

戦略的創造研究推進事業
－戦略創造プログラム－

研究領域「医療に向けた化学・生物系分子を利用した
バイオ素子・システムの創製」

研究領域中間評価用資料

平成18年3月14日

1. 戦略目標

戦略目標：非侵襲性医療システムの実現のためのナノバイオテクノロジーを活用した機能性材料・システムの創製（平成14年度設定）

1) 名称

非侵襲性医療システムの実現のためのナノバイオテクノロジーを活用した機能性材料・システムの創製

2) 具体的な達成目標

DNA、タンパク質などの生体分子の動作原理等を活用した各種の機能性材料、生体適合性材料、バイオデバイス、システム等の開発及び、ナノマシンテクノロジー技術を活用した細胞手術、遺伝子治療システム、バイオアクチュエーター等の開発に向けた技術の確立を目指す。

このため、2010年代に実用化・産業化を図るべく、以下のような成果等を目指す。

- ・人間の五感に匹敵する又は五感を超える感度を持つ高感度な外場応答材などによるインテリジェントなセンサ技術の開発及び、情報処理機能を持つ使い易いマンマシンインターフェースとして、高感度かつ知的なセンサの開発
- ・ドラッグデリバリーの標的精度を単一細胞レベルにまで高めるとともに、細胞・遺伝子治療の要素技術の開発を通じた、ナノテクノロジーを設計基盤とする安全・無痛・高効率医療効果を得るトータルなシステムの提案
- ・タンパク質分子やその複合体が関与する生体内反応を手本に、分子構造及び分子間相互作用の柔軟な変化を利用した、素子自体が状況を判断して最適な動作をするナノソフトマシンの開発
- ・遺伝情報に基づいて生体が行うようなプログラムに基づく自己組織化現象によるナノ構造制御の物質・材料構築技術の探索を通じた、生体を超える分子モーター、分子デバイス、五感センサ、脳型デバイス等の人工生体情報材料の開発

3) 目標設定の背景及び社会経済上の要請

経済のグローバル化と国際競争の激化等に伴う産業競争力の低下、雇用創出力の停滞といった現下の経済社会の課題を科学技術、産業技術の革新により克服し、我が国の産業競争力を強化し、経済社会の発展の礎を着実に築くことが不可欠である。このような革新的な科学技術、産業技術の発展の鍵を握るものとして、ナノレベルで制御された物質創製、観測・評価等の技術であるナノテクノロジーが、近年急速に注目されている。

具体的には、

- ①新たな医療システムとして期待の高い極小システムの構築が急がれる一方、
- ②ライフサイエンスとナノテクノロジー、電子技術などとの融合等が、次代の科学技術革命を拓くものとしての期待が高い。

また、これらの実用化・産業化の目標を達成するためには、ナノレベルでの計測・評価、加工、数値解析・シミュレーションなどの基盤技術開発や、革新的な物性、機能を有する新物質創製への取組みが必須である。

なお、総合科学技術会議分野別推進戦略（平成13年9月）においても、ナノテクノロジー・材料分野においては、国家的・社会的課題の克服のため、「医療用極小システム・材料、生物のメカ

ニズムを活用し制御するナノバイオロジー」が 5 つの重点領域の 1 つとして位置づけられているところである。

4) 目標設定の科学的な裏付け

創薬、再生医療等の医療への応用が期待されるライフサイエンス分野において、ゲノム技術の活用、疾病予防・治療技術開発、生物機能を高度に活用した物質生産、食料科学・技術開発等に加えて、新たな技術や手法の開発が求められており、そのためにナノテクノロジーの利用が不可欠である。

このようなナノバイオテクノロジーは、米国においては、2000 年から Cornell 大学を拠点として、Nanobiotechnology Center プロジェクトを開始している他、英国でも、オックスフォード大学、グラスゴー大学を中心としたナノバイオテクノロジーへの総合的な取り組みが開始されている等、昨今、欧米における取り組みの強化が目立つ分野である。ナノバイオテクノロジーについては、バイオテクノロジーと物理、ナノテクノロジー、電子技術などの融合が次代の科学技術革命を拓くものとして期待が高く、我が国においてもこのような新たな分野において、世界のトップを目指すべく、緊急かつ戦略的な取り組みを開始すべき領域である。

具体的には、

- ・高感度かつ知的なセンサーに関しては、情報を検知するセンサーについての開発は進んでいるところであるが、さらに多様な情報を超高感度で検知し、情報を処理伝達できる知的センター及び材料の開発が重要度を増している。
- ・IT 化医療に関しては、個々の DNA 分子に対して自由に人工操作を加えるトップダウン型ナノテクノロジー的方法の開発が急務であるとともに、ドラッグデリバリーシステムとしては、高度なターゲット制度、放出医薬のモニター方法、ナノマニピュレータの開発が待たれている。
- ・ナノソフトマシンについては、既に個々のタンパク質の動態を観察、操作し、分析するための 1 分子テクノロジーはほぼ確立しているが、これを発展させ、細胞内での個々の生体分子複合体レベルでの機能解明と相互の分子の作用ネットワークのメカニズムの解明及びその医療応用等への取り組みが求められている。
- ・プログラム自己組織化については、最近では複数の分子種を構造制御しながら配列しようとする研究がなされているところであるが、人工分子を機能デバイスとして発展させていくためにより高密度に集積するとともに、集積した機能物質を利用したセンサー、メモリー等の開発等が求められる。

5) 重点研究期間

ナノテクノロジー分野については、競争が激しく多くの研究領域を推進する必要があるため初年度のみの公募とし、次年度以降には新たに同じ研究領域での公募は行わない。1 研究課題は概ね 5 年の研究を実施する。（なお、優れた研究成果をあげている研究課題については、厳正な評価を実施した上で、研究期間の延長を可能とする。）

2. 研究領域

「医療に向けた化学・生物系分子を利用したバイオ素子・システムの創製」
(平成13年度発足)

この研究領域は、医療への応用に向け、ナノスケールでの生体反応・情報制御技術、バイオ素子・システム等の創製、および、それを用いる化学・生物系ナノ構造体に係わる研究を対象とする。

具体的には、超高感度に物質濃度や温度・圧力等を測定するバイオ素子・システムや生体情報や生体反応を計測・制御するバイオ素子・システム等の創製に係わる研究、バイオ素子・システム等の創製に必要となる化学・生物系ナノ構造体や材料に係わる研究、バイオ素子・システムを診断・治療等医療に応用する研究やドラッグデリバリーシステム等が含まれる。

3. 研究総括

相澤 益男 (東京工業大学 学長)

4. 採択課題・研究費

(単位：百万円)

採択年度	研究代表者	所属・役職	研究課題	予定研究費
平成 13 年度	宇田 泰三	県立広島大学 教授	健康・福祉のためのナノバイオ材料およびバイオ素子としての「スーパー抗体酵素」の創製	286.5
	大須賀篤弘	京都大学 教授	巨大ポルフィリンアレーのメゾスコピック構造デバイス	447.6
	岡野 光夫	東京女子医科大学 教授	新規組織再構成技術の開発と次世代バイオセンサーの創製	291.3
	岡畑 恵雄	東京工業大学 教授	生体分子間相互作用を連続的に検出するための多機能型水晶発振子マルチセンサの設計と開発	252.6
	片岡 一則	東京大学 教授	遺伝子ベクターとして機能するナノ構造デバイスの創製	517.5
	山瀬 利博	東京工業大学 教授	ナノクラスターポリ酸を用いた分子機械の構築	465.8
平成 14 年度	明石 満	大阪大学 教授	ナノ粒子を応用した抗レトロウイルスワクチンの開発	490.3
	北森 武彦	東京大学 教授	ナノ生物物理化学アーキテクチャの構築と応用	496.4
	清水 正昭	富士ゼロックス 中央研究所長	電子細胞を目指した極微小バイオセンサーによる分子認識システムの構築	51.5
	鈴木 孝治	慶應義塾大学 教授	ナノケミカルプローブの創製とバイオ・医療計測	348.0
	関根 光雄	東京工業大学 教授	ゲノム制御・検出能をもつ革新的人工核酸の創成	469.9
	松岡 英明	東京農工大学 教授	疾患モデル細胞の高効率創製と機能解析	459.7
	松本 和子	早稲田大学 教授	金属錯体プローブを用いる遅延蛍光バイオイメージング	380.3
平成 15 年度	片山 佳樹	九州大学 教授	細胞対話型分子システムを用いる革新的遺伝子送達概念の創製	392.8
平成 16 年度	由良 敬	原子力研究所 副主任研究員	低分解能生体超分子像からの原子構造構築技法	149.5
総研究費				5,499.7

5. 研究総括の狙い

(ナノテクノロジーは21世紀の基盤技術の一つとして急速に展開を示しており、その重要性は広く認識されるところとなっている。当領域は、「化学・生物系の新材料等の創製：ナノスケールでの革新的な機能材料、分子機械、バイオ素子、バイオセンサ技術の創製を目指して」として平成13年度に発足し、平成14年度の「ナノテクノロジーフィールド別バーチャルラボ」の発足に伴って、非侵襲性医療システムの実現のためのナノバイオテクノロジーを活用した機能性材料・システムの創製」を戦略目標とする「医療に向けた化学・生物系分子を利用したバイオ素子・システムの創製」研究領域として改組され、平成15年の1課題、平成16年に情報系の1課題を採択して、現在に至っている。)

200件を超える応募の中より厳選した結果、生体分子や合成高分子などを用いて、ボトムアップ手法により、将来、医療への応用を目指すナノサイズの材料やシステムの構築を目的とする課題として、ドラッグ・デリバリー・システム（DDS）、生体分子・合成分子の医療材料としての応用、生体分子の計測・観察、生体分子・細胞のモデル化・シミュレーションなどを含む幅広いものとなった。

医工連携の中心となれるテーマや、チーム編成で他分野との連携を指向している課題、世界的なネットワークの形成、独創的な発想に基づく提案等があり、医療に応用するためには、安全性評価などにかなりの時間を要するが、5～10年以内に応用への展開が期待できる課題を中心に、独創的な発想に基づく提案であるが、応用への展開にはかなり時間が必要と思われる基礎的な研究課題も採択した。

6. 選考方針

生体分子や合成分子の利用方法の独創性、チーム編成がその時点での研究の進捗に対応して適切に医療分野などと連携が取れるようになっているか、課題達成の可能性と達成した際のインパクトの大きさ、成果の応用の可能性の広さなどとともに、応用面での可能性は未知であるが、その分野を深く追求しているものも選考の対象とした。その結果、DDSに分類できるもの、生体分子を利用するもの、合成分子を利用するもの、計測・観察の関するもの、生体分子・細胞のシミュレーションに関するものなど15件を採択した。平成15年度に私的的理由により、平成14年度採択1研究代表者の研究辞退があり、研究代表者の変更等も含めて検討した結果、平成15年度で終了とした。

7. 領域アドバイザー

領域アドバイザーナ	所属	役職	任期
猪飼 篤	東京工業大学大学院 生命理工学研究科	教授	平成13年4月～平成16年3月
岡本 正義	(株) テルム	顧問	平成13年4月～平成20年3月
雀部 博之	千歳科学技術大学	学長	平成13年4月～平成20年3月
宍戸 昌彦	岡山大学大学院 自然科学研究科	教授	平成13年4月～平成20年3月
土井 正男	東京大学大学院 工学系研究科	教授	平成16年4月～平成20年3月
松永 是	東京農工大学工学部	工学部長 ・教授	平成13年4月～平成20年3月

山崎 巍	北海道大学	名誉教授	平成 13 年 4 月～平成 20 年 3 月
------	-------	------	-------------------------

領域アドバイザーとしては、採択研究対象範囲の広さから、大学・民間企業において「生命工学」「分子生物学」「生物有機化学」「バイオエレクトロニクス」「分析」「ナノ材料」「分子デバイス」等の分野で既に高い業績をあげており、それぞれの分野において評価の高い方々にお願いした。各分野を横断的、総合的に判断出来る研究者である。私的都合により、平成 15 年度で 1 名の退任があったがそれに伴う新規のアドバイザーの依頼は行わないこととした。シミュレーション関連のテーマの追加に伴い、平成 16 年度より 1 名の追加があった

8. 研究領域の運営

研究総括の基本方針として、研究領域の研究対象の幅の広いこともあり、研究を研究課題に限定せず、戦略を持って積極的に周辺領域に拡げていって貰うことを期待した。定期的な領域会議の開催や公開シンポジウムによる成果の紹介等を行っている。

- 研究課題の採択に当たっては、書類選考および面接選考により決定した。書類選考は、1 提案当たり 2 名のアドバイザーと研究総括による査読により、選考の公平性を保ち、アドバイザー全員の協議により、面接選考の候補を決定した。面接選考では、採択予定のおよそ 2 倍の課題について面接を行い、アドバイザー全員の評価結果を基に、合議により採択課題を決定した。
- 採択課題の研究進捗状況は、各年度の研究計画作成時に領域会議を開催し、アドバイザー全員の参加の下で、研究実績の報告、研究計画・予算の審議を行い、研究の成果・方向性の確認・修正を行った。若手研究者の交流の場となるように、領域会議に於いてはポスターセッションを併設した場合もあり、好評を博している。
- 平成 15、16 年採択の各 1 課題については、全体計画作成後、総括による面談を行い、研究の方向の確認と修正を行った。
- 2 年次終了時点より、1 回／年の公開シンポジウムを開催し、成果を公表している。第 1 回目は、採択年次別の成果発表としたが、領域外の参加が少なかったことを反省し、2 回目以降はテーマを設定し、研究代表者をオーガナイザーに指名して、テーマに沿った研究および領域外のその分野の著名な研究者に講演を依頼した。その結果、領域外、わけても民間企業からの参加が大幅に増加し、成果の公開という面からは効果的な公開シンポジウムになったと考えている。
- 予算の執行、研究者の採用に当たっては、研究課題遂行のためのものであることの理解を求め、その趣旨から外れると総括が判断したものについては、事情の説明を求め是正を依頼したこともある。
- 予算の 1 部を領域預かりとして、研究の進捗状況に合わせて追加予算として配分した。この追加予算の配分により、研究が加速されたチームもあり、予算の有効な活用手段となった。
- 研究総括は、研究者と研究推進の方向性について厳しい議論を繰り返し、研究者のポテンシャルを最大限に發揮させることに意を注ぎ、方向性の修正も大胆に行った。

9. 研究の経過

研究領域としては 4 年目を迎え、研究は後半に入っている。多少のバラツキはあるが、素晴らしい成果が得られており、研究者もそれぞれの分野で目覚ましい活躍を見せている。以下に主な成果の概要を述べる。

A. 平成 13 年度採択研究課題

- 1) 宇田代表者；「健康・福祉のためのナノバイオ材料およびバイオ素子としての「スーパ

「抗体酵素」の創製

この研究課題は、従来の一般的な概念を覆す抗原を分解する酵素作用を持つ抗体を研究し、その作用機構を解明すると共に、酵素作用を増強して、将来は医薬用途に展開しようとするものである。

これまでの研究で、その酵素作用は抗体の遺伝子にコードされているアミノ酸の触媒三つ組残基 (Ser. His. Asp) によることを突き止めた。その配列を含む抗体重鎖や軽鎖を切り出すことによって、より強い酵素作用を示すものがあることも発見し、これらを *Antigenase* と命名した。これらは、マウスの抗体で確認されたが、ヒトの抗体でも同様であることが確認され、解明を進めている。この用途として、HIV やインフルエンザなどのウイルスの表面タンパクの不变部の分解や、ヘルコバクター・ピロリのウレアーゼの分解などの応用も検討を進めている。医薬としての開発の方向が視野に入ってきており、その成果に注目が集まりつつある。また、研究の進展に伴って、チーム拡充が行われており、医学分野の専門家が参加している。

2) 大須賀代表者；「巨大ポルフィリンアレーのメゾスコピック構造デバイス」

この研究課題は、新規なポリフィリン分子を合成し、その物性や触媒作用等を測定して、新規な光学材料やナノサイズの分子材料としての用途を開拓しようとするものである。

ポルフィリン合成においては、ポルフィリンの 1024 量体（長さが $0.86\mu m$ に達する）や各種のポルフィリンテープ、リングなど有機合成の限界に迫るような巨大分子や π 拡張共役分子の合成に成功した。512 量体の STM での単分子観測にも成功している。また、巨大ポルフィリンアレーの両末端を修飾し、ナノギャップに結合させ、電気的特性の測定を行っている等、物性も測定しているところである。

環状ポルフィリンの一種であるオクタフィリンに、銅 (II) イオン 2 つを配位させ、熱分解して 2 分子の銅 (II) ポルフィリンを高収率で得られるというこれまで例のない反応形式を開発し、その合成技術が高く評価され、*Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**(2004) にハイライトとして取り上げられている。また、合成したポルフィリンが *JPCA, Acc. Chem. Res.*, 等の学術雑誌の表紙を飾っている。

