

# 戦略的創造研究推進事業

－CRESTタイプ－

研究領域「生命現象の解明と応用に資する新しい計測・分析基盤技術」

研究領域中間評価用資料

平成21年2月10日

## 1. 戦略目標

### 1. 1 名称

「新たな手法の開発等を通じた先端的な計測・分析機器の実現に向けた基礎技術の創出」

### 1. 2 具体的な達成目標

全く新しい発想に基づく技術開発、新原理の探索を通じた新たな手法の開発等、多方面の先端科学技術分野における創造的な研究活動を支える新たな計測・分析機器の実現に向けた基盤技術の確立を目指す。

特に、細分化、多様化が進む先端分野の研究開発において、画期的な進展もたすため、あるいは全く新しい領域を切り拓くため、従来技術では不可能であった現象や事象について、新たな方法論の開拓と多分野の技術の融合等を併行して進める。具体的には、例えば、以下のような領域について、先端計測分析機器の開発につながる基盤技術を確立する。

- ・ 無機材料や有機材料、生体・環境試料中に含まれる極微量物質の化学形態を計測・分析する基盤技術の確立
- ・ 無機材料や有機材料、生体・環境試料の固体－固体界面、固体－液体界面の状態を計測・分析する基盤技術の確立

### 1. 3. 目標設定の背景及び社会経済上の要請

我が国が科学技術分野で真に諸外国を先導するためには、世界最先端の研究データ、独自の研究データを取得できる先端計測分析技術・機器を整備していくことが重要である。世界最先端の研究データ・独自の研究データは、具体的な研究ニーズに基づく創意工夫による技術開発や、新たな方法論の開拓や多分野の技術の融合を通じた新しい測定機器によって生み出されるものであるが、このような新しい手法の開発等を通じた測定機器の開発自体も極めて新規性・独創性の高い研究である。

また、新しい手法の開発を通じた先端的な計測・分析技術基盤の確立は、次の開発段階である実用化・汎用化をすることにより産業応用も可能となるものであり、社会経済上大きな波及効果も期待できるものである。

具体的には、例えば、生体中又は環境試料中の極微量物質が、生体又は環境に与える影響は、化学物質の存在形態により大きく異なるものであり、このような極微量物質の存在形態を可視化することは生体反応・化学反応を設計する基礎的知見を与えるものである。また、次世代の超高集積化素子を実用化する際にはナノ（10億分の1メートル）領域の界面の制御技術が鍵となり、物質界面の化学状態を明らかにすることは重要である。さらに、ナノレベルの材料が生体内にどのような影響を与えるかを解析するためには、ナノ材料と生体物質の接触界面の情報を明らかにすることが重要である。

このような技術の開発は、ライフサイエンス分野における分子認識に基づく生命現象の解明、ナノテクノロジー（10億分の1メートルのレベルの精度を扱う超微細技術）・材料分野における物質間の相互作用の解明、環境分野における生体影響の解明等の他様々な分野において鍵となるものであり、また、新規ナノバイオ（分子のレベルで物質を操るナノテクノロジーと、生命の仕組みを解明するバイオテクノロジーを組み合わせ、医療や環境の中に存在する微量物質の検出などに応用する新しい研究領域）材料の開発、新規集積化素子等の開発に資するものであり、多大な経済効果も期待できるものである。

これまでは、我が国においては、新しい測定機器に関する研究・技術開発を、各研究機関及び個々の研究者・技術者が個別に進めてきたが、これらの研究を行うにあたっては分野横断的に体系的に基盤技術を確立していくことが重要であり、また、本基盤技術の確立のためには、全く新しい発想に基づく研究が適切な規模で長期間実施される必要がある。

以上のことから、我が国においても、本基盤技術の開発について早期に国家的に取り組む必要がある。

#### 1. 4 目標設定の科学的裏付け

新しい手法の開発を通じた先端的な測定機器を確立する基盤技術の研究開発は、各研究機関又は各研究者・技術者個人において独自に取り組みが行われているものの、未だ不確定な要素が多く、全く新しい発想による体系的な取り組みが必要となる。

本戦略目標は広汎な先端科学技術分野において根本かつ普遍的な価値を有する基盤技術を確立するものであり、国家として戦略的・長期的に取り組む必要がある。また、技術動向に応じて適宜新しい技術を確立していく必要もあるので、次世代を担うべき若手研究者の育成も重要な課題となっている。

以上のことから、複数の技術開発を同時並行的に競争的環境下で進めることにより、最も有用な計測・分析技術を抽出し、世界に先駆けて世界標準となる基盤技術を確立することが重要である。さらに、20代、30代の若手研究者・技術者の育成にも重点を置く必要がある。

