離現象は知られており、古くは細胞の祖先のようなものではないかとして注目を集めた。細胞内の液滴の物性が、人工的なコアセルベートに似た部分があり、モデル系として再び注目されている。我々も、人工的なコアセルベートを使って人工液滴、人工細胞のようなものが構築できないかと考えて取り組んでいる。

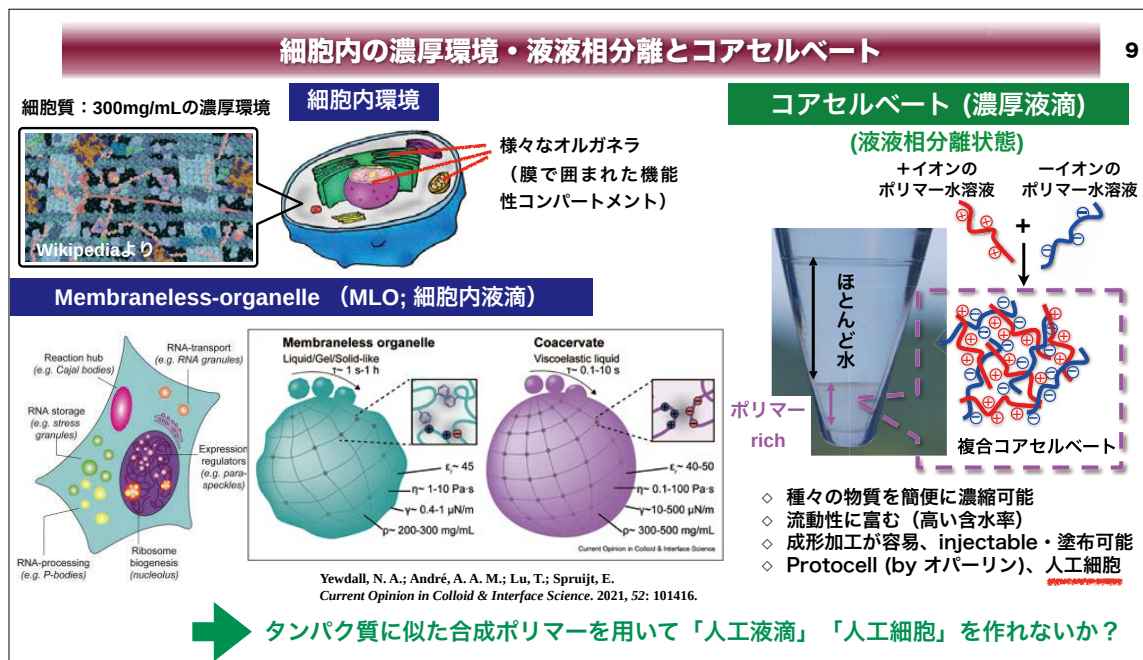


図5-6-2 細胞内の濃厚環境・液液相分離とコアセルベート

細胞内の液滴は“Biomolecular condensates”と呼ばれ、非常に注目を浴びている。既に創薬ターゲットとなり、海外では次々とスタートアップが立ち上がっている。日本の動向を完全には把握していないが、もっと活発になっていい領域だと考える。

例えば、カチオン性ポリマーであるポリリジンとアニオン性のポリアスパラギン酸を混ぜると、液滴が調製できることは知られていた。しかし、単に液滴だけつくっても生物学的なものとの比較はできない。細胞内の液滴が面白いのは、そこに様々な分子がリクルートされて何らかの機能を発揮するところであり、我々も分子をリクルートできるような液滴を調製できないか検討した。その結果、ある種のポリマーをうまくデザインすることで、タンパク質を取り込める液滴が得られることが分かった。例えば、 β -ガラクトシダーゼを事後的に加えることで自発的に集積化し、さらに中でまた別の相を作っていることが分かった。これは、細胞内の液-液相分離を一部ミミックした系になっており、こうした場をモデル系として、人工的なオルガネラとして使えないかということを考えている。

また、全くデザインを変えたポリマーをうまく組み合わせると、液滴の中にさらに別の液滴を生じさせることもできる。例えば、2相の液滴ができ、これを電子顕微鏡で観察するとそれぞれ中に違う構造ができていることが分かる。ポリマーのデザインによって、2相、3相と複数の相を持つ液滴が調製可能であることが分かっている。