3) 岡野代表者；「新規組織再構成技術の開発と次世代バイオセンサーの創製」

この研究課題は、細胞培養技術を基に、再生医療への応用や高精度に制御された培養細胞を利用し、バイオセンサなどへの展開を図ろうとするものである。

ナノ構造を制御した高分子を用いた培養皿を完成させ、細胞シートの作成に磨きが掛かっている。この細胞シートは、従来の技術と異なり接着層を付けたまま回収可能なため、縫合しなくても接着するという画期的なものである。CREST 外ではあるが、この技術を応用して角膜上皮細胞再生の実用化へ向けての臨床研究が行われており、既に 20 数例の成功例が出ている。培養細胞のセンサへの応用については、超微細パターン上で細胞培養技術を確立し、これらを細胞毒性センサなどへの応用の研究が進んでいる。また、カドミウムストレスに高感度に応答して蛍光を発するストレス応答性細胞や、PMP Complex による人工酵素による ATP センサ、シナプスモデル細胞の作製と医薬化合物スクリーニングへ応用など、バイオセンサの研究も着実に前進している。

4) 岡畠代表者；「生体分子間相互作用を連続的に検出するための多機能型水晶発振子マルチセンサの設計と開発」

この研究課題は、水晶発振子を用いたマイクロバランス (QCM 装置) を改良し、高感度化、マルチセル化などを進めると共に、これを用いた分子スケールでの反応などの現象を測定しようとするものである。

QCM 装置は改良が進み、大幅なノイズ低減により感度が上がり、測定セルの小型化、マルチ化 (4 セル) も進んでいる。さらにセルの改良を進め、マイクロフローセル化

にも成功した。 フローセルにおいては、ノイズを 1/20 に減らすことにより高感度化を達成し、分子量 200 程度の分子の測定が可能となり、糖 1 分子や薬物のレセプター蛋白への結合まで追跡可能となった。 これにより、薬物スクリーニングにも使える可能性が出てきている。

QCM 装置による生体内反応の動的解析が進み、これまで直接観測が困難であった 1 : 1 の DNA-DNA 間、DNA-タンパク質間、糖-蛋白質間、タンパク質間などの相互作用の検出や、DNA 上での酵素反応、糖鎖上での酵素反応など、従来よく分かっていなかつた生体内反応の詳細な動的解析に成功している。

5) 片岡代表者 ; 「遺伝子ベクターとして機能するナノ構造デバイスの創製」

この研究課題は、ウイルス性遺伝子ベクターに代わる安全でかつ高機能な人工遺伝子ベクターの創製を目的としている。 合成高分子ミセル型と脂質膜エンベロープ型の 2 種類について、機能性を付与して疾患細胞への遺伝子の送達効率をあげ、実用化を視野に入れた研究を進めようとするものである。

高分子ミセル型と脂質膜エンベロープ型の 2 種について研究は、両方法共に目覚ましい成果を上げている。 高分子ミセル型ベクターにおいては、構成因子の一つであるカチオン性高分子のカチオン性ユニットに異なる二種類のアミンを導入するという新しい概念で、従来の PEG-PLL からなるナノ構造デバイスと比較して 1000~10000 倍の遺伝子発現活性を得ることに成功している。 この細胞内移行促進機能を有するナノ構造デバイスを用いて、in vivo 実験モデルとして骨芽細胞への分化誘導に働く転写因子遺伝子発現 pDNA を組み込んだベクターにより遺伝子の長期持続的発現による骨芽細胞分化誘導が得られ、マウスにおいて新生骨形成が観察された。 この結果は、遺伝子治療による明確な in vivo 骨再生に成功した世界で初めての例となった。 また、デンドリマー型光増感剤を表面に有するベクターを用いて、ラット結膜の光照射部のみに蛍光体蛋白の遺伝子発現を誘導できることも確認している。 エンベロープ型ベクターにおいては、脂質膜表面にアルギニン 8 重合体を提示させることによって、マウス皮膚の毛根からの局所的な遺伝子導入に成功し、育毛剤や経皮遺伝子治療の有効なツールとしての高い可能性を有することが示されている。

このように、このチームの研究は人工遺伝子ベクターの研究では、in vivo で有効に機能を発揮するという成果を得ており、世界のトップを走っているものと認められる。

6) 山瀬代表者 ; 「ナノクラスターポリ酸を用いた分子機械の構築」

この研究課題は、新規ポリ酸を合成しその構造や物性を測定すると共に、その特性を活用して分子サイズの新規材料として、光学材料、分子磁石、無機医薬などへの展開を図ろうとするものである。

モリブデン、タングステンを中心とするタイヤ状のリング、チューブ等種々の新規ポリ酸の合成に成功している。 W のビルディングブロックと希土類イオンのリンカーを用いた光反応による合成技術は世界的にも注目されている。

これらの新規化合物は、構造決定と同時に物性の測定も行われており、光学特性や分子磁石としての特性の発見もなされている。 新規に合成されたポリ酸は、従来の用途である触媒や光学特性の利用以外に、非常に優れた生理活性を示すことが明らかにされている。 MRSA, VRSA への有効性や in vivo でのアポトーシス誘導による抗がん作用が確認されており、ポリ酸を基板とする無機医薬の実現に向けたメカニズムの解明が続けられている。 これに伴い、生理活性評価担当者が加わりチームが拡充された。

B. 平成 14 年度採択研究課題

7) 明石代表者 ; 「ナノ粒子を応用した抗レトロウイルスワクチンの開発」

この研究課題は、高分子ナノ粒子に抗原を固定化し免疫を誘導する、安全性・有効性

の高い抗レトロウイルスワクチンを開発しようとするものである。

当初高分子材料として合成高分子（ポリスチレン）を用いていたが、生体内で難分解性であることから、生分解性の γ -PGA（ γ -ポリグルタミン酸）に変更した。このナノ粒子は、疎水修飾することによって、優れた蛋白キャリヤとしての性質を示し、新たな展開を見せている。

このナノ粒子は表面のみでなく抗原を内包するものも作製が可能であり、現在もっとも強力なアジュバント効果を持つと言われるCFA（毒性が強く実用化されていない）を上回るCTL誘導効果を示し、かつ毒性も非常に低いことが明らかとなった。即ち、安全性と有効性を兼ね備えた世界初のワクチンキャリヤであることが判ってきた。このナノ粒子を用いたレトロウイルスワクチンの開発は、マウスでの実験では極めて優れた免疫誘導効果が認められ、サルを用いた有効性の検証の段階に移ってきており、抗腫瘍効果のデータも着々と蓄積されつつある。

8) 北森代表者：「ナノ生物物理化学アーキテクチュアの構築と応用」

この研究課題は、マイクロチップに化学システムを集積するトップダウンテクノロジーと、その空間にナノサイズのインフラを構築するボトムアップテクノロジーを駆使して、ナノメートル空間における物理化学を究明し、新しいアーキテクチュアを構築すると同時に、その空間に化学・バイオ機能を有する超高集積化・高機能デバイスを開発して、疾病センサや選択的機能人工臓器デバイス等の創製を目指すものである。

微細加工の面においては、石英基盤上に世界最小の40nmのチャンネルの高精度な加工に成功しており、金属上の100nmナノサイズチャンネルの壁面の疎水加工等の塗り分けも可能となっている。これを利用して、従来液一液系に限定されていたこの領域での操作を蒸留などの気一液系に拡張できる可能性があることを示している。これは、この領域の空間の利用範囲が大幅に増加することを示しており、非常に興味深い結果である。また、ナノサイズ空間においては、分子の物性が変わることが予想されるが、純水のNMRによる解析によって、空間サイズ変化にプロトンの移動度が変化する効果を観測しており、水のナノ空間における新しい構造モデルを提案している。また、ナノメートル空間における細胞の培養に成功し、その空間においては、液の剪断応力（流れの早さ）と培養細胞の形態に対応があることを初めて実証している。長時間培養による細胞のパターニングにも成功している。

9) 清水代表者：「電子細胞を目指した極微小バイオセンサーによる分子認識システムの構築」

この研究課題は、長期的な目標である電子細胞の実現を目指して、その実現のための超高感度バイオセンサーの開発を行おうとするものである。即ち、カーボンナノチューブをセンサーの母体とし、生体物質と接合を利用して神経伝達物質等の分子認識を高感度に行おうとするものである。

カーボンナノチューブ（CNT）を用いたセンサーの開発過程で、CNTは側面と先端で著しく電気的性質が異なることを発見している。CNTの先端部は効率よく電子を放出できること、これをを利用してCNTを束ねて超並列にし、しかも先端部のみ露出させることによって、高感度な還元的電気化学電極を作製している。この電極の感度は、fMという高感度であった。残念ながら、代表者の私的事情により、研究継続が不可能となり、この段階で研究は終了した。（平成15年度で研究終了）

10) 鈴木代表者：「ナノケミカルプローブの創製とバイオ・医療計測」

この研究課題は、ナノサイズの計測が可能な蛍光プローブ、光・電気化学プローブ、質量分析プローブという3種類の新規ナノケミカルプローブの開発とその応用技術を開発し、生細胞内外の物質の動態解析を可能とすることを目的としている。

個々の技術としては、近接場光・電気化学・原子間力を1つのプローブで同時に測定

できる顕微鏡の開発、カルシウム・マグネシウムマルチ蛍光プローブ、アダクティブマスプローブを用いた MAPI(Mass Probe Aided Ionization)の提案などの優れた成果が得られている。中でも、MAPI は新しい概念であり、注目すべき成果といえる。今後は、個別の技術の開発に加えて、それらを統合した「細胞のリアルタイム測定」「細胞応答観察システム」から“単一細胞レベルの動態解析”へと進む方向である。

11) 関根代表者；「ゲノム制御・検出能をもつ革新的人工核酸の創成」

この研究課題は、塩基部無保護法による DNA 合成や、人工塩基による高精度核酸塩基識別法などの技術をベースに、革新的な人工核酸を創製し、高機能な DNA、RNA チップなどの開拓やアンチジーン DNA 等の創出を目指しているものである。

核酸合成技術においては、塩基部無保護法を発展させ、スループットを従来技術より大幅に改善した DNA20 量体の合成に成功している。(例：1 工程の選択率 99.7%) この方法によって DNA チップを作製すると、従来のチップより大幅に有効成分の多いものが作製できる筈であり、実証に向けて研究が続けられている。

RNA の合成においても、立体障害の少ない 2'-O-シアノエチル RNA の開発に成功し、優れた RNA 合成の中間体として、及び機能性 RNA として、siRNA や RNA プローブとしての可能性を提示している。この成果は、これから RNA 研究にとっては、非常に有用な手段となることは間違いないところと思われる。

12) 松岡代表者；「疾患モデル細胞の高効率創製と機能解析」

この研究課題は、将来的に逆遺伝学に基づく疾患の解析、治療法の評価などに利用できる「疾患モデル細胞ライブラリー」の開発を目的とし、ES 細胞の高効率創製と機能解析を行う要素技術を開発するものである。ES 細胞を標的とする高効率マイクロインジェクションを可能にする「単一細胞操作支援ロボット：SMSR」の開発と、疾患細胞のモデルとして「糖尿病モデル細胞」の作製を目指している。

SMSR(Single-Cell Manipulation Supporting Robot)の開発については、もっとも困難と予想されていたマウス ES 細胞への遺伝子導入に世界で初めて成功した。その後の改良により、 $20\text{ }\mu\text{m}$ の ES 細胞へのインジェクションも可能となり、その成功率も 5～10% へと大幅に向上了。この SMSR を用いれば、イネプロトプラストなどの植物の細胞への遺伝子導入も可能であることが示され、ほぼ完成した技術となっている。

糖尿病モデル細胞の作製については、50種類以上ある糖尿病関連遺伝子の中から、既往の知見に基づき 6 種類を選択して、そのうちの 3 種については ES 細胞の作製を終了し、トランスジェニックマウスの作製に移行している。残りの遺伝子についてもノックダウンを実施中である。新規な糖尿病遺伝子の探索も行われており、国内外との共同研究も始まっている。

13) 松本代表者；「金属錯体プローブを用いる遅延蛍光バイオイメージング」

この研究課題は、希土類蛍光錯体の蛍光の蛍光時間が長いことを利用して、より長い蛍光時間とブリーチングし難いものを開発し、遅延蛍光顕微鏡と組み合わせて、長時間連続での生体物質の観測を可能としようとするものである。併せて、mRNA の生体内での動態を高感度に定量イメージングする方法、希土類金属錯体を用いた疾病機構の解明を目的とするものである。

蛍光錯体については、生体内環境でも安定で、光照射による劣化が起きにくい新しいラベル化剤 DTBTA-Eu³⁺の開発に成功した。この化合物は、従来の蛍光錯体が電荷をかけた際に安定性が悪いため、使用できなかったキャピラリー電気泳動の分野でも使用可能であり、新しい展開が期待できるものである。この新規錯体と、これを用いる新規時間分解顕微鏡も試作が終了し、実証の段階に入っている。

蛍光標識した mRNA を細胞に導入し、mRNA 1 分子の細胞内動態観測に成功している。この研究は、細胞内の mRNA を標識し、その動態を観測する方向へ進んでいる。疾

病機構の解明については、生体内の過酸化脂質である HNE の高感度な測定法が確立され、ストレスとの関連などのデータが整理されつつある。

C. 平成 15 年度採択研究課題

14) 片山代表者；「細胞対話型分子システムを用いる革新的遺伝子送達概念の創製」

この研究課題は、細胞内の標的シグナルに応答して遺伝子発現を活性化できる遺伝子治療法の基礎概念を確立し、これを一般化できるように幾つかの疾患に適用できるシステムを開発して、動物モデルで確認しようとするものである。

当初の計画では、病態毎に疾病細胞内で異常に亢進している標的シグナル（細胞内酵素）に対して、1種の基質ペプチドを合成すればよいと考えていたが、プロテインキナーゼ C (PKC) 応答型基質だけでも、がんの種類、進行度、個体によって最適化が必要であることが明らかとなり、PKC (がん) 、Rho キナーゼ（循環器疾患）、IKK（炎症）などの基質の開発に成功している。この基質を用い、ガン細胞でのプロテインキナーゼの挙動について、興味深いプロフィールを得ている。また、診断・治療用の基質探索用のバイオチップの開発にも成功し、ティラーメード遺伝子治療への重要な前半部分道具立てが揃いつつある。また、in vivo での適用を目指して、これらのキャリヤについても研究が進められており、エレクトロポーレーション、中空バイオナノ粒子、プラズマ型遺伝子導入装置などの検討が進められており、成果を上げている。本研究は4年間の研究期間であり、中間段階に差し掛かったところであり、公表されたデータはまだ多くない。

10. 総合所見

1) 現時点での研究領域としての成果

当領域は、ナノテクノロジーの先行2領域として平成13年度に発足した経緯もあり、初年度と2年度の募集領域名が異なっているが、化学・生物系を網羅した幅広い研究者を擁する領域となった。

ナノメディシンは、ナノテクノロジーを駆使した革新的な医療技術分野であり、急速な進展が期待されている。本領域で画期的な成果が次々と出され、国内外の評価が非常に高い。遺伝子などを内包する合成ナノ構造体ベクター、および表面に抗体を固定化した抗レトロウイルスワクチンは、新しいアプローチの DDS を構築しようとする研究であり、新しい概念による抗体酵素、細胞内シグナルの異常に反応する遺伝子発現法と、世界的に見ても、独創的で目覚ましい成果が上がっている。その成果の1部に着目した企業が、企業化を目指す研究を進めようという動きも始まっている。また、ナノテクノロジーを駆使した細胞シート作製技術が開発され、角膜上皮細胞の再生技術が CREST 外ではあるが臨床研究に進んでいる。さらに、ES 細胞に高効率マイクロインジェクションを行う「単一細胞操作支援ロボット：SMSR」は実用段階に達し、糖尿病モデル細胞の作製が佳境に入っている。

医療分野への応用を目指したナノ計測・分析の分野では、超累積・高機能デバイスにおけるマイクロナノ空間で急激に変化する流体の物性の解明も進められており、観測方法の開発、モデルの提案などの進展を見せている。また、細胞を用いたケミカルストレス・センサの開発、遺伝子標識等に使えるケミカルプローブ類の開発、安定性の高い新規な蛍光錯体の開発とその応用なども着実に進展している。

新しい医療技術への展開を目的とした化学合成技術の面では、DNA, RNA のハイスクープな合成法が確立され、従来とは桁違いに高純度な DNA, RNA チップなどを開発中である。この核酸合成技術は、アンチセンス、RNAi 等、応用範囲が広い。ポリ酸や

ポルフィリンについては、その合成技術が群を抜いており、新規な化合物や巨大な化合物の合成に成功している。合成された新規な化合物は、構造決定や物性の測定が行われており、無機医薬や、光学材料などの新しい機能性材料として、開発が進められている。

このように、当領域には医療分野への展開を指向した我が国の代表的な研究者が所属しており、それぞれ世界をリードする勢いで研究を進めており、当初期待した通り、またはそれ以上の成果をあげている。

2. 本研究が存在したことによるメリット、基礎研究に対する功績、問題点等。

採択された研究課題は、それぞれ評価すべき研究成果を上げているが、各大学において発足している医工連携の枠組みにおいて、当領域でチームとして成果を上げている研究代表者が東大、阪大においてその組織の中心的役割を果たしていることは、領域の存在意義を如実に物語っているものと言えよう。

CREST として研究を開始してから、顕著な成果を挙げているチームが多く見られる。これらのチームは、代表者の巧みなチーム運営も預かって、チームとしての相乗効果を上げているものが多い。将に、研究者をチームとして結びつける力のある CREST の特徴が活かされたものといえる。

