

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 蛋白質系レーザー化学を駆使した新規分析システムの構築

2. 研究代表者： 坪井 泰之(北海道大学 大学院理学研究科 化学専攻 助教授)

### 3. 研究概要：

JST「さがし研究21」(1998～2001)において「蛋白質系物質のレーザー化学」に関する系統的な研究を展開した成果に基づいて、本発展継続研究では、以下の(1)～(3)の研究に狙いを定めた。このうち、(3)は、本発展継続の研究遂行に伴い得たアイデアである。

(1) 生体機能分子で修飾したマイクロチップ分析チップの構築：

成果①： レーザー転写法によりATP(アデノシン三リン酸)検出型マイクロチップの作製

レーザー転写法において、レーザー波長、強度、集光照射光学系などを詳細に最適化したところ、柔軟なポリマー基板の上にルシフェラーゼのマイクロスポット(そのサイズと形状はレーザー集光スポットと一致する)を固定出来た。そのスポットにルシフェリン/ATP水溶液を滴下したところ、明瞭な発光が観測し、生理活性を保持したルシフェラーゼの転写に成功した。

(2) レーザートラップ・ラマン顕微鏡の構築

成果②： 高い放射圧を印加できるレーザートラップ・共焦点型ラマン顕微鏡の開発。

成果③： 代表的な感熱応答型高分子系に対し、広波数範囲のラマンスペクトルの計測の成功。

成果④： 上記高分子系において、感熱応答型相転移/相分離の光(放射圧)による誘起に成功。

レーザーによる“放射圧”を駆使した研究である。マイクロチップ内での反応や、光による蛋白質系分子の構造変化をさらに解析する目的で、レーザートラップ機能を有した共焦点型ラマン顕微鏡の開発を行った。特に高い放射圧を印加できるよう工夫した。この顕微鏡により、代表的な感熱応答型高分子であるポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)(PNIPAM)やポリビニルメチルエーテル(PVME)の光誘起相転移/相分離の研究を行った。PNIPAM、PVMEの水溶液を対象に、広い波数範囲(500 ~ 3500  $\text{cm}^{-1}$ )に渡るラマンスペクトルの計測に初めて成功した。さらに、放射圧印加下での重水溶液中(光熱効果が無視できる)のラマンスペクトルを詳細に解析した。その結果、光(放射圧)がコイル→グロビュール型相転移/相分離を誘起できることを実験的に初めて示した。

(3) 蛋白質系分子の構造変化計測を指向した圧力/温度ジャンプ計測システムの構築

成果⑤： レーザー衝撃波分光計測システムを開発と摩擦発光計測への応用。

成果⑥： レーザー温度ジャンプ法による、感熱応答型高分子系の相分離ダイナミクスの解明

レーザーによる“衝撃波”を利用した研究である。レーザー衝撃波により、蛋白質の構造変化をトリガーできれば蛋白質のフォールディングダイナミクスを追跡できると考えた。研究期間内にはそこまで到達できなかったが、レーザー衝撃波の発生と同期した時間分解型分光計測システムを構築した。これを有機結晶系の摩擦発光現象に適用し、半定量的な発光計測やそのダイナミクス計測に成功した。このレーザー衝撃波法は、圧力ジャンプ法の一つと見なすことができる。また、レー

レーザー増感温度ジャンプ法を提案し、この手法により PVME や PNIPAM の感熱応答相分離のダイナミクスを計測し、その時定数を決定することが出来た。レーザー衝撃波は細胞に対する遺伝子注入にも応用し、レーザー圧力ジャンプ法の適用範囲を広げることも検討した。

#### 4. 事後評価結果

##### 4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

レーザー応用技術を駆使して、国際的にも高く評価できる独創的な新規発見、現象解析を行っており、世界的トップクラスの論文発表で成果発信を果たしている。PRESTO、SORSTの流れの中で、画期的とは言えないまでも、多くの萌芽的で、世界トップレベルの成果を得ており、今後の発展が期待できる。3年間のしかも個人ベースの研究成果としては非常に内容が豊富であり、当初の研究構想を上まわる成果を出している。

当初の研究構想では、(1)生体機能分子で修飾したマイクロ分析チップの構築および(2)レーザートラップ・ラマン顕微鏡の構築を上げていたが、それに加えて、(3)レーザーにより制御された衝撃波を出す技術をも開発した。テーマ(1)は第一歩を踏みだした水準であるが、テーマ(2)(3)での計測、分析に複数の優れた成果を上げている。さらに、遺伝子注入への展開のように、研究の進捗と共に果敢に新規課題に挑戦していることは高く評価する。

ただし、テーマが拡散し過ぎている傾向もある。マイクロ分析化学への応用や単一微粒子のラマン分光など、委細は異なるが同類の研究は多く、そうした研究との比較がきちんと述べられていないところを感じられる。成果として得られた方法の利害得失を客観的に評価して初めて次のステップが見えてくるはずである。レーザー化学技術を客観的に厳しく捉え、「レーザーでもできる」というのでなく、周囲のライバル技術、関連技術との比較検討を絶えず念頭におきつつ、強い目標設定をして欲しい。その中から、レーザー化学のポテンシャルを活用した興味志向の多様な研究課題への拡散から脱却して、集中した最強の課題設定を行い、画期的な研究成果を期待する。

##### 4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

蛋白質分子の基板への固定化手法としてのレーザー増感転写法および蛋白質の構造解析手法として独創的なレーザー捕捉顕微ラマン分光法は、多様な生体物質関連の科学技術課題にも有用であり、その波及効果、インパクトは非常に大きいものと判断される。また、テーマ(3)のレーザー衝撃波の利用技術において、医学系の研究協力者を得て進めている遺伝子注入技術への展開も大いに期待できる。バイオマテリアルの制御技術は現在多方面から注目を浴びており、本課題での成果は今後異分野との共同研究での進展が大いに期待できる。

外部発表、口頭発表は、全発表中の50%以上は国際的トップクラスの論文発表であり、招待講演件数も少なくなく、内容的にも量的にも高く評価できる。工業所有権に対しては、基礎的な研究が主体であるが、戦略的特許出願が望まれる。

#### 4-3. 特記事項

評価委員会での発表時間の超過について、公式な研究発表、評価での場における大幅な設定時間超過は減点対象にもなりかねない。研究意欲から一言でも多く話したい熱意は理解できるが、最高のプレゼンテーションは、腹八分目も心得ること。今回の内容では省略、あるいは簡略にした方がよい箇所も少なくなかった。