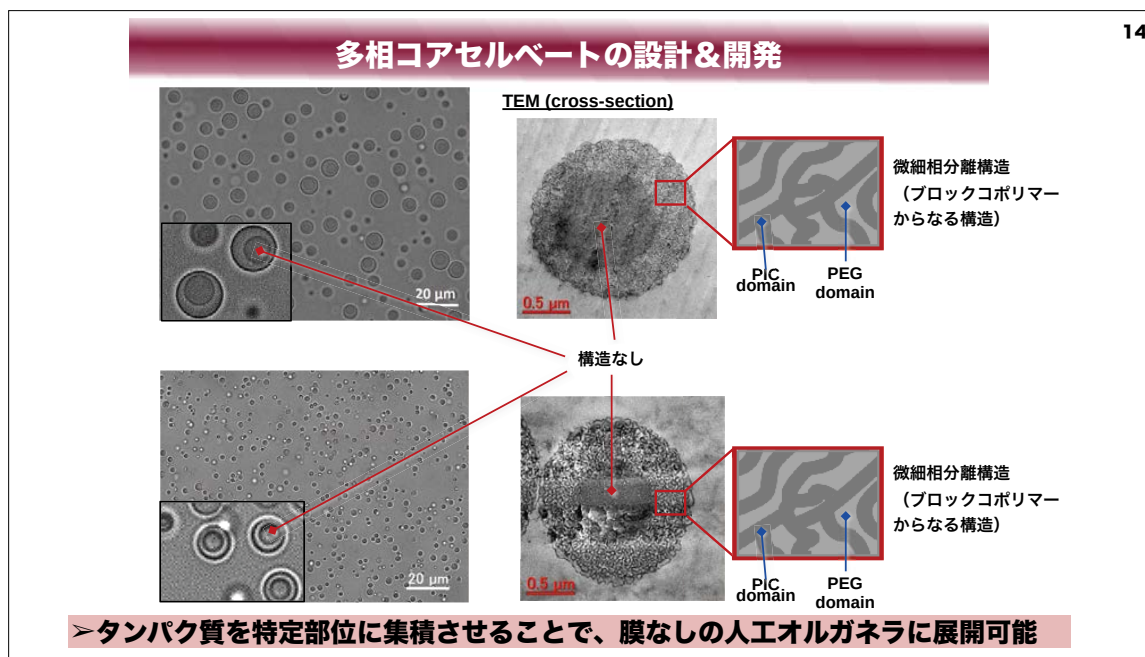


図5-6-3 多相コアセルベートの設計と開発

さらにこれを起点として、タンパク質濃縮体を調製した後に周りにポリマーの膜を発達させることも、相分離の状態を制御することで可能である。これは、マイクロスケールでも可能である。つまり、タンパク質が濃縮された核に対して膜がついているという点で、人工細胞様の構造体になっている。機能化することで、さらに人工細胞に近づけられるのではないかと考えている。

興味深いこととして、一旦形成された膜に浸透圧ショックなどを与えることで2重膜化、多重膜化できる。外的に制御できるということは、合理的に人工オルガネラを分子システムとして複雑化できることを示唆している。ミトコンドリアや葉緑体様のプラットフォームが形成可能になるのではないかと考えている。