また、研究期間中に JST 雇用研究員から、大学の助手・講師として採用された研究者、講師から助教授に、助教授から教授に昇格した研究者も多い。これらは、その研究業績を評価されたものであり、このプロジェクトが若手研究者の育成に貢献できているものと考えている。問題は、折角の成果ができた研究を企業化まで橋渡しするシステムが不十分であることであろう。何処が担当するかという問題はあるが、基礎研究への支援に較べると、企業化へ繋げるための支援システムが弱いのではないか。SORST の募集中止はその感を強くするものであった。

3. 研究領域単位で研究することの意義

ナノテクノロジーは、世界的な広がりで研究が進められている分野であり、個々の研究者の業績が重要であることは言を待たないが、効率的に研究を進めていく上では、ネットワークの形成が重要なポイントとなる。ナノテクノロジーを利用して医療へ貢献するという共通の目的を持つ多様な研究者が所属する研究領域があつてこそ、関連する種々の分野への国際的なネットワークを構築することが可能となり、通常所属する学会以外での刺激を受けることが出来るようになる。これが、研究の進展を促す重要な要因の一つになると考えられる。

研究総括は、それらの国際的なネットワーク構築に努めてきており、領域に所属する研究者の国際的連携を積極的に推進している。その結果、情報交換のみでなく国際会議の組織や共同研究が始まった例もある。

また、領域内でも領域会議などで交流を深めた研究者が共同研究を開始した例もあり、領域の開催する行事は、学会では出会えない分野の研究者と接触できて刺激を受けられる機会として、若手研究者に好評もある。

4. 感想、その他

中間評価段階であるが、当領域の研究課題は、何れも顕著な成果を上げており、採択課題の選択は適切であったと判断している。

当領域の研究遂行中に、国立大学の法人化、JST の独立行政法人化、それに伴う CREST のシステムの改革が行われたが、研究推進にネガティブな影響は無かったと思われる。

当領域はバーチャルラボに先行してスタートした。進展の激しい国際状況に後れを取らず、我が国の代表的な研究者を確保できたものと考える。

今後は当領域の成果を国内外にさらに積極的にアピールするとともに、イノベーション創出への連携についても強力に進めるべきであろう。

領域評価用資料 添付資料(CREST タイプ)

研究領域「医療に向けた化学・生物系分子を利用したバイオ素子・システムの創製」

1. 応募件数・採択件数

採択年度	応募件数	採択件数
平成13年度	99	6
平成14年度	87	7 (内1☆)
平成15年度	30	1
平成16年度	17※	1
採択数 計		15 (内1☆)

※ 平成16年度は戦略目標（3目標）毎に公募し、ナノテク分野別バーチャルラボ9領域全体で選考した。

☆ 本課題は、代表者の私的事情により、研究継続が不可能となり、この段階で研究は終了した。
(平成15年度で研究終了)

2. 主要実績

2-1 外部発表および特許出願

研究領域「医療に向けた化学・生物系分子を利用したバイオチップ・システムの創製」

2-1-1 研究代表者別

H17年9月31日現在

		論文発表		口頭・ポスター発表		著作・総説その他		外部発表	特許出願	
		国際	国内	国際	国内	国際	国内		国際	国内
H13 年度	宇田	18	0	17	51	0	5	91	1	9
	大須賀	76	0	38	100	0	2	216	0	3
	岡野	64	10	117	274	5	24	494	0	3
	岡畑	32	31	47	193	3	17	323	0	1
	片岡	116	4	122	309	17	31	599	5	42
	山瀬	32	3	26	51	1	2	115	0	6
H14 年度	明石	23	8	10	47	0	0	88	0	3
	北森	37	49	99	152	7	41	385	7	49
	清水	0	0	1	1	0	0	2	5	19
	鈴木	23	0	22	63	0	0	108	1	18
	関根	72	2	25	308	7	21	435	7	30
	松岡	58	1	44	94	5	35	237	2	3
	松本	28	0	14	89	0	9	140	2	4
H15	片山	1	0	10	35	0	0	46	0	0
H16	由良	2	1	0	1	0	0	4	0	0
領域合計		582	109	592	1,768	45	187	3,283	30	190

2-1-2 年度別

H17年9月31日現在

	論文発表		口頭・ポスター発表		著作・総説		特許出願	
	国際	国内	国際	国内	国際	国内	国際	国内
H13	0	0	0	4	0	0	0	0
H14	80	34	74	438	10	24	0	13
H15	163	42	132	305	9	49	6	70
H16	166	13	181	490	12	61	18	82
H17	173	20	205	529	14	53	6	25
合計	582	109	592	1,768	45	187	30	190

2-2 主な論文

(1) 平成13年度採択課題

研究課題名： 健康・福祉のためのナノバイオ材料およびバイオ素子としての
「スーパー抗体酵素」の創製

研究代表者： 宇田 泰三（県立広島大学 生物環境学部）

1. Specific degradation of *H. pylori* urease by a catalytic antibody light chain. Emi Hifumi, Kenji Hatiuchi, Takuro Okuda, Akira Nishizono, Yoshiko Okamura, Taizo Uda, *FEBS J. (Eur. J. Biochem.)*, **272**, 4497-4505(2005).

概要：ピロリ菌のウレアーゼに対する抗体軽鎖(HpU-9-L)の可変領域の遺伝子配列解析から、この軽鎖は V κ germline gene cs1 に由来していて Asp1-Ser27a-His93 より成る触媒三つ組残基様構造を持っていた。従って、この HpU-9-L には抗原分解活性が存在すると予測できるが、実際に基質ペプチドを反応速度定数(kcat)= 0.11 min $^{-1}$ 、ミカエリスメンテン定数(Km)= 1.6 x 10 $^{-5}$ M で分解した。また、ピロリ菌のウレアーゼに対してはその β -subunit を特異的に分解した。HpU-9-L が切断したサイトはウレアーゼの L121-A122, E124-G125, S229-A230, Y241-D242, M262-A263 であり、HpU-9-L は抗原の multiple cleavage site を有する抗体酵素である事が判明した。

2. Improvement of catalytic antibody activity by protease processing. Kyoko Ohara, Hiroshi Munakata, Emi Hifumi, Taizo Uda, Kinji Matsuura, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **315**(3), 612-616(2004).

概要：免疫グロブリン軽鎖として Bence Jones Protein (BJP) をある多発性骨髄腫患者から精製分離し(この BJP を HIR と名付けた)、リシリエンドペプチダーゼで処理をした。これをゲルろ過カラムで分離して得られた断片は、切断前に比べて 40 倍高い酵素活性を示した。この断片は BJP の VL に相当した。5 例の BJP 中 3 例でリシリエンドペプチダーゼ処理により酵素活性の上昇が認められた。同様の結果が完全抗体にも認められた。このように酵素で処理することにより、活性の上昇した抗体酵素を得る可能性がある。

3. Targeted destruction of the HIV-1 coat protein gp41 by a catalytic antibody light chain. E. Hifumi, Y. Mitsuda, K. Ohara, T. Uda, *J. Immunol. Methods*, **269**, 283-298(2002).

概要：標的とする HIV 外膜タンパク質 gp41 を特異的に破壊する抗体酵素 41S-2-L の性質を化学的、生化学的、免疫学的、酵素学的観点から徹底的に解析した。その結果、41S-2-L には抗原分解活性部位として触媒三つ組み残基が存在し、酵素活性を発揮するのに誘導期が存在する事、抗体軽鎖に抗原特異性が存在する事、抗原ペプチドを触媒効率 kcat/Km = ~10 5 M $^{-1}$ min $^{-1}$ で酵素的に分解する事、この時、41S-2-L による抗原の最初の切断サイトは E-G 間である事、gp41 を特異的に約 12 時間で完全に分解し、他のタンパク質には分解活性を示さないこと、トリプシンとは反応性が全く異なること、など抗体酵素の多くの基本的性質を明かにした。

研究課題名： 巨大ポルフィリンアレーのメゾスコピック構造デバイス

研究代表者： 大須賀 篤弘（京都大学大学院理学研究科）

1. "Thermal Splitting of Bis-Cu(II) Octaphyrin-(1.1.1.1.1.1.1) into Two Cu(II) Porphyrins", Y. Tanaka, W. Hoshino, S. Shimizu, K. Youfu, N. Aratani, N. Maruyama, S. Fujita, and A. Osuka, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 3046-3047 (2004).

概要：環拡張ポルフィリンの一種であるオクタフィリンに銅(II)イオンを配位させビス銅(II)オクタフィリンを生成し、100 °C に加温したところ開裂し、2分子の銅(II)ポルフィリンが生成することを見た。フィルムでも同様な開裂反応が進行するが、フィルム状態ではビス銅(II)オクタフィリンは熱的に安定であり、開裂には 200 °C の高温を必要とする。記録材料としての可能性もある。これまでに類例のない反応形式であるため、国際的な注目を集め、*Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**, 5124 (2004) にハイライトとして取り上げられた。

2. "A Dodecameric Porphyrin Wheel", X. Peng, N. Aratani, A. Takagi, T. Matsumoto, T. Kawai, I.-W. Hwang, T. K. Ahn, D. Kim, and A. Osuka, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 4468-4469 (2004).

概要：光合成光捕集アンテナのモデル分子として、メゾーメゾ結合ポルフィリン2量体が1,3-フェニレンで架橋されたポルフィリン12量体を高希釈条件下に、銀塩酸化することにより、環状ポルフィリンリング12量体の合成に成功した。リング構造を走査型顕微鏡で観察することにも成功した。リングに沿った高速の励起エネルギー移動も解明した。

3. "Directly meso-meso Linked Porphyrin Rings: Synthesis, Characterization, and Efficient Excitation Energy Hopping", Y. Nakamura, I.-W. Hwang, N. Aratani, T. K. Ahn, D. M. Ko, A. Takagi, T. Kawai, T. Matsumoto, D. Kim, and A. Osuka, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 236-246 (2005).

概要：5,15-ジアリール置換亜鉛ポルフィリンを出発原料として、ポルフィリンがすべて直接メゾ位で結合した環状ポルフィリンリング4量体、6量体、8量体の合成に成功した。これらは、環状ポルフィリン特有の吸収スペクトルを示す。隣あったポルフィリン間の励起エネルギー移動がポルフィリンの2面角に依存することを明らかにした。

研究課題名： 新規組織再構成技術の開発と次世代バイオセンサーの創製

研究代表者： 岡野 光夫（東京女子医科大学 先端生命医科学研究所）

1. K. Nishida, M. Yamato, Y. Hayashida, K. Watanabe, K. Yamamoto, E. Adachi, S. Nagai, A. Kikuchi, N. Maeda, H. Watanabe, T. Okano, and Y. Tano, "Cornel reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium", *N. Engl. J. Med.*, **351** (12), 1187 (2004)

概要：口腔粘膜から採取した2～3ミリ角の細胞を温度応答性培養皿上で培養し、温度を低下するだけで細胞シートを回収することができる。この細胞シートを熱傷やアルカリ

火傷、薬の副作用などの理由で角膜を損傷した患者に移植した。その結果、最高で 0.7 までに視力が回復し、手術一年後でも経過は良好であった。従来の角膜移植では縫合が必要であるが、本論文での手法では、細胞シートが速やかに角膜実質層に接着するので、縫合する必要がない。また、自分の細胞を使うので、拒絶反応が起きずに済むという特徴を有する。

2. J. Kobayashi, M. Yamato, K. Itoga, A. Kikuchi, and T. Okano, "Preparation of microfluidic devices using micropatterning of a photosensitive material by a maskless, liquid-crystal-display projection method", *Adv. Mater.*, **16** (22), 1997 (2004)

概要：市販の液晶プロジェクタ(LCDP)を改造して、マイクロパターン作製のためのマスクレス光重合装置をあらたに開発し、これを利用したポリ(ジメチルシリコサン)(PDMS)製マイクロ流体チップの作製を検討した。一台の装置の中に光源、フォトマスクとしての液晶パネル、縮小投影レンズを備えた改造 LCDP を光重合装置として利用することにより、クリーンルームなどの特別な施設や高価なフォトマスク、光源などを必要とせずに、マイクロ流体研究のためのデバイスを速やかに試作できることが示された。

3. K. Wada, A. Taniguchi, L. Xu, and T. Okano, "Rapid and highly sensitive detection of cadmium chloride induced cytotoxicity using the HSP70B' promoter in live cells", *Biotechnol. Bioeng.*, **92** (4), 410 (2005)

概要：生きた細胞から遺伝子発現変化を検出することで、迅速かつ高感度な細胞毒性の検出が期待される。HSP70 遺伝子群は広域なストレスに応答するため、細胞毒性評価に有用な指標となりうる。本研究では、ヒト HSP70B'遺伝子の-287~+110 bp までの領域が塩化カドミウムに応答するプロモーターとして機能することを見出した。この遺伝子のプロモーター活性上昇に基づいた方法は、細胞数を指標とする従来の方法と比較して、塩化カドミウムの毒性を約 4 倍の高い感度で検出することができた。

研究課題名： 生体分子間相互作用を連続的に検出するための多機能型水晶発振子
マルチセンサの設計と開発

研究代表者： 岡畑 恵雄（東京工業大学大学院 生命理工学研究科）

1. Direct Monitoring of Enzymatic Glucan Hydrolyses on a 27-MHz Quartz-Crystal Microbalance

H. Nishino, T. Nihira, T. Mori, and Y. Okahata

J. Am. Chem. Soc., **126**, 2264-2265 (2004)

概要：水晶発振子上にアミロペクチン糖鎖を固定化し、糖加水分解酵素であるグルコアミラーゼを水溶液中に加えたときの振動数変化から、酵素の結合過程、解離過程、加水分解反応速度を求めた論文。これまで糖鎖の加水分解は生成物であるグルコースを比色定量する方法で求められていたが、水晶発振子を用いると簡単に正確に各速度定数が求められる。

2. Kinetic Studies of Amylopectin Cleavage Reactions Catalyzed by Phosphorylase b using a 27 MHz Quartz Crystal Microbalance. H. Nishino, A. Murakawa, T. Mori, and

Y. Okahata J. Am. Chem. Soc., 126, 14752-14757 (2004)

概要：水晶発振子上にアミロペクチンを固定化し、フォスフォリラーゼ酵素を加えると、リン酸存在下では糖鎖の分解反応が起こり、グルコースリン酸存在下では糖鎖の重合がおこることを振動数変化から定量した論文。この酵素の可逆的な触媒作用を重さの変化として定量化した初めての論文。

3 . Kinetic Studies of DNA Cleavage Reactions catalyzed by an ATP-dependent Deoxyribonuclease on a 27-MHz Quartz-Crystal Microbalance H. Matsuno, H. Furusawa, and Y. Okahata Biochemistry, 44, 2262-2270 (2005)

概要：水晶発振子上にDNAを固定化し、DNAのエキソ型加水分解酵素であるDNaseを加えるとDNA鎖への結合、ATPを加えて酵素を活性化すると加水分解反応が連続的に起こることを示した論文。水晶発振子を用いることにより、DNA鎖への酵素の結合過程、ATPによる酵素の活性化過程、加水分解速度などが定量的に求められることを初めて示した論文。

研究課題名：遺伝子ベクターとして機能するナノ構造デバイスの創製

研究代表者：片岡 一則（東京大学大学院 工学系研究科）

1 . Light-induced gene transfer from packaged DNA enveloped in a dendrimeric photosensitizer Nobuhiro Nishiyama, Aya Iriyama, Woo-Dong Jang, Kanjiro Miyata, Keiji Nature Materials 4(12), 934-941 (2005)

概要：遺伝子治療の実現に向けて遺伝子導入部位の制御は大きな課題であるが、本研究では、可視光に応答して内包遺伝子を細胞内に導入する機能性ナノ構造デバイスを開発した。100nmのナノ構造デバイスの表面は、光照射下で一重項酸素を産生する約3nmの樹状高分子(デンドリマー)で覆われており、このデンドリマーがエンドソーム膜に光障害を与えることで光選択性的遺伝子導入が可能となる。ラットを用いた実験で、結膜のレーザー光照射部位のみにレポーター遺伝子の発現が認められ、in vivoでの光による遺伝子導入部位の制御に世界で初めて成功した。

2 . Selective formation of stable triplets including a TA or a CG interrupting site with new bicyclic nucleoside analogues Shigeki Sasaki, Yosuke Taniguchi, Ryo Takahashi, Yusuke Senko, Keiichi Kodama, Fumi Nagatsugi, and Minoru Maeda J. Amer. Chem. Soc. 126(2), 516-528 (2004)

概要：アンチジーン法は2本鎖DNAにさらに3本目のDNAを結合させることによって配列特異的に複製あるいは転写を阻害する遺伝子発現制御法である。遺伝子本体に作用できることから高い制御効率が期待されている。しかし、天然の核酸では3本鎖を形成できる配列に限界があるため、認識限界を拡張するための機能性人工核酸の開発が望まれている。本論文では、独自に設計した人工核酸によりこれまで認識できなかった2本鎖DNA配列で安定な3本鎖DNAの形成が可能になったことを報告した。

3 . Lactosylated poly(ethylene glycol)-siRNA conjugate through acid-labile beta-thiopropionate linkage to construct pH-sensitive polyion complex micelles

achieving enhanced gene silencing in hepatoma cells Motoi Oishi, Yukio Nagasaki, Keiji Itaka, Nobuhiro Nishiyama, and Kazunori Kataoka

概要：PEG 末端に標的指向性基を有し、細胞内環境応答性結合（エンドソームで切断可能な結合）を介して、siRNA を PEG に連結させた siRNA-PEG コンジュゲートを合成した。このコンジュゲートは、生理条件下でポリカチオンと混合することにより外殻に生体適合性の高い PEG 層を有する PIC ミセル（大きさ 100 nm 程度）を形成した。さらに、ミセルが有する標的指向性基と細胞内環境応答性結合の効果により、siRNA の干渉作用が培養細胞において大幅に増強されることが明らかとなった。このことは内在性の疾患関連遺伝子をターゲットとする実際の治療用 siRNA 系への展開が可能であることが示唆された。

- Quantitative three-dimensional analysis of the intracellular trafficking of plasmid DNA transfected by a nonviral gene delivery system using confocal laser scanning microscopy H. Akita, R. Ito, I. A. Khalil, S. Futaki, and H. Harashima Molecular Therapy 9(3), 443-451 (2004)

概要：遺伝子ベクターの最適化を行う為には、細胞への取込み、エンドソーム脱出、核移行核内転写などの様々な細胞内動態を最適化する必要がある。一方、これまで、細胞内動態を解析する方法論が開発されておらず、細胞内動態の定量化情報に基づく最適化は困難であった。そこで今回我々は、遺伝子の細胞内動態を共焦点顕微鏡画像を基に3次元的に定量化する方法を構築することに成功した。

研究課題名：ナノクラスターポリ酸を用いた分子機械の構築

研究代表者：山瀬 利博（東京工業大学 資源化学研究所）

- T. Yamase, E. Ishikawa, K. Fukaya, H. Nojiri, T. Taniguchi, and T. Atake, "Spin-frustrated $(VO)_3^{6+}$ -sandwiched Octadecatungstates as a New Class of Molecular Magnets" *Inorg. Chem.*, **25**, 8150-8157 (2004).