また、本戦略目標は、新しい手法の開発を通じて新規性・独創性を有する計測・分析基盤技術を確立するものであるが、その開発の推進にあたっては、我が国において実施されている他の先端計測分析技術・機器を開発する事業と情報交換をしつつ、連携をとりながら推進していくことが重要である。

#### 1. 5 重点研究期間

平成16年度から平成19年度までの4年間にわたり、新規研究課題の募集を実施する。研究期間は1研究課題につき概ね5年の研究を実施する。（なお、優れた研究成果を挙げている研究課題については、厳正な評価をした上で、研究期間の延長を可能とする。）

## 2. 研究領域

「生命現象の解明と応用に資する新しい計測・分析基盤技術」(平成 16 年度発足)

本研究領域は、生命系科学技術の発展の原動力である未解明の生命現象の解析に資する新たな計測・分析に関する基盤的な技術の創出を目指す研究を対象とするものです。

具体的には、生命現象を司る生体分子の作用機構の本質に迫る解析技術や、生体または細胞中での生体分子のその場観察技術、単一細胞レベルでの分析技術、個体から生態系にわたる多様なスケールでの新規な計測・観測技術などを対象とします。また、環境試料中に含まれる極微量物質が生体に与える影響を計測・分析するための新規な技術も対象とします。さらに、既存の基本原則に基づく技術であっても、計測・分析の速度、感度、精度を飛躍的に向上させる技術あるいはその限界に挑む技術等、新原理の探索や新現象の発見と解明に資する研究や生命系科学技術にブレークスルーをもたらすことが期待できる研究を含みます。

### 2. 1 具体的な達成目標

本戦略目標は生命システムの動作原理を検証可能な程度に理解し、検証過程で創出されるツールやソフトウェアなどが医療、バイオエンジニアリングなどの分野で活用される基盤技術となることを目標とする。

具体的な達成目標としては、以下のような研究開発例があげられる。

- (ア) 生命システムを制御する動作原理を明らかにするためのモデル系。
- (イ) 生命システムの分子機構の動作特性を把握するためのイメージング、網羅的解析などの計測・測定技術
- (ウ) 生命システムの時空間動態の計算機シミュレーション技術。
- (エ) これらの基盤技術を活用した薬剤、ワクチンや生物生産技術、疾患の予防、診断、治療技術や生体機能の解明に資する技術。

### 2. 2 目標設定の背景及び社会経済上の要請

ヒトゲノム計画が終了した後、世界的にその成果を医療やバイオテクノロジーなどに向けたイノベーションにつなげてゆくことが喫緊の課題となっている。一方、医療の分野ではひとつの遺伝子が原因となって発症する疾病、血友病などについては、その原因遺伝子が解明されつつあるが、他方、例えば、ガンや生活習慣病といった複数の遺伝子や環境因子が関与する疾病については、複雑に関係する機能分子からなる生命システムのどのような振る舞いが疾病の原因につながるのかを研究する方法論が充分でなく、その開発と効果的な治療法への応用に対する要請は高まっている。

本戦略目標は生命システムを構成する機能分子の時空間動態の解析を通して動作原理を明らかにし、その成果を疾患の予防、治療やバイオエンジニアリングなどのイノベーションの創出につなげることを狙いとするものである。例えば、作用メカニズムがある程度判

っている複数の薬剤の時間的特性変化の解析から薬剤投与シミュレーションや診断や治療に有効なバイオマーカーの検索などが期待され、代謝機能の制御メカニズムの解明により生物生産に利用する微生物や植物等を利用した効率的な生産法の開発などが期待される。既に、例えば、心臓に対する複数の薬剤の反応性シミュレーション技術が英国ケンブリッジ大学で開発され、米国 FDA において安全性試験への使用が許可されている。しかしながらこのような生命システムの動作原理解明と活用を可能とする技術はまだ少なく、その開発が望まれている。

### 2. 3 目標設定の科学的裏付け

21世紀における生物・医学研究においては、ゲノムからスタートして細胞や器官、個体や個体間など様々なレベルで生命現象を統合的に理解する研究の方向性が重要となっている。このため、数理モデル、生命機能の再構築、シミュレーションなど様々な研究アプローチが試みられており、それらの中でも、今回の目標に係る生命システム研究はモデル化、イメージング、シミュレーション、網羅的解析などの研究アプローチが組み合わさった手法であり、生体機能を理解し、制御するための定量性と予測性を実現することを狙いとする研究領域である。このような研究領域は従来のライフサイエンス研究手法に加えて、理論生物学、計算科学、数学、物理学などの知識を必要とし、また、新たな計測・測定技術、機械加工技術、コンピュータなどの新しいツールを必要とする。特に後者はライフサイエンス、エンジニアリングのイノベーションにつながる技術やソフトウェアを創成するものと期待されている。