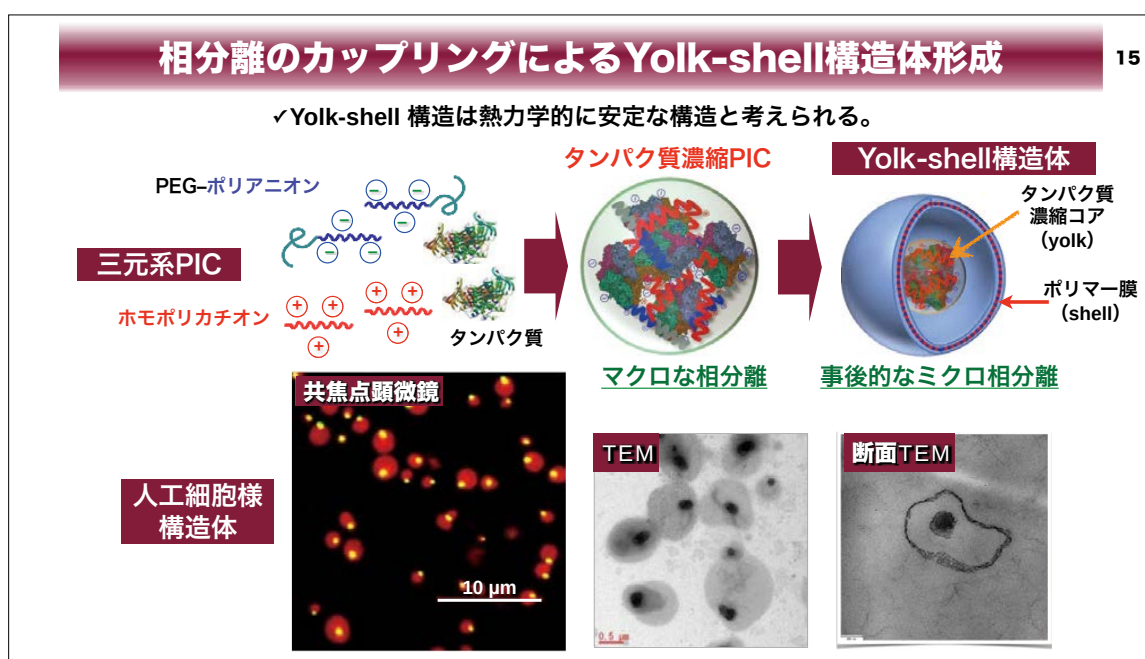


図5-6-4 相分離のカップリングによるYolk-shell構造体形成

ここからは展望を述べる。

典型的な例として、細胞内では、負電荷を持った核酸などの分子と正電荷をもったタンパク質から液-液相分離が起きる。通常は負電荷をもつGFPを改変して正電荷をもつようにすると、カチオン性が高い変異体はin vitroで核酸と液滴を形成し、大腸菌の中でも再現されるということが報告されている。このような現象からもわかる通り、核酸を細胞内にデリバリーするときにはカチオン性の材料がよく使われるが、そのカチオン性材料が細胞内に運ぶべき核酸以外の物質と相互作用し、液-液相分離を起こすことが考えられる。この点は見落とされている可能性がある。細胞に害になることがあるかも知れないが、逆に捉えれば新しい「液滴に介入するアプローチ」にもなり得ると考えている。

液滴を形成するタンパク質は、構造化ドメインと天然変性ドメインから成るものが多い。違った性質をもった高分子が直列につながった材料は、合成化学的にはブロック共重合体である。ブロック共重合体でタンパク質をミミックして液滴をつくと、液滴の中にパターン化されたナノ構造が形成される。つまり、細胞の中の液滴においても、現時点では見逃されているだけで、タンパク質が集まった見えない相分離構造がさらに存在する可能性が高いと考えられる。このような可能性も視野に、制御原理の類似性に着目して液滴に介入する分子を調製すれば、医薬モダリティにもなり得るのではないだろうか。