概要：スピントラストレーション系特有の $S=1/2 \leftrightarrow S=3/2$ の磁化の跳びと量子ヒステリシスを示すポリ酸を発見し、これは Dzyaloshinsky-Moriya 相互作用を実験的に示す理論的モデルであることを明らかにすると同時に新規ポリ酸分子磁性体が量子/古典の境界領域のナノスピンクラスター素子として極めて有望であることを示した。

- T. Yamase, Y. Yano, and E. Ishikawa, Photoreductive Self-assembly from $[Mo_7O_{24}]^{6-}$ to Carboxylates-Coordinator {Mo₁₄₂} Mo-Blue Nanoring in the Presence of Carboxylic Acids, *Langmuir*, **17**, 7823-7832 (2005)

概要：数多くのナノリング（例えば 3-4 nm 径のタイヤ状ナノリング）ポリ酸を発見する中で $[Mo_7O_{24}]^{6-}$ から {Mo₁₄₂} リングへの光自己集合化ボトムアップ反応のメカニズムが構造化学と時間分解 ESR 分光法との組み合わせにより初めて明らかにされ、同時に有機分子のナノリングへの配位モードの詳細も求められた。

- T. Yamase, "Anti-tumor, -viral, and -bacterial activities of polyoxometalates for realizing an inorganic drug, *J. Materi. Chem.*, **15**, 4773-4782 (2005).

概要：ポリ酸の生物作用を展開する中、難治性の AsPC-1 ヒト膵臓癌や MKN-45 ヒト胃癌への in vivo での有効性、SARS コロナウイルスへの有効性、院内感染の主因である MRSA,VRSA やピロリ菌への有効性が見出され、ポリ酸を基盤とする新規無機医薬の実現に向けたメカニズムの解明が続けられた。

(2) 平成 14 年度採択課題

研究課題名： ナノ粒子を応用した抗レトロウイルスワクチンの開発

研究代表者： 明石 満（大阪大学大学院 工学研究科）

1. Michiya Matsusaki, Kristina Larsson, Takami Akagi, Malin Lindstedt, Mitsuru Akashi, Carl A. K., “Borrebaeck, Nanosphere induce gene expression in human dendritic cells”, *Nano Lett.*, **5**, 2168-2173 (2005).

概要：ナノ粒子表面へ抗原タンパク質として破傷風毒素を化学的に固定化してヒト樹状細胞に捕食させることで、破傷風毒素のみの場合と比較して 5 倍以上高く活性化させることを見出した。また、捕食から 4・12 時間後の遺伝子発現量を DNA マイクロアレイで評価した結果、破傷風毒素固定化ナノ粒子を取り込ませた樹状細胞では抗原捕食や炎症反応、免疫応答に関与している遺伝子の発現が増加していることが明らかとなつた。本論文は抗原固定化キャリアの樹状細胞の活性化メカニズムを遺伝子レベルで解明した初めての報告である。（樹状細胞をターゲットとする生分解性ナノ粒子ワクチン開発の基礎となる知見が得られた。）

2. Ariko Miyake, Takami Akagi, Yoshimi Enose, Masamichi Ueno, Masaki Kawamura, Reii Horiuchi, Katsuya Hiraishi, Masakazu Adachi, Takeshi Serizawa, Mitsuru Akashi, Masanori Baba, Masanori Hayami, “Induction of HIV-specific antibody response and protection against vaginal SHIV transmission by intranasal immunization with inactivated SHIV-capturing Nanospheres in macaques.”, *J. Med. Virol.*, **73**, 368-377 (2004).

概要：不活化ウイルス粒子を捕捉したナノ粒子の、抗エイズワクチンとしての有効性について、サルを用いた感染実験系を用いて評価した。不活化 SHIV (サル免疫不全ウイルスと HIV-1 のキメラウイルス) を捕捉したナノ粒子を経鼻投与したサルには、全例で膣内に SHIV 特異的 IgA および IgG 抗体の上昇が認められた。また、本ワクチンを投与したサルは、SHIV の経膣および経静脈内接種による感染に対して、部分的な防御効果を示すことを明らかにした。（ナノ粒子 HIV ワクチンの有効性が証明された。）

3. Tomoaki Yoshikawa, Susumu imazu, Jian-Qing Gao, Kazuyuki Hayashi, Yasuhiro Tsuda, Mariko Shimokawa, Toshiki Sugita, Atushi Oda, Takako Niwa, Mitsuru Akashi, Yasuo Tsutsumi, Tadanori Mayumi and Shinsaku Nakagawa, “Augmentation of antigen specific immune responses using DNA-fusogenic liposome vaccine”, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **325**, 500-505, (2004).

概要：DNA ワクチンキャリアとして膜融合リポソームの有用性を評価した。本論文では、OVA 発現プラスミドを封入した膜融合リポソームを用いることで、抗原提示細胞において OVA 遺伝子を効率よく発現させる事ができ、それを反映して MHC class I 分子を介した抗原提示も効率よく起こることを明らかにした。また、OVA 発現プラスミド封入膜融合リポソームを免疫する事で、CTL を効率よく誘導でき、並びに腫瘍移植による抗腫瘍ワクチン効果を誘導する事に成功した。

研究課題名： ナノ生物物理化学アーキテクチュアの構築と応用

研究代表者： 北森 武彦（東京大学大学院 工学系研究科）

1. Development of a Microchip-based Bioassay System Using Cultured Cells,

M. Goto, K. Sato, A. Murakami, M. Tokeshi, T. Kitamori,
Anal. Chem., 77 (7), 2125-2131 (2005).

概要：本研究は、マイクロ空間内に培養した細胞に物理的・化学的刺激を与えた時、細胞が放出する物質を検出・同定する手法を開発したものである。熱レンズ顕微鏡による同定を実現したため、放出物質を非蛍光かつ高感度に検出することが可能である。

2. Surface Modification Method of Microchannels for Gas-Liquid Two Phase Flow in Microchips,

A. Hibara, S. Iwayama, S. Matsuoka, M. Ueno, Y. Kikutani, M. Tokeshi, T. Kitamori,
Anal. Chem., 77(3), 943-947 (2005).

概要：マイクロ空間内で安定な気液界面を形成する事は難しい。本研究では、幅・深さ・形状の異なる二本のマイクロ流路を組み合わせ、親水/疎水処理することで、気液二層流の形成だけでなく気泡の除去を可能とした。

3. Spectroscopic Analysis of Liquid / Liquid Interfaces in Multiphase Microflows,

Akihide Hibara, Masaki Nonaka, Manabu Tokeshi, Takehiko Kitamori,
J. Am. Chem. Soc., 125, 14954-14955 (2003).

概要：これまでに、マイクロ空間内の液液界面では、高速な物質輸送や特異な流動特性を示唆する結果が得られている。しかし、液液界面を直接測定する手法はこれまでに無かった。本研究では、顕微準弾性レーザー散乱 (μ QELS) 法を世界に先駆けて開発し、液液界面での界面張力や粘度を明らかにした。

研究課題名： ナノケミカルプローブの創製とバイオ・医療計測

研究代表者： 鈴木 孝治（慶應義塾大学 理工学部）

1. Aki Honda, Hideki Sonobe, Akiko Ogata, Koji Suzuki. "Improved method of the MALDI-TOF analysis of DNA with nanodot sample target plate." *Chem Commun* 14;(42):5340-2 (2005).

概要：数 10 nm サイズの Pt のナノドットを SiO₂ 基板に付した新規ターゲットプロートを用いる MALDI TOF-MS 測定法を開発し、これにより DNA の質量分析の再現性が飛躍的に向上した。質量分析による DNA の解析は SNP 解析や遺伝子配列の解析に有用であるにも関わらず、再現性、感度などが不十分であるために、これまであま

り用いられなかった。

- 2 . Hirokazu Komatsu, Takahiro Miki, Daniel Citterio, Takeshi Kubota, Yutaka Shindo, Yoshiichiro Kitamura, Kotaro Oka & Koji Suzuki "Single molecular multi analyte (Ca²⁺, Mg²⁺) fluorescent probe and applications to bioimaging", J. Am. Chem. Soc, 2005, 127 (31), 10798-10799

概要 : 細胞のシグナル伝達は複数のシグナル伝達物質の時間的・空間的な変動からなり、細胞内の複数物質の同時イメージング技術が重要である。カルシウムとマグネシウムに対して異なるスペクトル変化で応答する蛍光プローブ「カルシウムマグネシウムマルチ蛍光プローブ」を設計、合成、特性評価した。世界で初めての単分子マルチセンサーによる細胞内カルシウムマグネシウム同時イメージングに成功した。

- 3 . Kenichi Maruyama, Hiroyuki Okawa, Sho Ogawa, Akio Ueda, Osamu Niwa & Koji Suzuki "Fabrication and Characterization of a Nanometer-sized Optical Fiber Electrode based on Selective Chemical Etching for Scanning Electrochemical/Optical Microscopy" Analytical Chemistry 号数等未定

概要 : 選択的化学エッティング法とポリマー収縮法による新規ナノ電極作製法を開発した。この作成法は歩留まりもよく、安定的にナノ電極（プローブ）を作成することができる。またこのプローブは光ファイバーであることから、走査型光化学顕微鏡としても応用可能であり、このプローブを用いて、電気化学・光学応答を同時にイメージングすることが出来た。

研究課題名 : ゲノム制御・検出能をもつ革新人工核酸の創成

研究代表者 : 関根 光雄（東京工業大学大学院 生命理工学研究科）

- 1 . A. Ohkubo, K. Seio, M. Sekine, O-Selectivity and Phosphorylation Mediated by Phosphine Triester Intermediates in N-Unprotected Phosphoramidite Method. J. Am. Chem. Soc., 126, 10884-10896 (2004).

概要 : 本論文は塩基部無保護法による DNA の化学合成法として、世界で初めて実用的な合成手法を開拓したことについて述べている。本法により 99.7% という極めて高選択的なインターヌクレオチド結合を構築できる合成法が開発された。これまで合成できなかつた塩基性条件下で不安定な様々な塩基修飾、リン酸基修飾を含む機能性 DNA オリゴマーの合成もできるようになった。この方法は塩基部位の脱保護操作が不要なため、ハイスループット DNA チップの作成に新しい有用な手法を提供するものである。

- 2 . M. Sekine, M. Aoyagi, K. Ushioda, A. Ohkubo, K. Seio, Chemically Stabilized Phenylboronylidene Groups Having a Dimethoxytrityl Group as a Calorimetrically Detectable Protecting Group Designed for cis-1,2-diol Functions of Ribonucleosides in the Solid-phase Synthesis of m₂^{2,2}G⁵ppT., J. Org. Chem., 70, 8400-8409(2005)

概要 : これまで、キャップ構造をもつ RNA や DNA の固相合成法の実用化に必要な 2',3'-シスジオール基の新しい高機能生保護基を開拓した。すなわち、キャップ反応を光

学的に定量でき、しかも難溶性のキャップ化試薬を可溶化できるトリチル基とアミノ基を同時に含むフェニルボロニリデン基を開発した経緯について述べている。この保護基の開発により、固相反応でのキャップ化反応の評価が迅速に出来ることから、研究課題のひとつである核内 DNA をターゲットにする角膜透過機能を持つ人工キャップ化 DNA などの合成が可能になったと期待されている。

- 3 . H. Saneyoshi, K. Seio, M. Sekine, A General Method for the Synthesis of 2'-O-Cyanoethylated Oligoribonucleotides Having Promising Hybridization Affinity for DNA and RNA and Enhanced Nuclease Resistance. *J. Org. Che.*, , in press: ACS ASAP. CODEN:JOCEAH ISSN-0022-3263 AN 2005:119249

概要 : 2'水酸基をシアノエチル化した RNA の化学合成法を開拓したことについて述べている。この新規物質はこれまで汎用されている 2'-O-メチル RNA よりも酵素耐性が高く、かつ相補的 DNA や RNA に強く結合できる優れた性質を持つことから、新しい有用な遺伝子制御物質 (siRNA 誘導体) として期待される。またシアノエチル基が容易に除去でき RNA に変換できることも明らかにした。したがって、本法はもっとも単純な 2'水酸基の保護基を用いる RNA の新規合成法としても有用である。

研究課題名 : 疾患モデル細胞の高効率創製と機能解析

研究代表者 : 松岡 英明 (東京農工大学 工学部)

- 1 . Hideaki Matsuoka, Tamu Komazaki, Yoshiko Mukai, Meiri Shibusawa, Hirotoshi Akane, Akihiko Chaki, Norio Uetake, Mikako Saito, "High throughput easy microinjection with a single-cell manipulation supporting robot", *J. Biotechnol.*, **116**(2), 185-194 (2005).

概要 : マイクロインジェクションをハイスループットに行うことができる、単一細胞操作支援ロボットを開発した。このロボットのコンセプトは、実験者がインジェクション操作のみに集中できるようになっていることである。これを用いて、イネプロトプラストおよび動物細胞の中では極めて難しいマウス ES 細胞へのマイクロインジェクションを行った。イネプロトプラストへインジェクションした場合、1 時間で 100 個の細胞へインジェクションすることができた。これは、ロボットを用いない場合と比較して 17 倍以上の早さであった。またインジェクションの成功率は 7~8% であった。マウス ES 細胞に対しても、世界で初めてインジェクションに成功した。

- 2 . Hiromi Miki, Kimiko Inoue, Takashi Kohda, Arata Honda, Narumi Ogonuki, Misako Yuzuriha, Nathan Mise, Yasuhisa Matsui, Tadashi Baba, Kuniya Abe, Fumitoshi Ishino, Atsuo Ogura, "Birth of mice produced by germ cell nuclear transfer", *Genesis*, **41**, 81-86 (2005).

概要 : 始原生殖細胞 (PGC) からのクローンの報告は今までなかった。10.5 日という若い PGC を用いたところ、4 匹のクローン胎児を得ることに成功した。これらのインプリントティング遺伝子発現を調べたところ、ドナー細胞の種類もさることながら、胚の遺伝子発現パターンがクローンの成功に非常に重要であることがわかった。

- 3 . Shinji Masui, Daisuke Shimosato, Yayoi Toyooka, Rika Yagi, Kazue Takahashi, Hitoshi Niwa, "An efficient system to establish multiple embryonic stem cell lines carrying an inducible expression unit", Nucleic Acids Research, 33(4), 81-86 (2005).

概要 : テトラサイクリン発現調節系の簡便な適用法として、発現ユニット一式をゲノム上の安定な発現が保証されている遺伝子 (Rosa26) 内に一括して挿入した。さらに、ここに目的遺伝子を挿入するために、Cre-lox 組換え系を用いた recombinase-mediated cassette exchange (RMCE) 法を用いることとした。このようにして構築された Rosa-tet system においては、1~5 万個の細胞を簡便なリポフェクション法で処理することにより得られたクローンの 50% 以上で、組み込まれた外来遺伝子の発現が理想的にテトラサイクリンで制御されることを確認した。

研究課題名 : 金属錯体プローブを用いる遅延蛍光バイオイメージング

研究代表者 : 松本 和子 (早稲田大学 理工学部)

- 1 . Tokunaga, K., T. Shibuya, Y. Ishihama, H. Tadakuma, M. Ide, M. Yoshida, T. Funatsu, Y. Ohshima, and T. Tani. Nucleocytoplasmic transport of fluorescent mRNA in living mammalian cells: Nuclear mRNA export is coupled to ongoing gene transcription. *Genes to Cells.* in press

概要 : 蛍光標識した fushitarazu の未成熟 mRNA を HeLa 細胞にインジェクションしたところ、スペックル構造に局在した後、細胞質へ輸送された。RNA 合成を薬剤によって阻害すると RNA はスペックルの周辺に局在したまま輸送されなくなった。以上の結果は、遺伝子の転写活性と mRNA 核外輸送との間に密接な関連性があることを示している。

- 2 . Kimura H, Liu S, Yamada S, Uchida U, Matsumoto K, and Yoshida K. Rapid increase in serum lipid peroxide 4-hydroxynonenal (HNE) in early endo-toxemia. *Free Radic Res.* 39: 845-851, 2005.