生命システムの研究の歴史は比較的浅いが、日欧米でほぼ同時期に研究が始まっている。米国では政府、民間レベルでの研究が急速に進展しており、欧州でも EU 及び独、スイス、英国で研究プロジェクト推進されている。日本は米国に次いで優位な状況にあるが、政府レベルの研究推進政策が欧米に比べて十分でない状況がうかがわれる。本分野の研究を推進し、かつ、分野全体の研究人材の育成や研究推進のための活動（国際会議の主催など）を同時に推進することにより、我が国の科学・技術の国際的地位の向上につながるものと期待される。

## 3. 研究総括

氏名 柳田敏雄

(大阪大学大学院生命機能研究科 教授)

#### 4. 採択課題・研究費

(百万円)

採択年度	研究代表者	中間評価時 所属・役職	研究課題	研究費*
平成 16年度	安藤 敏夫	金沢大学 教授	タンパク質のナノダイナミクス高速撮影装置の開発	625
	生田 幸士	名古屋大学教授	光駆動ナノマシンを用いた新原理バイオ計測ツールの研究	390
	白川 昌宏	京都大学 教授	磁気共鳴法による生体内分子動態の非侵襲計測	503
	高橋 聡	大阪大学 准教授	蛋白質の折り畳み運動解明を目指した一分子観測法の確立	468
平成 17年度	青山 茂	オムロン 参事	ハイブリッド局在 SPR を用いた生体分子の環境応答性計測	237
	長野 哲雄	東京大学 教授	生体分子の動的可視化プローブの開発と応用	603
	中村 義一	東京大学 教授	多目的 RNA ナノセンサー・モジュレーターの開発	650
	森 勇介	大阪大学 教授	タンパク質完全結晶創成	611
	吉岡 芳親	大阪大学特任教授	次世代無侵襲・定量的脳機能イメージング法の開発	867
平成 18年度	佐々木裕次	東京大学 教授	高精度 1 分子内動画計測から見える分子構造認識プロセス	354
	中山 喜萬	大阪大学 教授	カーボンナノチューブを用いた単一生体分子ダイナミクスの計測	383
	永山 國昭	岡崎統合バイオサイエンスセンター 教授	ns-nm 分解能の光子・電子ハイブリッド顕微鏡の開発	350
	樋口 秀男	東京大学 教授	<i>in vivo</i> ナノイメージング技術の開発と生体運動機構の解明	369
	宮澤 淳夫	理化学研究所グループディレクター	細胞内標識による生物分子トモグラフィー	353
			<b>総研究費</b>	6,794

\* 研究費：平成20年度上期までの実績額に平成20年度下期以降の計画額を加算した金額

## 重点配分の趣旨

- (1) 安藤チーム：高速 AFM の開発が進み世界的にも類を見ない装置へ発展し、技術的にほぼ飽和した段階で、生物システムへの応用を強化する目的で重点配分を行った。DNA 関連タンパク質を扱っているグループを加え、それぞれのグループで高速 AFM 計測ができるよう配慮した。
- (2) 高橋チーム：タンパク質折り畳みの 1 分子計測を目指し、計測、解析、試料調整のグループでチームを構成し、比較的若いメンバーで精力的に研究を行っていたが、折り畳みで重要な役割を演じていると思われる水和の解析を取り入れ、研究をさらに強力に推し進めるため、タンパク質の水の専門グループを加えた。
- (3) 吉岡チーム：脳の新しいイメージングに取り組んでいるこのチームの研究は、生命現象領域ではユニークなチームであるが、世界的には競争の激しい分野である。そこで、世界的にもユニークな研究へ発展させるために思い切った投入をする必要があった。超高磁場の磁気共鳴装置を導入し研究代表者のポテンシャルを生かした技術を模索し、小動物磁気共鳴のグループを新しく加えた。

## 5. 研究総括のねらい

生命は多種の分子から構成され、折り重なった階層構造をなす複雑なシステムである。新しい計測技術の開発は生命現象理解への突破口である。新しい計測により、これまで記述できなかったことが記述され、われわれの科学的知識が増え、その背後にある原理が解明される。その結果、我々の生活や生き方が変わってゆくことになる。そのことはこれまでの科学技術の歴史が明らかに示していることであり、当領域ではその原動力となる新しい計測技術の開発を目指し、生命現象理解への一助となることを目指し研究を進めてゆく。そのため生命科学の広い分野から、新しい計測へつながる技術・分析を育て、新しい計測に挑戦してゆく。ただスペックを上げるだけではなく、これまでの計測では不可能だった質的に新しい計測・分析を目指す。