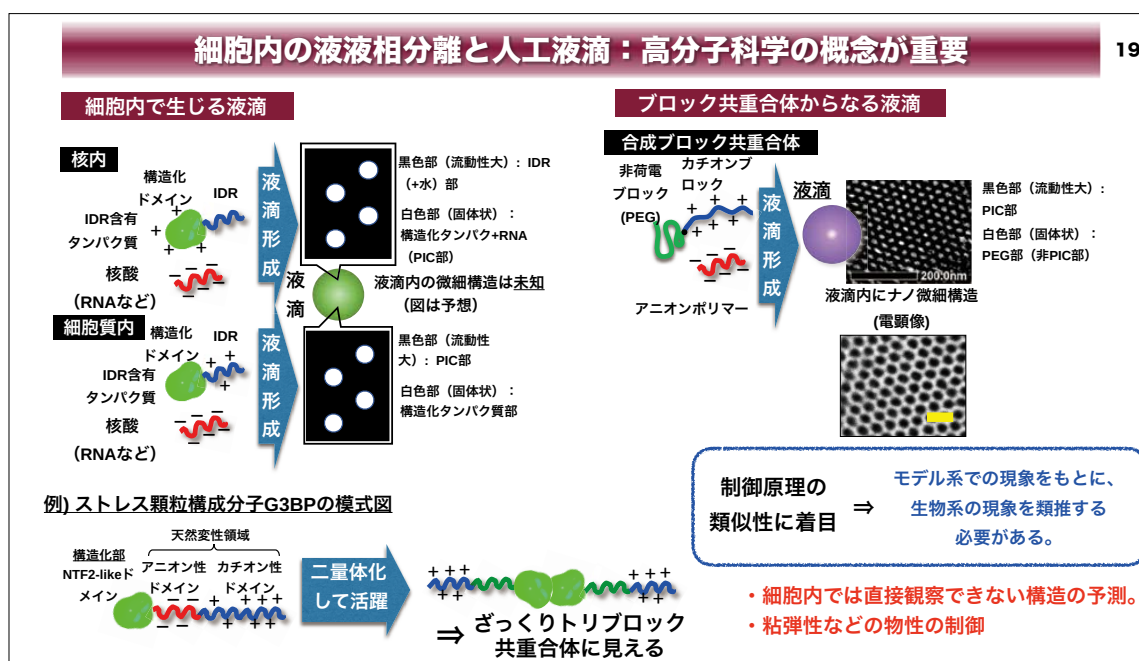


図 5-6-5 細胞内の液液層分離と人工液滴

今後の方向性として、短期的には調製しているものを細胞に応用したり、分子システムとして活用していくことを考えている。中長期的には、外来物質を細胞に導入した影響が見逃されてきた可能性があることから、その影響を理解することで新しい医薬モダリティの開発に繋がるのではないかと考えている。高分子材料としては、液-液相分離を構成するタンパク質の天然変性ドメインのように構造が定まっていなくても注目し、システム全体をよく理解した上で新しい視点に基づくデザインでde novoタンパク質、合成分子を作っていく方向性がある。その実現のためには、材料科学に加え、生命科学、計測技術、シミュレーション、データをうまく解析する技術などが一体化してやっていかないとはいけない。その先には、生物学的アプローチだけではできない、新たな機能改変細胞や新しい医薬モダリティが出てくるのではないかと考えている。

【質疑応答】

Q：海外で非膜型オルガネラをターゲットとした治療戦略が開発されつつあるという話だったが、具体的な介入ポイントは？

A：いくつかキーになる分子は分かっているので、おそらくそこを標的として低分子化合物を開発しているのではないかと。

6 | 総合討論

ファシリテータ 玉野井 冬彦（JST-CRDS）

本ワークショップの各セッションでは、有識者による話題提供後に討論時間を設け、ライフサイエンスとナノテク・材料技術の融合領域において今後期待される研究開発の方向性について議論した。また、全てのセッション終了後の総合討論では、各セッションおよび基調講演の内容を踏まえ、新たな融合領域の創出・構築に向けた展望や課題などについて議論をおこなった。主な意見を以下にまとめる。

【研究開発の方向性（計測）】

一分子計測

- ・一分子の解像度で細胞の中の状態を観察することや、一分子の感度で診断を行えるような技術開発を目指すことが、バイオ計測に共通する重要な方向性といえる。
- ・現在の一分子計測はほとんどが蛍光によるが、蛍光では測れないものも多い。非蛍光での高感度・一分子計測技術の開発は今後の重要な課題である。
- ・一分子計測はデータ量が膨大になる。大量のデータの取得・処理に関わる技術開発も重要である。

多項目計測

- ・バイオ計測は超高感度化に加えて、多項目・多次元の計測がこれから重要になると考えられる。例えばナノ量子センサを使うと、1つのセンサで微小な環境の温度や電場、磁場、pH、酸化還元電位などを測ることができる。
- ・多次元計測もデータ量が莫大になるため、情報科学、データ処理による対処が必要である。

実用技術に向けた課題

- ・社会実装のためには、何をどのような精度で計測とすることが重要なのか具体的に考える必要がある。例えば超高感度化が医療・医学の観点でどのような意味をもつかという課題がある。超高感度にすることで病気の極めて初期の兆候を捉えることができる場合もあるが、疾病の発生・亢進とは関係ない変化を見ている可能性もある点などに留意が必要である。
- ・新しい計測法を実際に使える技術にするためには、使いやすさや安定性など、基礎科学としての重要性とは別の観点での検討が必要である。また、実用技術とするには、前処理などにかかるコストや時間も考慮する必要がある。

【研究開発の方向性（バイオシステムの制御と人工合成）】

基礎科学・応用面での重要性

- ・ライフサイエンスとナノテクノロジー、材料のアプローチの融合により新たな展開が期待される分野として、システムとしての生物のより深い理解をあげることができる。生体をつかさどる細胞の部品である、細胞核、オルガネラ、膜、エクソソームの構造、機能の理解は、こうしたパーツを人工合成（再構成）し、生体に導入してその反応を制御することにより達成することが可能になるのではないかと。
- ・生体の外部からの刺激によりバイオシステムを制御する方法はこのワークショップのいくつかの発表で取り上げられた。一つは光をつかうことで新しい光応答性のシステムをデザインできる。しかし、可視光は組織透過性が弱い。X線、中性子などの放射線や超音波は可視光にくらべて透過性が高く、今後有用性が増すと思われる。

合成生物学

- ・今回のワークショップでは、人工合成において合成生物学的な手法・考え方をういた例が多く見られた。合成生物学は生物物質生産を始めとした応用・産業利用が着目されがちだが、基礎科学の面でもこれから極めて重要になってくることが、今回のワークショップで再認識された。
- ・合成生物学全体では日本は遅れていると言われるが、ナノ材料、有機化学・超分子など、蓄積がある研究分野が融合することで、合成生物学の分野で日本が強みを発揮できる可能性がある。
- ・合成生物学の中でも、そのベースとなる学問である代謝工学や育種、細胞機能を再構成するシステム創製といった分野を日本は得意としている。このような分野を伸ばすことが重要といえる。