概要 : 希土類錯体を用いた時間分解蛍光測定法によって過酸化脂質である 4-hydroxynonenal (HNE) の高感度測定法を確立した。細菌菌体内毒素であるリポ多糖 LPS をラットの腹腔内に投与すると、20 分にピークを持つ一過性の上昇を認めた。これは、単球の NADPH oxidase が発生した活性酸素によるものであった。通常の ELISA では、検出できなかったことより、高感度の酸化ストレス評価法として期待される。

- 3 . Yuan J., Sueda S., Somazawa R., Matsumono K., and Matsumoto K. Structure and luminescence properties of the tetradequate β -diketonate-europium(III) complexes. *Chem. Lett.* 32:492-493, 2003

概要 : 種々の tetradequate β -diketonate と Eu³⁺の錯体の蛍光特性を調べた。その結果、bis(β -deiketonyl)- σ -tetraphenyl 型の Eu³⁺錯体が最も強い蛍光を発することが確認された。また、4,4"-bis(4,4,4-trifluoro-1,3-dioxobutyl)- σ -terphenyl (H₂btbt) の Eu³⁺錯体の結晶構造を解析したところ、この錯体は二核でユニークなケージ構造を有すること

がわかった。

(3) 平成15年度採択課題

研究課題名：細胞対話型分子システムを用いる革新的遺伝子送達概念の創製

研究代表者：片山 佳樹（九州大学大学院 工学研究院）

1. Intracellular Signal-Responsive Gene Carrier for Cell-Specific Gene Expression Kenji Kawamura, Jun Oishi, Jeong-Hun Kang, Kota Kodama, Tatsuhiko Sonoda, Masaharu Murata, Takuro Niidome, and Yoshiki Katayama Biomacromolecules 2005, 6, 908-913

概要：細胞死シグナルである、細胞内カスパーゼー3に応答して遺伝子の転写を活性化できる遺伝子キャリヤーの開発に成功し、はじめて細胞内での標的シグナル応答による細胞特異的な遺伝子発現に成功した。同じ荷電を有し、カスパーゼー3で切断されないタイプのコントロールキャリヤーでは、細胞内カスパーゼー3が活性化された細胞でも全く発現が認められず、たしかに、強敵細胞内シグナルに応答した遺伝子発現制御が達成されたことを確かめた。

2. A Peptide Sequence Controls the Physical Properties of Nanoparticles Formed by Peptide-Polymer Conjugates That Respond to a Protein Kinase A Signal Tatsuhiko Sonoda, Takashi Nogami, Jun Oishi, Masaharu Murata, Takuro Niidome, and Yoshiki Katayama Bioconjugate Chem. 2005, 16, 1542-1546

概要：細胞内シグナルとしてプロテインキナーゼA(PKA)に応答して崩壊するナノ粒子の開発に成功し、その応答性が、PKAによるリン酸化に伴う高分子主鎖の水和の増強に加え、側鎖ペプチドの荷電変化が極めて重要であることを明らかにし、プロテインキナーゼ応答型材料開発の設計指針を確立した。

3. An intracellular kinase signal-responsive gene carrier for disordered cell-specific gene therapy Jun Oishi, Kenji Kawamura, Jeong-Hun Kang, Kota Kodama, Tatsuhiko Sonoda, Masaharu Murata, Takuro Niidome, Yoshiki Katayama Journal of Controlled Release (2005) in press

概要：肺ガンなどのがん細胞で異常亢進の見られるプロテインキナーゼA(PKA)に応答して遺伝子の転写を活性化できる遺伝子キャリヤーの開発に成功し、はじめて細胞内の標的シグナル応答による細胞特異的な遺伝子発現に成功した。また、PKAによるリン酸化に伴う遺伝子—キャリヤー複合体の崩壊過程を詳細に評価した。

3. 受賞等

平成17年9月31日現在

受賞者名	賞の名称	授与者名	受賞日 (時期)
荏原充宏	先端技術大賞 文部科学大臣賞	文部科学大臣	H15.7
船津高志	日本IBM科学賞	日本IBM	H15.11.28
丹羽 修	清山賞	化学センサ研究会	H15
忍久保 洋	日本化学会進歩賞	日本化学会	H16.3.27
一二三恵美	守田科学研究奨励賞	大学婦人協会	H16.5.8
片岡一則	Fellow of The International Union Societies for Biomaterials Science and Engineering	IUSBSE	H16.5.17
牧野圭祐	日本神経病理学会賞	日本神経病理学科医	H16.5.27
黒田俊一	最優秀理事長賞	財団法人病態代謝研究会	H16.10
明石 満	日本バイオマテリアル学会賞	日本バイオマテリアル学会	H16.11.16
大窪章寛	手島記念研究奨励賞	手島工業教育資金団	H17.3
山瀬利博	日本希土類学会賞	日本希土類学会	H17.5.25
岡野光夫	江崎玲於奈賞	茨城県科学技術振興財団	H17.10.1
松本和子	日本分析学会学会賞	日本分析学会	H17.12
児玉耕太	Innovative Aspect of Oral Drug Delivery and Absorption Graduate/Postdoc Award	Controlled Release 学会	H17

4. シンポジウム等

平成17年12月15日現在

シンポジウム名	日時	場所	入場者数	特記事項
第1回領域会議 (非公開)	H13.12.12	日本薬学会 長井記念館	19名	研究課題及び研究計画説明会
第2回領域会議 (非公開)	H14.5.20	JST 東京本部 サイエンスプラザ	76名	研究課題及び研究計画説明会
第3回領域会議 (非公開)	H15.4.22	JST 東京本部 サイエンスプラザ	115名	研究成果及び研究計画説明会
第1回公開シンポジウム	H15.10.2	日本科学未来館	219名	H13 採択研究成果報告会
第4回領域会議 (非公開)	H16.4.22	JST 東京本部 サイエンスプラザ	93名	研究成果及び研究計画説明会
第2回公開シンポジウム (分野別) [Nano Medicine]	H16.10.10	国連大学	157名	分野別研究成果報告会
第5回領域会議	H17.4.25	日本科学未来館	191名	研究成果及び研

(非公開)				究計画説明会
第3回公開シンポジウム（分野別） 〔 Nano-Micro Bioanalysis〕	H17.12.5	日本科学未来館	240名	分野別研究成果報告会

5. その他の重要事項（新聞・雑誌・テレビ等）

主要報道は以下の通り

- ・「ラット「心筋シート」移植し拍動を確認」 日本経済新聞、平成14年4月10日(岡野チーム)
- ・「酵素反応自在に制御」 日経産業新聞、平成14年4月25日(岡畠チーム)
- ・「細胞培養膜を開発」 日刊工業新聞、平成14年6月13日(岡野チーム)
- ・「歯周病で痛めた「歯根膜」を再生」 日本経済新聞、平成14年6月16日(岡野チーム)
- ・「遺伝子を効率導入」 日経産業新聞、平成14年8月2日(片岡チーム)
- ・「角膜を再生・量産；セルシード 傷つきにくく移植容易」 日経産業新聞、平成14年9月10日(岡野チーム)
- ・「ナノ微粒子に抗ガン剤内包」 日刊工業新聞、平成14年10月3日、(片岡チーム)
- ・「ナノグラムレベルの物質 水溶液中で効率検出」 日刊工業新聞、平成14年11月5日(岡畠チーム)
- ・「有害性2時間で判定」 日本経済新聞、平成14年6月16日(北森チーム)
- ・「ナノグラムレベルの物質 水溶液中で効率検出」 日刊工業新聞、平成14年11月5日(岡畠チーム)
- ・「抗ガン剤開発ナノDDSで拍車」 日刊工業新聞、平成15年3月20日(片岡チーム)
- ・「SNPを効率検出」 日刊工業新聞、平成15年5月1日(岡畠チーム)
- ・「薬物送達 実用段階へ」 日経産業新聞、平成15年5月2日(片岡チーム)
- ・「生体外で肝細胞長期培養」 日本経済新聞、平成15年5月15日(北森チーム)
- ・「数十秒で抗体検出」 日経産業新聞、平成15年6月5日(鈴木チーム)
- ・「インフルエンザ阻止、ウイルス狙撃「抗体酵素」開発」 産経新聞、平成15年9月19日(宇田チーム)
- ・「ナノテクノロジー、シートのポリマー工夫 再生医療の細胞培養」 日経産業新聞、平成15年10月27日(岡野チーム)
- ・「生体反応を経時測定 水晶発振子を使ったQCM法」 化学工業日報、平成15年10月27日(岡畠チーム)
- ・「ナノ光触媒で数十倍速く」 日経産業新聞、平成16年2月32日(北森チーム)
- ・「ダニ検出 テープで簡単」 日本経済新聞、平成16年3月5日(鈴木チーム)
- ・「ナノ粒子で幹部に薬剤」 日経産業新聞、平成16年7月1日(片岡チーム)
- ・「遺伝子治療で新手法」 日本経済新聞、平成16年7月12日(片岡チーム)
- ・「口の粘膜から角膜再生 阪大グループ 視力回復に成功」 読売新聞(夕刊)、平成16年9月16日(岡野チーム)
- ・「微小機械、幹部まで移動」 日本経済新聞、平成16年9月24日(片岡チーム)
- ・「遺伝子注入 効率10倍に」 日経産業新聞、平成17年1月25日(松岡チーム)
- ・「先端医療－離陸するナノテク医療－上」 日経産業新聞、平成17年3月28日(明石チーム)
- ・「ナノ微粒子で抗ガン剤運搬」 日本経済新聞、平成17年4月22日(片岡チーム)

- ・「MRI病変見つけやすく」 日経産業新聞、平成17年5月30日(鈴木チーム)
- ・「熱に強い生分解性プラスチック」 朝日新聞(夕刊)、平成17年7月1日(明石チーム)
- ・「ナノ金平糖、医療・新材料に期待」 朝日新聞(夕刊)、平成17年7月8日(明石チーム)
- ・「イオン濃度、正確に測定」 日経産業新聞、平成17年7月25日(鈴木チーム)
- ・「細胞内シグナル応答型遺伝子送達システム」 日経産業新聞、平成17年9月17日(片山チーム)
- ・「遺伝子治療 細胞への運送効率10倍に」 日経産業新聞、平成17年10月31日(片岡チーム)
- ・「微小粒子使う遺伝子治療法」 朝日新聞、平成17年11月21日(片岡チーム)
- ・「レーザーで遺伝子治療に新手法」 朝日新聞、平17年11月21日(片岡チーム)
- ・「免疫物質つけた超微粒子、ヒトの免疫細胞を活性化」 読売新聞、平成17年12月14日(明石チーム)

6. その他の添付資料

なし

7. 中間評価結果

平成13年度採択課題平成16年度中間評価結果

1-1. 研究課題名：健康・福祉のためのナノバイオ材料およびバイオ素子としての「スーパー抗体酵素」の創製

1-2. 研究代表者名：宇田 泰三（広島県立大学生物資源学部 教授）

1-3. 研究概要

研究代表者が発見した「スーパー抗体酵素」(Antigenase)の本質を究明し、これを取得するための技術開発を行うとともに、バイオ素子としての各種 Antigenase の創出を展開している。Antigenase は、ある特別な胚細胞型遺伝子に集中して存在することが発見され、誰でもが効率的に作製できる方法論が確立されたことは注目される。また、医薬品として有用ないいくつかの Antigenase の作製、さらには抗ガン剤として有望視されるヒト型の Antigenase (BJP)の取得にも成功している。

1-4. 中間評価結果

1-4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

スーパー抗体酵素(Antigenase)の酵素活性を一般の酵素に近づけ、より実用化に近づいた成果を得ている。また、マウスにおける Antigenase の酵素活性発現機構の解析に成功しており、抗体 germline (胚細胞遺伝子)の役割を明確にして製造方法を確立した。マウスについての研究に引き続き、ヒトの Antigenase について研究が行われており、マウスでの解析結果が応用出来ることを示した。

Antigenaseが、HIV、インフルエンザ、ヘルコバクター・ピロリ等で、有効であることをin vitro で検証している。さらに、BJPの研究より、ヒトガン細胞障害性の抗体の発見がなされており、非常に興味深い。今後

の更なる成果が期待出来る。いよいよ臨床への準備が必要な段階に来ているが、まだ体制は整っていない。

1-4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

アミノ酸の三つ組残基が酵素活性の中心であり、これが抗体 germlineの中に組み込まれていること、そのgermlineに由来する抗体は、Antigenase の原料となりうることを示して、Antigenaseの製造方法として実証している。これは、この分野においては先端的な注目すべき成果である。宇田研究代表者が主唱したAntigenaseの名称が定着しつつあることは、この分野においてこのグループの成果が非常に重要であることが認められているということでもあろう。適用可能と思われるウイルス等は、HIV、インフルエンザ、MRSA、ヘリコバクター・ピロリ等通常の薬物療法では耐性の出やすいものを対象とする点に優位性がある。即ち、薬剤耐性を示す元になっている結合蛋白や表面蛋白の不变領域を分解する Antigenaseの作成が可能である。HIV、インフルエンザ、ピロリでは、既にAntigenaseの作成に成功している。これまででは、マウスの抗体でのデータが主であったが、ヒトの抗体を用いる方が好ましいことは言うまでもない。現在では、ヒトの抗体での研究が進んでおり、マウスの場合と同じような考え方ができることが判明している。もう一方の研究として、骨髄腫患者の尿中に排泄されるBJPの研究も進んでおり、BJPの研究のなかからガン細胞障害性の抗体を発見している。今後更なる進展が期待できる。

1-4-3. 今後の研究に向けて

研究は順調に進んでおり、基礎的なデータはかなり蓄積出来たものと思われる。今後は、臨床応用へ向けた取り組みが必要な段階に入っていくため、研究代表者が認識しているとおり臨床応用のための体制を整える必要がある。今後この研究が注目されると、他の研究者の参入も予想されるところである。常に先端を行くためには、より高機能な Antigenaseの作成や基礎データの更なる充実を図って行く必要があり、そのための体制も必要と思われる。

1-4-4. 戦略目標に向けての展望

国際的に見ても独創的であり、かつ先導的な研究であり、得られている結果も注目に値するものである。当初計画の達成は、ほぼ間違いないところである。国際的な先導性を確保するための支援強化が重要課題。当初計画では想定していなかったが、早い機会に臨床に向けた体制の整備が必要である。

1-4-5. 総合的評価

Antigenase の酵素活性発現機能が、Asp,Ser,His のアミノ酸三つ組み残基によるものであるとの解明を初め、特定の germline から得られる抗体が、特異的に酵素活性を示す確率が高いこと等を解析し、Antigenase の製造方法を確立したことは、高く評価できる。また、それらの応用として、HIV、インフルエンザなど薬剤耐性の生じやすいウイルスに対するAntigenaseを作成して実証していることは、画期的な成果として高く評価される。BJPに関する研究も進んでおり、今後の成果に対する期待も大きい。

2-1. 研究課題名：巨大ポルフィリンアレーのメゾスコピック構造デバイス

2-2. 研究代表者名：大須賀 篤弘（京都大学大学院理学研究科 教授）

2-3. 研究概要

本研究では、共有結合環状ポルフィリン及び超分子環状ポルフィリンの合成法を確立し、ポルフィリンシートおよび両面ストラップ型ポルフィリンテープの前駆体の合成を達成している。また、環拡張ポルフィリンを含む真に新しいポルフィリノイドの合成も精力的に続けている。新規ポルフィリノイドや巨大ポルフィリンアレーを創製し、それらのメゾスコピック物性解明を目的としている。また金属表面やミクロ電極上などにオリジナルの巨大分子を配列し、その単一分子物性の計測に挑戦している。基板上に有機分子を配列することに関しては一定の再現性が得られており、金属表面と有機分子との相互作用を解明しつつある。

2-4. 中間評価結果

2-4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

本研究の主な目的の一つである新規ポルフィリノイド、巨大ポルフィリンアレーの創製は、国際的に見ても群を抜いた研究であり、卓越した成果が得られている。この点では、当初計画を十分にクリヤーしている。引き続き、世界を先導するユニークなポルフィリノイドの創製に努めていただきたい。

物性の測定や応用のための研究については、物質の創製とある程度の量の確保を待たなければならぬことは言うまでもないが、合成の進み方に較べると、やや遅れ気味に見えるのが気に掛かる。研究体制も整っているようであるので、今後の進捗に注目したい。

2-4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

單一分子で長さが $0.8 \mu\text{m}$ に達するという、1024量体ポルフィリンアレーの合成に成功し、環拡張ポルフィリンやポルフィリンリングなど新規でユニークな化合物群の合成にも成功している。この面においては、ポルフィリン化学の新局面を開拓しているといえる。これらの研究は、国際的にも高く評価されており、一流の国際誌 *Angew. Chem. Ind. Ed.* のハイライトに取り上げられるなど、国際的な注目度も高い。これらの化合物が、どのような電子、電気、光学等の特性を示すのかが注目される。優れた合成技術をもつ大須賀グループからは、引き続き新規なポルフィリノイドが創製されていくものと期待している。

物性などの測定においては、AFMによる 512量体の单分子画像の撮影や電気伝導度の測定、ナノギヤップを用いた電気特性の測定など興味深いデータも見られるが、まだまだ多くのデータが不足しており、更に積み重ね・検証も必要である。手法についての検討も進んでいるので、今後の成果に期待したい。

2-4-3. 今後の研究に向けて

多くのユニークな化合物を生み出してきた大須賀グループの極めて高い合成技術を活かし、ポルフィリン化学の発展に寄与する化合物群の創製に努めることは、今後も引き続き重要な課題である。生み出された化合物群の特性を測定し、応用分野への展開の基礎を築いて行くことも、ナノテクノロジーの発展にとって非常に重要なものである。チーム内の協力関係をより一層緊密化すると共に、領域外の異分野の研究者の考え方を取り入れられるようなシステムを築くことができれば、より一層の発展が期待出来るであろう。

2-4-4. 戰略目標に向けての展望

巨大ポルフィリンアレーの合成や環拡張ポルフィリンの合成など、新規ポルフィリンの創製については、現状の体制に不安を感じることはない。ポルフィリン化学の更なる展開が観られるものと期待する。

これらの新規化合物群を活かすことができるかどうかが、当初計画の研究課題の達成に大きく影響することも事実である。残された期間も多くないことから、この分野での精力的な研究の推進を要望したい。従来から研究されている測定手法以外にも、幅広い展開に持っていくことにより、新たな発見に結びつけられることを期待したい。まだデバイスの具体的な姿が見えていないが、これについての方向付けも必要であろう。

2-4-5. 総合的評価

巨大ポルフィリンや各種ポルフィリンの合成については、計画を十分に達成している。特に1024量体のポルフィリンアレーや、ポルフィリンリングなど、国際的に見てもレベルの高い化合物群が合成されていることは高く評価する。これらの成果は、大須賀グループの合成技術の高さを示すものである。この面の研究は更に強力に推進していくことが必要である。

物性の測定については、PCI-AFMを用いたポルフィリンアレーの画像取得や、電荷移動力顕微鏡を用いた電気伝導度の測定など、興味ある成果が得られている。しかしながら、手法の確立等に時間が掛かり、測定の成果が出るまでに時間が掛かるることは理解出来るが、合成グループの進捗に較べると、やや遅れているように見受けられる。今後の加速が必要であろう。

3-1. 研究課題名：新規組織再構成技術の開発と次世代バイオセンサーの創製

3-2. 研究代表者名：岡野 光夫（東京女子医科大学先端生命医科学研究所 所長・教授）

3-3. 研究概要

再生医療および、細胞・再構成組織活用型次世代バイオセンサーを出口として社会に貢献することを目的として、本研究では、ナノメートルの領域で培養細胞を制御し、従来にない高精度で細胞を活用する新テクノロジーの開発が推進されている。新規開発技術による培養細胞シートは、ヒト臨床応用に成功している。個々の要素技術の開発に関しては、当初の計画どおり、おおむね達成されている状況であり、今後、技術のさらなる洗練化と、これら要素技術を統合するデバイス化研究が進展すると期待される。

3-4. 中間評価結果

3-4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

細胞・組織の制御技術の開発は、国際的に見てもトップクラスの成果を上げている。特に、これを組織再生技術に生かした角膜や心筋などの培養では、他の追随を許さないレベルにあり、既に臨床応用のレベルに達しているものもあることは刮目すべきことである。しなしながら、その他の要素技術の開発については、興味深い構想は示されているものの、基礎固めの域から大きく踏み出せていないのが残念である。基礎となる細胞・組織の制御技術が確立されてきているので、その他の要素技術との統合によるデバイス化研究の今後の展開に期待したい。

3-4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

岡野グループの細胞・組織制御技術から進展した組織再生技術は、細胞シートとして素晴らしい成果を上げている。特に角膜再生技術は、既にいくつかの臨床例があり、実用化が近いものと思われる。角膜からの再生のみならず、口腔粘膜からの再生など実用に向けてデータが蓄積されている。加えて歯根膜や心筋の培養など興味深い研究が成功しつつある点は高く評価される。この研究については、先端を走り続けることを期待すること大である。

一方、細胞・再生組織を利用した次世代型バイオセンサー開発のための要素技術研究については、人工酵素を用いたATPセンシングなど構想としては興味深いものがあるが、基礎固めの段階が続いている、今後の研究の加速化を強く希望する。

3-4-3. 今後の研究に向けて

細胞・組織の制御技術、特に組織再生技術の創製においては、順調に優れた成果を上げているが、デバイス化のための要素技術開発においては、やや遅れ気味である。進捗している研究課題や、ターゲットの見えている研究課題に集中する等、研究体制を目的指向的に再編することも必要であろう。また、今後の研究過程で各研究グループ間の相互作用が発揮されることを期待したい。

3-4-4. 戰略目標に向けての展望

細胞・組織制御技術、特に細胞シート培養技術は、素晴らしい成果であり、極めて高いレベルにある。当初の目標をクリヤーできることは確実である。その成果をその他の要素技術と統合してデバイス化する研究に生かす努力も行われていることは見て取れるが、さらに強力な推進が必要である。

3-4-5. 総合的評価

組織再生技術については、国際的にもトップクラスの成果であり、高く評価するものである。角膜再生技術については、既に臨床応用の例まで出ていることは、拒絶反応や角膜提供の少ない我が国の事情等を考えると、画期的な成果といえよう。今後の進展に期待したい。この分野の研究は注目度が高く、研究者も多い。是非トップを走り続けていただきたい。

一方、次世代型バイオセンサーについては、まだこれからという段階であり、今後の研究成果に期待する。

4-1. 研究課題名：生体分子間相互作用を連続的に検出するための多機能型水晶発振子マルチセンサの設計と開発

4-2. 研究代表者名：岡畑 恵雄（東京工業大学大学院生命理工学研究科 教授
兼 東京工業大学フロンティア創造共同研究センター 教授）

4-3. 研究概要

本プロジェクトでは、(A) 生体内での複雑で動的な分子間相互作用や反応の定量的解析、(B) そのた

めの多機能でかつ高感度な水晶発振子マイクロバランス法(QCM)の開発、を2本の柱として研究を進めている。

これまでに、(A)動的な生体内反応の解析として、DNA上で進行する伸長、分解、ライゲーションなどの酵素反応や糖鎖上で進行する酵素反応(加水分解と糖鎖伸長反応)をリアルタイムに追跡できるようになり、また多くのタンパク質が絡む複雑な認識・反応系として、タンパク質のユビキチン化のメカニズムについても解析している。従来の方法では解決できなかった複雑で動的な生体内反応を定量的に評価し、新分野を開拓することが出来つつあると考えている。また、(B)装置の開発では、水晶発振子のマルチセンサー化、20倍の高感度化を果たし、これまで不可能だった分子量200程度の低分子化合物のレセプターへの結合過程を追跡可能としている。

4-4. 中間評価結果

4-4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

QCM装置を用いた測定・解析については、積極的に展開されており、注目すべき成果が得られている。酵素反応の解析や低分子量薬物のスクリーニングへの応用の可能性を示したことは、評価出来るものである。今後この手法の普及・発展を図っていくためには、ナノグラムの測定が可能であること、連続測定が可能であることの特性を活かした画期的な新しい応用方法を開発・提案する必要があろう。

水晶発振子を利用した高感度の機器の開発については、かなり成功していると言える。マルチチャンネル化については、現状では4チャンネル化が限界と見極め、高感度化についてはノイズを下げて高感度化を図り、感度を20倍にすることに成功している。これからは、フローセル化を目指しているが、その先がまだ見えていないようである。

4-4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

測定・解析については、加水分解など酵素反応の解析が進み、Michaelis-Menten式の限界を示すなど興味深い成果を発表している。原核生物のリボソームでの反応の解析なども、注目すべき成果であろう。また、装置の高感度化ができたため、微小質量の変化を検出しレセプターを用いた薬物のスクリーニングが可能になり、大幅な作業の簡略化可能性を示すことができたことは、応用面では大きな成果といえる。更に、可能性の幅を広げていくことを期待したい。

装置の高感度化、マルチセンサー化については、ノイズの影響を受けやすい発振回路を改良することにより、ノイズレベルを下げ約20倍の感度を得ることに成功している。この結果、低分子量化合物の検出が可能となり、重量変化量の少ない反応の解析や、レセプターを用いた薬物のスクリーニング用途などの可能性を示すことが出来た。マルチチャンネル化については、クロストークの関係から4チャンネルが限界と見切りを付けたことは、妥当な判断といえる。しかしながら、フローセルへの展開以外に新たな装置の開発の方向が見えていない点については、再検討して方向を明確に打ち出す必要があろう。

4-4-3. 今後の研究に向けて

測定・解析については、興味深い成果を得ている。この方向については、更にデータを積み重ね、QCM装置の応用の幅を広げていくと共に、応用面でのブレイクスルーを求めたい。

装置の開発については、開発の限界を見極め、開発の方向を明確にする必要がある。また、必要に応

じて、異分野の研究者の参画を求めることも検討課題であろう。

4-4-4. 戦略目標に向けての展望

当初の課題の設定は、分子間相互作用の定量化とそのための多機能・高感度 QCM 装置の開発であった。これらは互いに密接に関連しており、装置の開発が進まなければ、分子間相互作用の解析も大きく進展しない可能性が高いものでもあった。装置の開発の限界が見えかけている現在、装置開発の限界を見極め、必要な場合には、素早い方向転換が必要であろう。

4-4-5. 総合的評価

このチームが、水晶発振子の高感度化や応用の幅を拡げ、その可能性の幅を大きく拡げたことは評価すべき成果である。

測定・解析については、かなりの進歩が認められ、その連続測定が可能という特性を活かした成果が得られている。酵素反応の解析やリボソーム上の反応の解析などの結果も重要な成果である。レセプターを用いた医薬用化合物のスクリーニングなど実用面への応用例を示すことによって、広く研究に利用されることを期待したい。

装置開発の面においては、高感度化を達成し、4チャンネルのマルチ化を達成したことは評価したい。しかしながら、開発の限界も見えてきており、小改造や他の設備との組み合わせに終わってしまいそうな印象を受ける。ブレイクスルーを期待したい。

5-1. 研究課題名：遺伝子ベクターとして機能するナノ構造デバイスの創製

5-2. 研究代表者名：片岡 一則（東京大学大学院工学系研究科 教授）

5-3. 研究概要

本研究の目的は、ウイルス性遺伝子ベクターに代わる安全でかつ高機能の人工遺伝子ベクターとして遺伝子治療分野において広範な応用が期待出来るナノ構造デバイスを創製することである。現在までに、合成高分子や脂質分子の自己組織化を通じて、ナノ構造デバイスの基本構造が完成し、生体内環境応答機能や外場応答機能を付与したインテリジェントナノ構造デバイスを創製すると共に、細胞・動物実験等を通じた機能評価、更なる高機能化の検討を行っている。

5-4. 中間評価結果

5-4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

研究は、極めて順調に進行しており、人工遺伝子ベクターの研究としては、国際的にも他の追随を許さない高いレベルにある。高分子の精密合成技術と機能性核酸合成技術の組み合わせにより、遺伝子ベクターが大きく進化した。ミセル型、エンベロープ型の2種類のベクターを開発しているが、何れも着実に進歩している。特に、ミセル型においては、機能化が進んでおり、且つその機能が *in vivo* において確認されていることが、大きな進歩である。

基本的に当初計画に齟齬を来すことなく、加速しながら計画に沿って研究が進行している。

チームを構成している4つのグループの連携が密でありながら、それぞれ独自の研究が進められており、お互いの成果を取り入れながら進化している。加えて、チーム外の異分野（主に医療分野）の研究者も巻き込んで、臨床応用への取り組みが見られ、今後大きな成果が期待出来る。

5-4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

高分子ミセル型遺伝子ベクターの研究は、輸送系である血液中での安定性、細胞への取り込みの効率向上、細胞内での機能発現などについて進んでおり、それぞれの環境への応答性を示すものとして、pH応答性、還元環境応答性等のものがデザインされ、*in vivo*においてその効果が確認されている。

また、細胞質移行を促進する構造探索のためのポリマーライブライマーを構築して、効率的に探索を進めている。ガン治療に向けた機能性高分子ナノ構造デバイスの設計戦略も示され、戦略に沿って着実に研究が進んでいる。

多機能性エンベロープ型ナノ構造デバイスについては、pH応答性ペプチド、細胞膜透過性ペプチドや標的結合リガンドを組み合わせることによって、*in vitro*において、アデノウイルスと同等の遺伝子発現を示すベクターの開発に成功している。そして、これらの研究を通じて、細胞内や生体内の遺伝子などの動態を観察する手法も開発した。

目標達成のための今後の計画も明確に示されており、大きな成果を上げられるものと期待している。

5-4-3. 今後の研究に向けて

当初計画を上回るスピードで研究が進んでいる点を高く評価したい。4つのグループがそれぞれ成果を上げており、その成果が相乗効果を生んでいる。更に幅広い研究者の連携が必要になってくる場面も遠くはないものと思われるが、当面は現体制を維持して行くことで、次の大きなステップへの基礎を固められることを期待する。

5-4-4. 戰略目標に向けての展望

極めてハードルの高い目標ではあるが、それだけに期待も大きい。ここまで予想を上回る順調さで進んできているが、医薬品開発には、超えなければならないハードルが無数に存在する。現体制で必要な基礎データを固め、実用化を搖るぎないものとされることを期待する。

5-4-5. 総合的評価

米国において、政府主導による大規模なDDSの研究プロジェクトが昨年から開始されているが、国際的に見てもこのチームはトップレベルにある。これまで、ウイルスベクターに対して、遺伝子送達能力において圧倒的に劣っていた高分子系のベクターの能力を大幅に改善して、その効果を*in vivo*において確認したことは、目覚ましい成果である。ミセル型デバイスを担当する片岡グループとエンベロープ型デバイスを担当する原島グループに、原料となる高分子や核酸とのコンジュゲートを開発する長崎グループ、ベクターに取り込むべき核酸を合成する佐々木グループの連携が非常によく、それぞれ効率的な研究となっている点を高く評価したい。

6-1. 研究課題名：ナノクラスターポリ酸を用いた分子機械の構築

6-2. 研究代表者名：山瀬 利博（東京工業大学資源化学研究所 教授）

6-3. 研究概要

金属酸化物クラスターイオンであるポリ酸の骨格構造は、多岐にわたっていてほとんど全ての原子をヘテロ原子として骨格に取り込むことが可能である。約1 nmのサイズのポリ酸の応用範囲は分子カプセル、電子素子、発光素子、光学素子、医薬と幅広い分野に及ぶ。研究代表者は、ポリ酸が光化学的にナノサイズのスーパーポリ酸へと自己集合化することを発見している。この研究では、新規な構造を持つナノサイズスーパーポリ酸を創製するとともに、電子材料から医薬までのそれぞれの機能発現に要求されるポリ酸の分子設計を行い、更にこれらの統合による分子機械あるいは分子素子の構築を目指している。このためスーパーポリ酸の創製およびその基礎となる自己集合メカニズムの解明、構造化学、電磁気物性、光物性、生物活性を追求している。その中でナーリング、ナチューブ、ナノクラウンのポリ酸、新規分子磁石、有望な抗腫瘍剤、抗ウイルス剤、抗バクテリア剤の開発へと展開し、特に無機創薬としての抗腫瘍剤の実現に向かいつつある。

6-4. 中間評価結果

6-4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

当初の計画は、スーパーポリ酸の創製、自己縮合反応機構の解明、新規物性、無機創薬を目標としており、スーパーポリ酸の合成分野においては、当初の想定を超える結果が得られている。即ち、ブロック分子とリンカーの開発により、種々のポリ酸の合成を可能にしている。この結果、世界的に見ても非常にユニークな多くのポリ酸が合成され、構造が解析された。これらは、このチームの合成や構造解析の技術の高さを示すものである。一方、新規物性の分野においては、分子磁性の発見という重要な知見を得たが、展開はこれからである。無機創薬についても、基礎的な抗菌、抗腫瘍効果が判明した段階であり、本格的な検討は今後の研究に待たなければならない。チームとしては合成等基礎研究のウェイトが高いが、今後更に応用分野の研究者との連携を深め、実用的に意味のある成果を上げていくことを期待したい。

6-4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

スーパーポリ酸の基本的な構造設計が順調に進み、タングステンのビルディングブロックと希土類金属のリンカーを開発している。これらの組み合わせにより種々のポリ酸が合成出来ることを明らかにした。この結果、ナーリング、チューブ、チェーン等種々のスーパーポリ酸が合成可能になったものである。また、光化学的に反応を制御することによって、困難であるとされていた自己集合のメカニズムを明らかにすることにも成功している。

新たな展開として $(VO)_3$ 三角スピニ系でのポリ酸の分子磁性の発見という興味深い発見がある。これは新しい発見であり、今後の展開が期待される。

Mo_7O_{24} 骨格を持つポリ酸が幅広い抗腫瘍活性を示すことを明らかにしており、無機医薬への展開の可能性を示すものとして注目に値するものである。ただし、まだ基礎データの段階であり、今後の研究により実用に向けた成果を上げていくことを期待したい。