材料としてのDNA・RNA

- ・DNAやRNAを材料として用いることによって生体内の反応を分析することが可能である。例えばRNAをデザインしてRNA結合タンパクを検出する方法などが既に開発されている。また、DNAをデザインして細胞の制御を行うなどが可能になってくる。こうした意味で材料としてのDNA、RNAの有用性はさらに明らかになってくると思われる。
- ・DNAは安定で精密な構造をつくるのに適している。それに対してRNAは分解されやすいが、タンパク質の発現や機能において有用な面がある。したがって、両者を目的に応じて組み合わせて使っていくことが重要である。また、それぞれ単体で制御するというのは難しい場合があり、一つの分子にとらわれずに複合的な分子をデザインしたり、それをもとに細胞の中の状態を制御、再構成する研究が必要である。
- ・核酸医薬の承認・上市が進んでいるが、化学修飾による機能化と、毒性を克服するための化学修飾がいたちごっこの様相を呈している。DNA、RNAを外来マテリアルとして見た場合の生体応答、バイオロジーの研究が必要である。最近では新型コロナのmRNAワクチンに触発されて関連する論文が出てきている段階にあり、これから更にこの分野の重要性が増すと考えられる。

【応用に向けた方向性・課題】

基礎生命科学での活用

- ・超解像顕微鏡や*in situ*のクライオ電顕などによって、基礎医学、基礎生物学においては数10nm～数 μ mのスケール（分子と細胞の間のスケール）での情報が増えてきた。生物の基本原理の理解を進める上で、今後は生体を計測・観察するだけではなく、計測により得られたこのスケールでの情報をもとに、細胞内の構成要素を再構成することが重要になってくる。

医療への応用

- ・医療の観点から見ると、合成生物学は「つくことで生命システムを理解する」ことと、「つくって医療に応用する」ことの2つの方向性があり、日本は後者が弱い。医療応用には何らかの目的があり、目的の達成には複数の技術を組み合わせなければならないが、それをおこなう人材が不足しているという問題がある。合成生物学に限らず個別の技術を持った人同士が相互作用をするだけでは難しく、明確な目的を持ってパーツを組み立てる人材が求められる。組み立ての過程で、解決すべき技術的な課題が浮かび上がってくる。

植物・農業への応用

- ・日本では健康・医療が最大の問題であると当然のように考えられているが、世界で見ると食料や農業の問題も大きい。植物や農業の分野は産業規模が大きく、2030年には医療系分野の3倍程度になると予想されている。ナノテク・材料の技術を医療応用だけでなく、植物や農業の分野に活かすことも検討すべきである。

【融合領域の構築に向けた課題】

異分野間の交流・情報交換の場

- ・異なる学会に所属している研究者が密にディスカッションできる機会というのは減多にない。学会を超えた

情報交換や深い議論によって、新しい展開が生まれる機会をつくることが望まれる。

- ・新しい分子や材料についてバイオロジー研究との組み合わせの可能性を、ナノテクノロジー・材料研究者がバイオロジー研究者と議論できる場があると、新しい分野が生まれるきっかけになると考えられる。
- ・異分野融合は、明確な課題設定の下におこなう場合と、特定の目的を持たずに集まった異分野研究者の中から新しい課題が浮かび上がってくる場合とがある。後者の方が革新的なことが生まれる可能性が高いが、その機会が非常に少ないのが現状である。以前のJSTさきがけや今のJST創発的研究支援事業などは、目的をもたない融合の機会になり得るだが、そういった機会がコロナ禍で激減しており、今後への影響が懸念される。
- ・異分野融合は目的ではなく、あくまで手段の一つであることは忘れてはいけない。まずは研究者それぞれに心の底からやりたいことがあった上で、それを実現するための手段として異分野融合というオプションが存在する。
- ・海外では、例えば免疫学教室の隣にコンピューターサイエンスや数理モデルの専門家がいるといった形のラボが自然発生的に出来上がっている。異分野の融合が自然と進むような仕組みを構築することが、日本でも独創性を生むうえで必要ではないか。
- ・異分野融合を行うためには、交流をするための専門的知識を持つことも重要。特にナノテク・材料分野の研究者の多くは生物学以外の分野の出身で、大学で生物学の講義は受けていない。物理や化学の講座であっても、生物学は必修とすることが望ましいのではないか。