6-4-3. 今後の研究に向けて

前半の3年間では、基礎的な研究面での進展は著しいものがあり、新規ポリ酸の合成や新規物性の発見など、興味深い結果が得られている。しかしながら、今後の進展を考えるならば、現在世界に先駆けている合成などの研究をより深めることも重要であるが、応用分野への展開がより重要となる。応用分野の研究者との連携強化が必要不可欠となる。多岐にわたりがちな基礎的研究課題を絞り込み、研究体制を目的指向的に再編成する必要がある。

6-4-4. 戦略目標に向けての展望

新規ポリ酸の合成や構造解析については、世界的に見てもトップクラスにあるが、無機創薬は、今までほとんど実績のないものであるだけに、高いハードルが存在するものと思われる。研究の体制を再編し、可能性を見極めていく必要があろう。新規に発見された物性等についても、応用分野を見据えつつ、課題を絞り込んでいく必要があろう。

6-4-5. 総合的評価

国際的に見ても独創的な研究であり、着実に進んでいると言える。山瀬グループの基礎研究面、特にポリ酸の合成技術のレベルの高さは、注目に値するものである。尾関グループについても、構造解析において、山瀬グループを補佐しており、研究は堅実に進行している。

得られた興味深い成果は多いが、すぐ実用化に結びつくものでもない様である。有用性を見極めながら、取捨選択し絞り込んでいく段階に来ているようである。

平成14年度採択課題平成17年度中間評価結果

7-1. 研究課題名： ナノ粒子を応用した抗レトロウイルスワクチンの開発

7-2. 研究代表者名： 明石 満 大阪大学大学院 工学研究科 教授

7-3. 研究概要

本研究は、優れた免疫誘導補助能を持つことが判明しているコア・コロナ型ナノ粒子を用いて、安全性・有効性の高い抗レトロウイルス（ヒト免疫不全ウイルスと成人T細胞白血病ウイルス）ワクチンを開発することを目的としている。特に細胞性免疫誘導に有効な抗原を固定化した生体適合性ナノ粒子の生体内への直接、或いは膜融合リポソームを用いた投与を行い、レトロウイルス疾患の予防・治療のみならず、種々の病態細胞の排除に基づくナノ医療への展開を図ろうとするものである。これまでにポリアミノ酸や天然多糖である生分解性高分子の両親媒構造を制御する方法を用いて、蛋白質キャリアとして優れたナノ粒子が調製可能であることを見出した。なかでも、納豆菌由来のポリ（ γ -グルタミン酸）を疎水修飾することによって調製したナノ粒子は、*in vitro* での樹状細胞との相互作用の解析およびマウス免疫実験において極めて優れた免疫誘導効果が認められ、ワクチン担体としての有用性に大いに期待出来る成果を得ている。

7-4. 中間評価結果

7-4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

当初、ナノ粒子材料として合成高分子（ポリスチレン）を用いる計画であったが、生体内で難分解性であることから実用上の危惧が指摘された。そのため、生分解性のナノ粒子の開発から着手しており、その後の展開の早さは、高く評価出来るものである。ナノ粒子材料の検討から開始したため、その応用についてはスタートが遅れていたが、キャッチアップし当初計画のスケジュールに載せてきた。それのみならず、材料転換により新しい効果をも発見していることは、素晴らしい成果といえる。

このワクチンは、従来のDNAワクチンとは異なりタンパク由来のものであり、新たな抗エイズワクチン開発に弾みをつけるものである。今後、種々の抗原を標的とするワクチン開発に展開可能と思われる。また、癌ワクチン療法において予防効果だけでなく治療効果を見出しており、非常にユニークなものとなっている。計画されている動物実験を含め、研究の進捗に弾みがついており、今後の展開によっては、当初計画を大きく上回る成果が期待出来るものとなっている。

7-4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

生分解性疎水化 γ -PGAナノ粒子の有用性が明確となり、表面修飾あるいは内包による免疫誘導も確認されている。Protein-based vaccine開発は独自性が高く、この面での開発が進めばインパクトは大きい。効果的な生分解性ナノ粒子（ γ -PGA）の作製、抗原を用いた表面修飾や抗原の内包に成功しており、抗原特異的細胞障害性T細胞（CTL）誘導に成功したことも特筆すべきことである。また、疎水化 γ -PGAナノ粒子自体に、樹状細胞を活性化させ抗原に対する免疫応答を増強させるアジュバント効果があることを見出したことも新規な発見であり、種々の抗原を標的とするワクチン開発に展開可能と思われる。また、抗腫瘍ワクチン効果のあることも示されており、スギ花粉の免疫療法剤など普遍性の高いワクチン開発も念頭に入れて、革新的なワクチンの開発を期待したい。細胞内に導入された生分解性ナノ粒子の挙動やCTL発現の機構についても検討を進め、この微粒子がどのような役割を果たしているかを見極めることによって、この方法の有利さおよび限界を明らかしていくことも課題であろう。

7-4-3. 今後の研究に向けて

地域密着型のニーズから出発し、更に広い、普遍性のある対象へと研究が進展しているのは大変望ましい展開といえる。工学、薬学、医学の研究グループからなるこのチームは、研究が進むにしたがって、その分担する分野での成果が相乗効果を上げてきており、非常に好ましい体制を築いていっているように思われる。この画期的な成果を知的財産の形成や積極的な発表などによって公開し、評価を受けていくことも必要であろう。

7-4-4. 戦略目標に向けての展望

抗レトロウイルスワクチンの開発を目的として開発された生分解性ナノ合成高分子粒子を担体とするこの免疫療法は、国際的に見てもユニークなものであり、種々の医療応用の可能性を持っている。この生分解性ナノ粒子は、当初計画されていた抗原の表面担持のみでなく、抗原を粒子に内包することも可能となっており、より広い範囲で応用出来る可能性を秘めている。また、このナノ粒子は高い抗原提示機能を示すことから、基礎生物学から臨床まで広い分野での応用が期待される。今後の進展によっては、臨床試験への準備も必要になって来る可能性がある。

7-4-5. 総合的評価

ポリスチレンコアから生分解性疎水化 γ -PGA ナノ粒子へと分子設計を転換したにも拘らず、スピードアップして推進中であり、優れた成果を特段に挙げている。医・薬・工の3グループの協力体制が効果的に発揮されており、それぞれの分担と連携により、順調にワクチン開発が展開されており、高く評価するとともに、日本発の大きな研究・成果となることを期待したい。

応用の幅が広い技術であるだけに、多くのことが期待されるが、研究の方向性を見失わないように集中して成果を結実化していくことが必要であろう。

8-1. 研究課題名：ナノ生物物理化学アーキテクチャの構築と応用

8-2. 研究代表者名：北森 武彦 東京大学大学院 工学系研究科 教授

8-3. 研究概要

本研究は、マイクロチップに化学システムを集積するトップダウンテクノロジーと物理化学や生物化学を活用したボトムアップナノテクノロジーを融合し、メソ・ナノ空間領域を人為構築して、高度疾病センサーや選択的機能人工臓器デバイスなど高機能な化学・バイオ素子の創出を目指すものである。現在までに、トップダウン的加工技術を用いてマイクロ・ナノ複合構造の作製に成功している。ナノ空間における物質挙動を測定する上で必要な水の挙動についても、石英ガラスナノ空間中の水物性の形で検討しており、水分子間のプロトン移動度が物性の空間サイズ効果に重要な役割を果たしていることを見出した。一方、マイクロ空間での界面の直接測定に成功しており、マイクロ向流を実現し、液・液界面付近で生じるナノサイズの渦流を見出すなど、重要な発見が相次いでいる。

8-4. 中間評価結果

8-4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

研究は当初計画を上回る進捗を見せている。新しい発見も相次いでおり、順調に進んでいる。トップダウン的なナノ加工技術によるナノパターンングは世界トップレベルにあり、拡張ナノ空間構築を実現している。ナノーミクロ空間領域の物理化学現象の特性及び現象の解明は、水のプロトン移動速度の増強や液・液向流界面での渦流現象の発見等の

興味ある成果を得ており、拡張ナノ空間での物理化学を分子レベルで理解する端緒を開いている。初期の設備投資により最適なナノ加工システム・評価システムが立ち上げられており、健康や医療の高度センシング・モニタリング技術としての応用、あるいはマイクロチップ型の機能選択的臓器代替技術などへの基盤技術確立が期待できる。

8-4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

微細加工技術が着実に進み、拡張ナノ空間の構築に成功している。拡張ナノ空間での物理化学、バイオの現象の科学的なインパクトは高い。且つ、環境に配慮した産業技術的な側面のインパクトも極めて高いと考える。

液-液界面状態を直接計測できるμQELS装置を開発し、界面吸着挙動を界面張力波の変化から検出することに成功していることも顕著な成果である。マイクロ空間での界面の直接測定は、本研究が初めて実現したものであり、マイクロ向流の液-液界面の現象を、高速度カメラなどで観測し、液-液界面付近で生じるナノサイズの渦流を発見している。マイクロ流路における高い抽出効率や反応速度などの、理論的、実験的な体系化を期待したい。さらに、超微細加工技術の超微量化学物質センサ等への応用により種々の疾患を迅速に診断する疫病センサ、細胞培養及び分化制御による人工臓器創製への道が開くことができ、ナノ流体デバイス、ナノバイオアッセイデバイスへの展開も可能となろう。ミクローナノ空間では、相変化を伴う単位操作は困難を伴うが、その代表例である蒸留にも成功しており、今後の展開が期待できる。

8-4-3. 今後の研究に向けて

本研究チームが開発してきた拡張ナノ空間創製技術及び観察・測定・評価システムはいろいろな分野への応用が可能である。本研究の成果は世界超一流のものであり、今後の展開も大いに期待出来る。拡張ナノ空間領域の理論構築は、マクロ空間での理論とは異なる理論が不可欠になる筈であり、未踏の分野である。細胞内の物質と流体挙動との関係・解析もその範疇に入るものであり、そのようなサイエンスの構築にも期待したい。

環境技術としての展開も大いに期待できる分野であり、他のプロジェクトとの連携も視野に入れて推進して行く必要もある。

8-4-4. 戰略目標に向けての展望

拡張ナノ空間領域と言う新しい分野での研究であり、スピードアップして世界でトップの革新的な研究としての成果を期待している。

超微細加工技術を駆使することにより、ナノ流体デバイス、ナノバイオアッセイデバイスへの展開が可能であり、生体内の超微量化学物質センサ等への応用を図り、種々の疾患を迅速に診断する疫病センサを開発できる可能性もある。さらに、細胞培養及び分化制御による人工臓器創製への道が開くことができるかもしれない。非常に応用範囲の広い研究であり、期待も大きい。

8－4－5. 総合的評価

開発された拡張ナノ空間創製技術等は、他の追随を許さない、優れたものであり、これにより創製されたナノデバイス（ナノ流路等）の物理化学及び生物のナノ制御関連研究に及ぼす効果は、極めて大きい。ナノの世界とマイクロの世界を繋ぐ細胞培養・分化制御の分野においても、これらのデバイスの果たす役割は大きい。チーム間の連携も十分で、効果的に機能している。ナノ、マイクロ流路を用いた新しい化学の研究が進められており、とくに基礎研究面での成果が上がっている。また細胞への影響など挑戦的な課題にも取り組んでいる。これまでの成果及び研究への取り組み姿勢から、今後も画期的な成果が期待でき高く評価できる。

9－1. 研究課題名：ナノケミカルプローブの創製とバイオ・医療計測

9－2. 研究代表者名：鈴木 孝治 慶應義塾大学 理工学部 教授

9－3. 研究概要

本研究は生細胞内外の物質の動的解析を可能とする新規のナノケミカルプローブを創製し、これをバイオ計測と医療計測に展開することをねらいとしている。研究の目標は「単一細胞レベルの動態解析」に設定され、蛍光プローブ、光・電気化学プローブ、質量分析プローブという3種類の新規ナノケミカルプローブを利用した分析法を提案、確立することを目指している。その主な研究内容は、細胞の形状、および動態を観察する「細胞のリアルタイム測定システムの開発」と、細胞の外的刺激に対する応答および物質の放出を観察する「細胞応答観察システムの開発」との2つの構成からなる細胞の分析システムの確立である。

9－4. 中間評価結果

9－4－1. 研究の進捗状況と今後の見込み

個々の成果を見ると、当初計画以上に進んでいるものが多い。特に、種々のセンサ、プローブの開発、種々のケミカルプローブ開発については、既に多くの研究成果が得られている。しかし、そのいずれの成果も独立したものであり、方向性が希薄な印象があった。そこで、研究課題・研究者を2つの開発グループに再編成し直し、最終目標を「単一細胞レベルの動態解析」に設定してバイオ・医療計測の目的を明確にしている。但し、その狙いが明確とは言えない点に弱点があり、この概念の構築には更なる検討が必要である。

個々の研究については着実に成果が上がっており、マルチ検出顕微鏡やイオン定量用マスプローブ（MPAI）など、技術的に高く評価出来るものが開発され、その水準は高いものと評価出来る。

非常に高い研究開発力を持つチームであるので「単一細胞レベルの動態解析」のコンセプトを明確化することによって、より高い成果をあげられるものと思われる。

9－4－2. 研究成果の現状と今後の見込み

近接場光・電気化学・原子間力を一つのプローブで同時測定できる顕微鏡（EC-NSOM）の開発や、マルチ蛍光プローブの開発と細胞内複数物質検出の成功も大きな成果である。また、刺激に対する細胞の応答を直接観察するシステムとして、ナノドット表面プラズモン（SPR）センサを組み込んだマイクロ流体デバイス、イオン定量用マスプローブ（MPAI）の開発が順調に行われている。このMPAI法の研究はオリジナリティーのあるものであり、数種類の型のマスプローブを作成し、その適用性を調べた研究成果は高く評価される。

当初設定された種々のケミカルプローブ開発については、既に多くの研究成果が得られている。個々の課題解決能力が高いチームであるので、コンセプトを明確化することによって、より大きな成果が期待出来るものと思われる。

9－4－3. 今後の研究に向けて

既にかなりの成果を上げてきているが、今後さらに発展させていくためには、最終目標である「単一細胞レベルの動態解析」のコンセプトの明確化をすることが必要である。例えば、医薬品開発を指向するのか、疾患の診断を目的とするのか等のコンセプトを明らかにすることによって、研究の方向も明確になってくるものと思われる。「単一細胞レベルの動態解析」が、細胞レベルで疾患の同定（診断）、治療への知見を得ることを目標とするならば、疾患に対する細胞の解析項目をリスト化し、必要な技術を網羅していく作業なども必要になるであろう。既に開発された個々の技術についても、それらをより有用なものにするためには、これをどのような場面で使えば効果的であるかを示すことが必要であり、医療分野との連携が重要にポイントになってくるであろう。

9－4－4. 戦略目標に向けての展望

本研究を「単一細胞レベルの動態解析」というコンセプトで纏めていこうとする意欲は評価出来るものである。細胞ドックの中で謳われている「細胞のリアルタイム測定システム」と「細胞応答観察システム」の開発においては妥当であるが、内容的には細胞のトータルアナリシスにはまだ遠いことを認識し、細胞のトータルアナリシスシステムのどの部分を担おうとしているのかを明確にして、具体的な問題設定あるいは開発ターゲットを調整して、医療面に大きく貢献できる研究展開になることを期待する。

9－4－5. 総合的評価

個々の課題については多くの成果を上げてきており、高く評価出来る。これらを更にレベルアップするために統合化の概念「単一細胞レベルの動態解析」を持ち込み、「細胞のリアルタイム」、「細胞応答観察システム」の開発に集約して、研究の方向性を出してきたことは評価出来るものである。

弱点であった研究のベクトルを再構成することによって、順調に進捗している個々の研究の成果の方向付けができ、大きな成果に集約されることを期待したい。グループ間の

連携も良好であることから、本領域研究の後半が適切に進展することを期待したい。

10-1. 研究課題名： ゲノム制御・検出能をもつ革新人工核酸の創製 －世界最高峰の核酸合成技術を基盤にして－

10-2. 研究代表者名： 関根 光雄 東京工業大学大学院 生命理工学研究科
教授

10-3. 研究概要

本研究は、塩基部位無保護DNA化学合成法や、人工塩基による高精度塩基識別法など、研究代表者が独自に開発した新技術を基盤に、これまで不可能であった新機能人工核酸を創出しようとするものである。これまでに、新規で効率的なDNA, RNAの化学合成を開発している。また、いくつかのインテリジェント人工核酸の創製にも成功している。さらに、ユニバーサル塩基、オリゴスクレオシドの合成法、多次元平面を利用したDNA/RNA検出システムの開発など、いくつかの基礎と応用も視野に入れた研究が進展し、目標を上回る成果を収めている。

本プロジェクトの主要な課題は着実に成果をあげており、残りの研究期間では、実用化に向けた応用展開を中心に研究を実施する予定となっている。

10-4. 中間評価結果

10-4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

研究は極めて順調に推移しており、当初の設定目標はほぼ達成している。塩基部無保護法によるDNAの化学合成法並びに保護DNAプローブ合成法を完成し、DNAチップの開発も進み、且つ新たな課題も見出し研究は大いに進捗している。派生した重要なテーマについて、更なる取組みが明確に示されており、大きな研究成果が期待される。DNAチップの実用化に当たっては、企業との連携を視野に入れていることも妥当である。それと共に既存のDNAチップとの優劣を明確にしておく必要もある。最近の研究では、RNAの役割が見直されているが、シアノエチル基を保護基としたRNAの化学合成法の開発も応用範囲が広く重要な成果であり、今後未開拓の領域であるRNAチップなどへの応用も考えられる。

当初設定目標の達成だけでも大きなインパクトを有するが、今後の研究では、新たな合成法、チップ作製、評価システム構築など数多くの成果が期待される。

10-4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

“塩基部無保護法によるDNA合成法”や“保護DNAプローブ合成法”は世界の先端を走る研究である。特に無保護合成法はほぼ完成に近づいたといえる。この技術を活かした保護基をつけたままのチップ化や、修飾RNAを用いたsiRNA法などの新しい発想も生まれている。課題研究から派生した成果であるが、抗がん作用を持つといわれるc-di-GMP（環

状ビスジグアニル酸）の高効率大量合成にも成功し、生理活性効果も確認したことも世界から注目されている成果である。現在、医学分野の興味の中心はRNAの研究に移っているが、今後の計画には、その面の配慮もなされている。

10-4-3. 今後の研究に向けて

当初設定目標はほぼ達成しており、それだけでも大きなインパクトを有するが、それに留まらず、新たな合成法、チップ作製、評価システム構築など、今後も数多くの成果が見込まれる。保護基をつけたままのDNAチップや、修飾RNAを用いたsiRNA法などの新しい発想も、さらに研究を進めていけば非常に有効なものになる可能性を秘めており、今後の検討が待たれる。ユニバーサル塩基についても、生化学研究からのニーズがあり、実用化への進展を期待したい。今後重要になって来るであろうRNA合成技術についても、実用化可能な新規なものを合成する力を持っている。研究課題が良く整理されており、今後の研究の方向も明確になっている。また、挑戦的な課題も設定されているので、それに沿って順調に研究が進めば、さらに大きな成果が期待出来る。

10-4-4. 戦略目標に向けての展望

核酸合成については、我が国のトップクラスの研究者で構成されたチームであり、種々の成果を生み出してきているが、この成果を活かしていくために、今後は、医療・検査などの応用分野の研究者のみならず、企業との連携も必要になってくるものと思われる。既にいくつかのテーマについては、企業との連携を視野に入れているようであり、成果の実用化についても検討が進むことを期待している。

今までの研究で十分な成果が得られているので、今後の課題についても、今までの研究姿勢を貫いて行くことにより、さらに多くの成果が得られるものと思われる。今後もこのペースを維持して、新しい課題に積極果敢に挑戦してほしい。

10-4-5. 総合的評価

当初の設定課題を次々と解決し、さらに発展的に課題を抽出・拡大する研究チームは数少ない。本研究では、“塩基部無保護法によるDNA合成法”や“保護DNAプローブ合成法”を始め世界的にも注目される画期的な成果が出ている。適正規模の研究グループ構成が有効に機能しており、研究代表者のリーダーシップが生かされている。きわめて順調に進んでおり、高く評価される。

11-1. 研究課題名：疾患モデル細胞の高効率創製と機能解析

11-2. 研究代表者名：松岡 英明 東京農工大学 工学部 教授

11-3. 研究概要

本研究は、逆遺伝学（Reverse Genetics）に基づく疾患の解析、治療法の評価などに利用できる「疾患モデル細胞ライブラリー」構築を究極の目標とし、遺伝子改変 ES 細胞の高効率創製と機能解析を行う要素技術を開発するものである。具体的には、糖尿病に的を絞り、その関連遺伝子を複数改変したマウス ES 細胞の作製、その ES 細胞からβ細胞への分化、それらを高効率に行う単一細胞操作支援ロボットの開発、およびマウス個体の作製、単一細胞から個体までの一連の系での機能解析システムの開発を行っている。

現在までに、高効率に遺伝子導入できる単一細胞操作支援ロボットの開発に成功し、実用化している。そして、現在はクローンマウス作製に取り組んでいるところである。

1 1 - 4. 中間評価結果

1 1 - 4 - 1. 研究の進捗状況と今後の見込み

研究は順調に進捗している。研究の進捗状況が適確に把握されており、今後の課題が明確になっている。したがって、今後の研究計画も適切に設定されている。

主要課題の一つである「単一細胞操作支援ロボット（SMSR）」は、格段に進歩した実用モデルを完成させ、各種細胞に遺伝子、siRNA,タンパク質などのマイクロインジェクションが高効率にできることが示されている。相同遺伝子組み換えを用いた遺伝子ターゲッティング法および RNAi 法による研究においても、多くの知見が得られている。核移植クローン実験では、個体マウス作製の段階に入っている。

この分野では、国内外のいくつかの研究者が競合しているが、本チームは、ロボットを使った工学的なアプローチを行い独自の位置を占めている。現在進行中である疾病モデル動物は、今後の医療、創薬に必須なものになる筈である。チャレンジアブルな課題設定ではあるが、各研究グループの連携も良く、本チームの実力から判断して、大きな成果が期待できる。

1 1 - 4 - 2. 研究成果の現状と今後の見込み

格段に進歩した単一細胞操作支援ロボット（SMSR）の実用モデルを完成させ、各種細胞に遺伝子、siRNA,タンパク質などのマイクロインジェクションが高効率にできることが示している。また、これを用いて、世界で初めてマウスES細胞への遺伝子導入に成功する成果を挙げている。核移植クローン実験では、shRNA生成用ベクター導入法によって、PDX-1, SHP, Kir6.2, IRS-1, IRS-2, GKの6種類の糖尿病関連遺伝子ノックダウンES細胞を開発し、ダブルノックダウン細胞開発に進んでいる。さらに、β細胞への分化条件も確認し、現在は個体マウス作製の段階に入っている。

難題のES細胞からの疾患モデル個体の作出にも取組んでおり、遺伝子導入したES細胞に関しても、遺伝子組み換え・インジェクション・個体発生の全ての段階できちんとした検証がなされている。病気のモデルのノックアウトマウスがこの技術で作製されると科学的なインパクトは大きい。

1 1 - 4 - 3. 今後の研究に向けて

研究は、これまで非常に順調に推移してきている。現在進行中である糖尿病モデルは、発症要因も多く、選択された要因だけでは全ての病態がカバー出来るものではないであろうが、これらを達成することによって、次へのステップが大きく開けてくるものと思われる。

研究の方向性とグループ間連携の具体性が明確であり、今までのところ研究進捗も順調である。したがって、予定通りに研究を進めていけば、選択した要因による糖尿病疾患モデル細胞の創製は十分に達成できると思われる。

マイクロインジェクションと、組み換え ES 細胞、およびクローン個体作製のトップ研究者がチームを作っている。今後は、さらにグループ間の連携を強化してスピードアップを図り、最終目標に向かって集中的な取組を行うことで画期的な成果を生み出すことを期待したい。

1 1 - 4 - 4. 戦略目標に向けての展望

研究課題自体が戦略目標に合致したものであり、今後の医薬・医療の進展に欠くべからざる研究である。医薬品開発などは、社会的に試験用動物の個体数削減の要求があり、疾患モデル細胞はその要請に応えうるものである。この研究が進展すれば、科学的にも、医療面を睨んだ技術的にもインパクトは大きく、貢献するところ大と考えられる。ただし、疾患モデルの作製については、内外に競合するいくつかの研究グループもあり、スピードが要請される研究でもあることを、常に意識していく必要が有ろう。

1 1 - 4 - 5. 総合的評価

格段に進歩した単一細胞操作支援ロボット（SMSR）が開発でき、本プロジェクトの2つ目の目標である遺伝子改変 ES 細胞・組織・個体の高効率作製も、グループ間の密なる連携で大きく進展している。SMSR の開発は期待以上の成果を上げており、このロボットの製品化（市販化）も十分に視野に入れている。この成果の遺伝子工学分野への貢献は極めて大きい。

遺伝子改変 ES 細胞の創製とこれを用いたマウス個体作製も順調に進んでおり、さらに ES 分化制御でもインスリン分泌細胞への分化の追試に成功するなど、大きな成果を得ている。キメラ化、クローン化に関しても良好な進展が見られ、高く評価できる。

1 2 - 1. 研究課題名： 金属錯体プローブを用いる遅延蛍光バイオイメージング

1 2 - 2. 研究代表者名： 松本 和子 早稲田大学 理工学部 教授

1 2 - 3. 研究概要

本研究は、蛍光寿命の長い希土類蛍光錯体標識剤と時間分解蛍光測定法を中心に据え、蛍光標識剤と装置の開発、およびバイオへの応用を図ろうとするものである。即ち、希土類蛍光錯体標識剤の蛍光寿命が長いことと、光ブリーチングを起こしにくいという特徴に着目し、蛍

光標識剤の改良とその応用分野を拡げて、従来の蛍光標識剤の常識を変えようとするものである。この研究で取り組む応用分野としては、特定の mRNA の発現と動態を生細胞中で高感度に定量イメージングする方法や、組織中の細胞のアポトーシスを高感度に検出する方法の開発がある。標識剤の改良と観察装置の開発によって、これらの細胞の生命活動を数十分以上の長時間にわたって観察できるようにすることを目指している。

1 2 - 4. 中間評価結果

1 2 - 4 - 1. 研究の進捗状況と今後の見込み

全体的に順調な研究進捗状況にあり、初期の目的はほぼ達成できている。マイクロアレイ用時間分解蛍光顕微鏡は、当初計画通りに開発が進行している。希土類蛍光標識剤については、高機能な標識剤DTBTA-Eu³⁺の開発に成功し、生物試料での実験、解析の大きな武器を得ている。蛍光ラベル剤については、励起波長の長波長化など、一層の改良を期待したい。

生細胞内部でのmRNAの1分子蛍光イメージングや、酸化ストレスマーカーHNE（ヒドロキシノネナール）の時間分解蛍光測定法の開発により、新たな展開の糸口が得られている。

これらの成功は、生細胞での観察手段を増やし、疾病機構の解明が進展することを期待せるものである。今後の研究計画も、それぞれのグループの研究進捗に合わせた計画となっており、目標も明確に設定されている。

1 2 - 4 - 2. 研究成果の現状と今後の見込み

金属のキレート力の強い緩衝液中においても安定で蛍光を発する高機能な希土類蛍光標識剤DTBTA-Eu³⁺開発に成功したことは大きな成果である。生細胞内部でmRNAを1分子蛍光イメージングすることに成功し、またmRNAをスプライシングして複数波長の蛍光を1分子レベルで観察したことでも評価さ出来る成果である。HNEを酸化ストレスマーカーとする研究も技術的インパクトが大きい。しかしながら、他の手法に対するこれらの方法の優位性を示し切れていないところが、今後の課題であろう。観察装置はほぼ整ったことから、これらを活用したデータ収集・解析が進展するものと思われる。対象とする細胞・組織も具体的に設定できているので、成果に繋がることを期待している。

1 2 - 4 - 3. 今後の研究に向けて

蛍光標識剤並びに遅延蛍光観察装置の開発、分析への応用、疾病解析への応用と役割分担が明確である。長時間測定が可能という特徴のある蛍光標識剤と装置を活用して、疾病解析事例の重要な発見を期待したい。遅延蛍光を利用することによってバックグラウンド蛍光を抑制することは重要なポイントであり、遅延時間依存性をより詳細に検討することによって学術的価値も高まるであろう。蛍光波長を長波長化する予定があるとのことであったが、標識剤励起光源の問題の観点からも望ましい方向と思われる。また、組織内の特定タンパクの検出なども、研究課題に加えていくことが望ましい。

成果の発表がやや少ないようである。論文投稿・特許化を積極的に進める必要があるものと思われる。

1.2-4-4. 戰略目標に向けての展望

長時間の連続蛍光観測が可能である希土類蛍光錯体の特長を活かした遅延蛍光バイオイメージング法による具体的な疾病解析事例と、有効な疾病分野の提案、並びにそれらの定量化手法の開発を行うことによって、医療分野への大きな貢献が出来る可能性がある。また、mRNAの1分子観察の成功は、これからRNAの研究に貢献しうる成果であり、今後の研究の方向に注目したい。

1.2-4-5. 総合的評価

中間評価段階までは、ほぼ順調に成果を挙げたと言える。さらに研究の加速により、後半の研究期間で疾病解明に繋がる具体的な成果を期待したい。有用な蛍光標識剤の選択も行われ、遅延蛍光観測装置、時間分解蛍光顕微鏡の立ち上げもほぼ完了しているため、これから実証的な成果に結びつくであろう。他の手法に対するこの手法の優位性を明確にしきれていないことが弱点ではあるが、グループ間の連携も良好であり、細胞・組織レベルでの蛍光イメージング、1分子蛍光イメージング等に向けての研究展開が期待される。

平成15年度採択課題平成17年度中間評価結果

1.3-1. 研究課題名：細胞対話型分子システムを用いる革新的遺伝子送達概念の創製

1.3-2. 研究代表者名：片山 佳樹 九州大学大学院 工学研究院 教授

1.3-3. 研究概要

本研究は、細胞内の標的シグナルに応答して遺伝子発現を活性化できる遺伝子治療法の基礎概念を確立し、これを一般化できるよう幾つかの疾患に適用できるシステムを開発して、動物モデルでの適用を実現することを目的としている。これまでに、本概念を可能にする遺伝子制御材料の分子設計の確立と、5種類のプロテインキナーゼ、3種類のプロテアーゼに応答する材料の開発を試み、順次、基礎的な評価が進んでいる。また、ガンへの適用としては、動物モデルでの検討を開始している。さらに、ウイルス疾患への適用でも好結果を得ている。

循環器系疾患とウイルス疾患に関する評価系の確立、基質ペプチドのハイスクループット探索法なども確立しており、研究開始2年目ではあるが、順調に結果を出しつつある。

1.4-4. 中間評価結果

1 4 – 4 – 1. 研究の進捗状況と今後の見込み

基質設計・合成・評価の一連の作業が、順調に効率よく進められている。キャリヤーの開発も順調であり、細胞への導入に関してはグループ間の連携が良く取れている。また、シグナル応答型遺伝子の癌における発現制御能が、細胞のみならず、*in vivo*においても働きうることを示したことは大きな成果と言える。以上のように、各種キャリヤーの開発、細胞への導入、細胞系でのシグナル応答型遺伝子制御あるいは*in vivo*での適用検討など極めて精力的に研究を進め、目標を達成している。

本研究は、提案している概念が広く、疾患細胞特異的遺伝子制御として一般性があることを実証できたことは、大きな意義があるものである。細胞内シグナルを用いる発現制御と言う概念は、世界でも先行している概念であり、医療面での展開には大きな成果が期待できる重要な研究である。

1 4 – 4 – 2. 研究成果の現状と今後の見込み

標的とするペプチド基質の設計が順調に進んでおり、そのハイスループット生成にも成功している。また、中空ナノカプセルの表面修飾による高選択性も実現している。新たに開発したペプチドアレイ法も優れたものと評価出来る。

細胞内シグナル応答型遺伝子制御システムの *in vivo* への適用が癌治療で可能となりつたり、社会的インパクトも大きいものと言える。標的とするシグナルに対して実用的な感度を有する基質設計の基盤が確立される可能性も高く、大きな成果を期待している。

基質探索法の開発、治療効果評価のためのアッセイ系の開発、ウイルス感染モデルの開発が新たな展開・方向としていることは妥当と思われる。感染モデルの確保は新たな課題となるが、後半の研究展開には不可欠の課題であり、解決を期待したい。

研究開始から未だ日が浅いこともあってか、論文発表・特許など成果の公表の面では不十分である。類似の研究は、世界的に見ても殆ど無いのが現状であり、オリジナリティに富んだ研究課題であるので、適切に成果を公表していく必要が有ろう。

1 4 – 4 – 3. 今後の研究に向けて

最初はテーマが発散する（対象とする疾患がグループにより異なっている）のではないかとの危惧があったが、実際には夫々のグループがしっかりとした方針（研究計画）を持ち続けており、杞憂であった。基質を分子設計し材料化するグループと、それらを活用して *in vivo* 評価するグループとの連携はうまく取れており、成果のフィードバックも適切であることから、今後もこの体制を維持し、世界で最初と言っても良い、本研究の概念を実証出来る成果を期待している。

本概念の特許化・研究成果発表が遅れているようである。貴重な成果であるので、適切な公開を期待したい。

1 4 – 4 – 4. 戦略目標に向けての展望

今まで、予想されるハードルの高さから、研究課題となり難いと思われていたテーマへ

の果敢なチャレンジであり、貴重な成果が得られている。今後の医療に必須の手段となる可能性を秘めており、期待は大きい。

これまでの研究成果から、本研究の最終目標である癌、循環器疾患、ウイルス疾患で、世界最初の細胞特異型遺伝子治療の臨床応用が可能であることを証明することを期待したい。

14-4-5. 総合的評価

世界初と言って良い極めて意義の高い概念を証明する研究をパワーフルに推進しており、成果も着々と出ている。細胞内シグナル応答型システムを癌、循環器疾患、ウイルス疾患に適用し、細胞特異的遺伝子治療に臨床応用を可能にする、という壮大な研究であるが、シナリオ（研究計画）に沿って順調に研究が進展している。適切なペプチド基質の分子設計、細胞への導入法最適化、臨床的評価、等が適切になされており、極めて優れた研究くなっている。研究開始2年間でここまで進捗したことは高く評価される。