新材料のトライアルの場、医工連携

- ・近年バイオマテリアルの領域では再生医療も含め様々な新しい展開が見られるが、実際に使用することが可能な材料は極めて限られている。優れた新素材をバイオマテリアルとして育てることのできるトライアルの場、医工連携を可能にするプラットフォームの構築が望まれる。
- ・バックキャスト的にどのような技術が求められているか、真の課題はどこにあるか、深く話し合うことのできる場があれば、ライフサイエンスとナノテク・材料が融合する分野として大きく進展すると期待される。

付録

付録1 開催趣旨・プログラム

開催趣旨

JST 研究開発戦略センター（CRDS）は、国内外の科学技術イノベーションの動向およびそれらに関する政策動向を把握・俯瞰・分析することにより、科学技術イノベーション政策や研究開発戦略の提言をおこない、その実現に向けた取組をおこなっています。

CRDS では研究開発が行われているコミュニティー全体を4つの分野（環境・エネルギー分野、システム・情報科学技術分野、ナノテクノロジー・材料分野、ライフサイエンス・臨床医学分野）に分け、これらの分野ごとに俯瞰・動向調査を実施しています。しかしながら、イノベーションの鍵となるような新しい学問領域や先端技術は、異なる分野の連携・融合領域において生まれることも多いため、CRDS では分野を越えた取組も積極的に行っています。

今般、CRDS ライフサイエンス・臨床医学ユニットおよびナノテクノロジー・材料ユニットは、共同で、ライフサイエンスとナノテク・材料技術の融合領域において注目すべき研究開発動向を把握し、俯瞰するためのワークショップ開催を企画いたしました。近年、ナノテクノロジーの分野においては、新規のナノスケール材料が次々に開発され、新興著しい量子技術との接点からはダイヤモンドNVセンターを用いた新たな量子計測技術や量子ドット・イメージング技術が生み出されています。また、ライフサイエンスにおいては、生命現象を分子の視点から理解しようとする分子生物学を起点として、新たな分子・分子システムを創ろうとする合成生物学、分子により生命現象を操作・制御しようとするケミカルバイオロジー、分子を網羅的に測るオミクスといったアプローチが盛んになっています。次世代シーケンサーやmRNAワクチン、リキッドバイオプシーなど、医療やバイオエコノミーに変革をもたらす数多くのイノベーションが最近になって登場していますが、こうしたイノベーションの根底にはライフサイエンス・医学研究により得られた知見とナノテク・材料技術との融合により生み出された新たな材料・デバイスや計測技術、操作・制御技術が存在しています。イノベーションの源泉となりうるこうした新たなシーズが我が国から続々と登場することを期待して、本ワークショップでは、新進気鋭の研究者にライフサイエンスとナノテク・材料技術の融合領域における最新の研究について広く紹介いただくと共に、今後の研究開発の方向性について議論いたします。

本ワークショップは非公開ですが、本ワークショップの内容はワークショップ報告書として取りまとめるとともに、CRDS 俯瞰報告書2023年版にエッセンスを反映する予定です。また、CRDS における戦略立案に活用するとともに、各界における施策立案等に活用いただくことを念頭に置いています。

プログラム

日時：2022 年 1 月 20 (木) 10:00-17:45

場所：TKP 市ヶ谷カンファレンスセンター バンケットホール 9C および オンラインのハイブリッド開催

10:00-10:05 開会挨拶 曾根 純一、谷口 維紹 (JST-CRDS)

10:05-10:15 事務連絡・趣旨説明 宮園 侑也、荒岡 礼 (JST-CRDS)

10:15-10:30 **基調講演**「ナノバイオデバイス、AI、量子技術が拓く未来医療」
馬場 嘉信 (名古屋大学)

10:30-11:48 **セッション 1：生体分子・生体環境の計測技術**

10:30-10:43 「生体ナノ量子センサーが実現する超早期診断プラットフォーム」
五十嵐 龍治 (量子科学技術研究開発機構)

10:43-10:56 「光単離化学 (PIC) による高解像度かつ高深度の空間オミクス解析」
沖 真弥 (京都大学)

10:56-11:09 「De novo ナノポア設計と分子ロボット工学への応用」
川野 竜司 (東京農工大学)

11:09-11:22 「1 細胞マルチオミクス解析に向けたナノポア技術開発」
筒井 真楠 (大阪大学)

11:22-11:35 「ナノテクが切り拓くデジタルバイオ分析技術」
渡邊 力也 (理化学研究所)

11:35-11:48 「広範な標的検出を可能にするメタ表面バイオセンサーの応用展望」
岩長 祐伸 (物質・材料研究機構)

11:48-12:08 議論

13:00-13:15 **基調講演**「細胞内分解ダイナミクス」
水島 昇 (東京大学)

13:15-14:33 **セッション 2：細胞・組織等の操作・制御技術**

13:15-13:28 「微生物シングルセル解析と大規模ゲノムデータが拓く革新的バイオ生産」
細川 正人 (早稲田大学)

13:28-13:41 「超分子ペプチドゲルを利用した損傷脳組織再生」
味岡 逸樹 (東京医科歯科大学)

13:41-13:54 「遺伝子の非コード領域を標的とした核酸医薬の創製と物質共生学の構築」
山吉 麻子 (長崎大学)

13:54-14:07 「がん細胞内で電子を放出して DNA を切断する新技術 新規放射線治療の確立へ向けて」
松本 光太郎 (京都大学)

14:07-14:20 「リキッドバイオプシーに向けた細胞外小胞・microRNA 捕捉技術の革新」
安井 隆雄 (名古屋大学)

14:20-14:33 「ナノカーボンバイオロジー」
伊丹 健一郎 (名古屋大学)

14:33-14:53 議論

15 : 05-16 : 23 セッション3：人工分子システムのデザイン・創製

15 : 05-15 : 18 「デザイナーファージの創出と社会実装」

安藤 弘樹（岐阜大学・アステラス製薬）

15 : 18-15 : 31 「DNA ナノデバイスの開発とメカノバイオロジー研究への応用」

岩城 光宏（大阪大学）

15 : 31-15 : 44 「ウイルス 1 粒子計測からウイルスを作って理解する」

田端 和仁（東京大学）

15 : 44-15 : 57 「mRNA ワクチン、医薬のためのデリバリー技術開発と mRNA 分子設計」

内田 智士（京都府立医科大学）

15 : 57-16 : 10 「RNA を基盤とする合成生命システムの創成」

齊藤 博英（京都大学）

16 : 10-16 : 23 「人工オルガネラ・人工液滴創出技術に基づく細胞機能制御・人工細胞構築への挑戦」

岸村 顕広（九州大学）

16 : 23-16 : 43 議論

16 : 55-17 : 40 総合討論

ファシリテータ：玉野井 冬彦（JST-CRDS）

論点① 新たな融合領域の創出・構築に向けた潮流と展望

論点②（世界の潮流から見た）日本の現状と課題、推進方策

論点③ 期待される社会へのインパクト

論点④ 10 年後のライフ、ナノサイエンスはどのようなになっているか

17 : 40-17 : 45 閉会挨拶

谷口 維紹、曾根 純一（JST-CRDS）

付録2 参加者一覧

(敬称略、所属・役職はワークショップ開催日時点のもの)

招聘有識者 (五十音順)

<話題提供者>

味岡 逸樹	東京医科歯科大学統合研究機構 准教授
安藤 弘樹	岐阜大学大学院医学系研究科 特任准教授／アステラス製薬株式会社 Principal Investigator
五十嵐 龍治	量子科学技術研究開発機構量子生命科学研究所 グループリーダー
伊丹 健一郎	名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 教授
岩城 光宏	大阪大学免疫学フロンティア研究センター 特任准教授
岩長 祐伸	物質・材料研究機構機能性材料研究拠点 主席研究員
内田 智士	京都府立医科大学大学院医学研究科 准教授
沖 真弥	京都大学大学院医学研究科 特定准教授
川野 竜司	東京農工大学工学研究院 教授
岸村 顕広	九州大学大学院工学研究院 准教授
齊藤 博英	京都大学iPS細胞研究所 教授
田端 和仁	東京大学大学院工学系研究科 准教授
筒井 真楠	大阪大学産業科学研究所 准教授
細川 正人	早稲田大学理工学術院 准教授
松本 光太郎	京都大学高等研究院物質-細胞統合システム拠点 特定助教
安井 隆雄	名古屋大学大学院工学研究科 准教授
山吉 麻子	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 教授
渡邊 力也	理化学研究所開拓研究本部 主任研究員

<基調講演、コメンテーター>

馬場 嘉信	名古屋大学大学院工学研究科 教授
水島 昇	東京大学大学院医学系研究科 教授

<コメンテーター>

秋吉 一成	京都大学大学院工学研究科 教授
津本 浩平	東京大学大学院工学系研究科 教授
東邦 康智	東京大学医学部附属病院 助教

JST-CRDSナノテクノロジー・材料ユニット

曾根 純一	上席フェロー
眞子 隆志	フェロー・ユニットリーダー
赤木 浩	フェロー
荒岡 礼	フェロー
大山 みづほ	フェロー
永野 智己	総括ユニットリーダー・JST研究監
沼澤 修平	フェロー
馬場 寿夫	フェロー
福井 弘行	フェロー
宮下 哲	フェロー

伊藤 聡	特任フェロー、計算科学振興財団 チーフコーディネーター
川合 知二	特任フェロー、大阪大学産業科学研究所 招へい教授
玉野井 冬彦	特任フェロー、京都大学高等研究院物質-細胞統合システム拠点 教授
八巻 徹也	特任フェロー、量子科学技術研究開発機構高崎量子応用研究所 次長

JST-CRDS ライフサイエンス・臨床医学ユニット

谷口 維紹	上席フェロー
小泉 聡司	フェロー・ユニットリーダー
桑原 明日香	フェロー
島津 博基	フェロー
辻 真博	フェロー
戸田 智美	フェロー
中村 輝郎	フェロー
宮蘭 侑也	フェロー
井上 貴文	特任フェロー、早稲田大学理工学術院 教授
柴田 大輔	特任フェロー、バイオインダストリー協会 理事

関係府省・機関

根橋 広樹	文部科学省研究振興局ライフサイエンス課 課長補佐
大竹 詩織	文部科学省研究振興局ライフサイエンス課 ライフサイエンス係長
矢野 清絵	文部科学省研究振興局ライフサイエンス課 技術参与
徳丸 恵理	文部科学省研究振興局ライフサイエンス課 調査員
田端 千夏	文部科学省科学技術・学術政策局研究開発戦略課 行政調査員
有沢 俊一	物質・材料研究機構経営企画部門 部門長
木村 阿紀子	物質・材料研究機構経営企画部門経営戦略室 専門職
谷口 彰良	物質・材料研究機構経営企画部門経営戦略室 特別専門職

JST

松崎 嘉代	CRDS企画運営室 主査
鈴木 和泉	CRDS企画運営室 フェロー
田子 智久	CRDS企画運営室 フェロー
花田 文子	CRDS企画運営室 フェロー
前田 さち子	戦略研究推進部 調査役
宇佐見 健	戦略研究推進部 課長代理
石指 綾	戦略研究推進部 主査
工藤 慶子	戦略研究推進部 主任調査員
藤村 泰生	戦略研究推進部 主任調査員
宮田 英之	戦略研究推進部 主任調査員
松本 秀一	イノベーション拠点推進部 主任調査員

ナノテクノロジー・材料ユニット

曽根 純一	上席フェロー
眞子 隆志	フェロー・ユニットリーダー
赤木 浩	フェロー
荒岡 礼	フェロー
大山 みづほ	フェロー
永野 智己	フェロー
沼澤 修平	フェロー
馬場 寿夫	フェロー
福井 弘行	フェロー
宮下 哲	フェロー
渡邊 孝信	フェロー
伊藤 聡	特任フェロー
岩本 敏	特任フェロー
川合 知二	特任フェロー
佐藤 勝昭	特任フェロー
玉野井 冬彦	特任フェロー
本間 格	特任フェロー
村井 眞二	特任フェロー
八巻 徹也	特任フェロー

ライフサイエンス・臨床医学ユニット

永井 良三	上席フェロー
谷口 維紹	上席フェロー
小泉 聡司	フェロー・ユニットリーダー
島津 博基	フェロー・ユニットリーダー補
桑原 明日香	フェロー
辻 真博	フェロー
戸田 智美	フェロー
中村 輝郎	フェロー
宮藺 侑也	フェロー
用貝 広幸	フェロー
井上 貴文	特任フェロー
柴田 大輔	特任フェロー
坂田 恒昭	特任フェロー

(ワークショップ開催時点のメンバー)

俯瞰ワークショップ報告書

CRDS-FY2022-WR-03

ライフサイエンスとナノテク・材料の融合が拓く新領域

令和 4 年 6 月 June 2022

ISBN 978-4-88890-802-3

国立研究開発法人科学技術振興機構 研究開発戦略センター

Center for Research and Development Strategy, Japan Science and Technology Agency

〒102-0076 東京都千代田区五番町7 K's 五番町

電話 03-5214-7481

E-mail crds@jst.go.jp

<https://www.jst.go.jp/crds/>

本書は著作権法等によって著作権が保護された著作物です。

著作権法で認められた場合を除き、本書の全部又は一部を許可無く複写・複製することを禁じます。

引用を行う際は、必ず出典を記述願います。

This publication is protected by copyright law and international treaties.

No part of this publication may be copied or reproduced in any form or by any means without permission of JST, except to the extent permitted by applicable law.

Any quotations must be appropriately acknowledged.

If you wish to copy, reproduce, display or otherwise use this publication, please contact crds@jst.go.jp.

FOR THE FUTURE OF
SCIENCE AND
SOCIETY



<https://www.jst.go.jp/crds/>