生命現象と言っても、さまざまな分野があり、アプローチがあり、かといってゴールが見えている訳ではない。さまざまな分野から、さまざまな立場の人が手探りでゴールを模索しながら、各チームの研究を進め、領域の目指す方向を舵取りしてゆく。そのような試行錯誤にも近い研究からユニークな技術が生まれ、ユニークな結果が出て、大きな計測の潮流が生まれることを目指す。そのためには、大胆なアイデアとチャレンジ精神が要求される。その結果、これまで到底理解できなかった新しい現象や原理が見つかる可能性がある。また、それを診断や医療に利用できれば、飛躍的な進歩がもたらされ、社会的なインパクトは大きい。またその技術は、さまざまな広い分野に生かされ応用されることが期待され、国民生活、社会・経済に対するインパクトが予想される。そのような成果が一つでも、二つでも生まれてくればと願っている。

## 選考について

広い生命分野から新しい計測を目指した課題を探し出す。そのためには、広い専門分野から選んだ領域アドバイザーの意見を尊重し、異なった分野が絡み合っ選考を進めることが大切であった。

総括は自分の意見を主張するより、アドバイザーの意見を尊重し、課題の選考が行われた。具体的には、次のようなプロセスで課題の選考が行われた。

- (1) 広い範囲にわたった分野から課題を募集すること、新しい分野を開く研究を目指すことを応募で明らかにした。その方針は 3 年間を通して一貫していたが、2 年目、3

- 年目では多少前年の反省から希望するテーマを強調することもあった。
- (2) 領域の方針を総括、アドバイザーの間で確認した。
  - (3) 応募してきた課題をアドバイザーの専門性を考え、割り振りして書類選考をした。
  - (4) 書類選考の結果は A、B、C、D で評価し、特に A 評価を受けた課題を重視して、最後はアドバイザー全員の合議でヒアリングの対象とする課題を選んだ。評価をするときに、それぞれの専門分野で A を選ぶには特別は理由があるはずで、B を平均的にたくさん並べるより意味があるはずだ、という価値観が背後にあった。
  - (5) 最終決定はヒアリングを重視し、全員の合議で決定した。実際問題として、評価委員の中で大きく評価が割れるというようなことはなかった。

実際の選考ではアドバイザーが広い専門分野をカバーしていることを反映して、応募課題の中から大きく特定の分野に偏ることなく、バランスの取れた結果となった。それはアドバイザーがお互いを尊重し合うこと、アドバイザーと総括の信頼関係、そしてアドバイザーの見識と個性によるところが大きかった。前年度の反省が翌年の課題選択に自然に反映し、3年間でトータルしたとき、生命現象の計測として、さまざまな分野の研究を含んだユニークな領域が形成されることになった。たとえば、初年度 3 つの意欲的な計測チームに加えて、ナノマシンを使った計測ツールの開発を行うチームが選ばれ、他のチームにツールを提供するという形で貢献している。これを受けて、17 年度は計測よりは、プローブなど計測を支える技術、それを使って生物や医学への応用を目指す課題が選ばれた。さらに翌年は、それまで 2 年間、分子系の計測が少ないことを受けて、生体分子そのものを目指す研究課題が選ばれた。結果として、技術的にチーム間でお互いに補い合えるような構成となった。バーチャル・ラボということを特に強調するまでもなく、チーム間の連携が生まれるポテンシャルが潜在的に生まれていたといえる。

## 6. 領域アドバイザーについて

領域アドバイザー名	現在の所属	役職	任期
上野 照剛	九州大学	特任教授	平成 16 年 7 月～
岡野 栄之	慶応大学	教授	平成 16 年 7 月～
佐野 雅己	東京大学	教授	平成 16 年 7 月～
田口 隆久	産業技術総合研究所	副部門長	平成 16 年 7 月～平成 18 年 3 月
難波 啓一	大阪大学	教授	平成 16 年 7 月～
増原 宏	奈良先端科学技術大学院大学	特任教授	平成 16 年 7 月～
美宅 成樹	名古屋大学	教授	平成 16 年 7 月～
吉田多見男	株式会社島津製作所	取締役	平成 16 年 7 月～
竹安 邦夫	京都大学	教授	平成 17 年 4 月～
入江 正浩	立教大学	教授	平成 17 年 6 月～
松田 道行	京都大学	教授	平成 17 年 6 月～
森島 績	立命館大学	客員教授	平成 17 年 6 月～
長野 哲雄	東京大学	教授	平成 16 年 7 月～平成 17 年 3 月

谷藤 学	(独)理化学研究所	チームリーダー	平成 18 年 4 月～
------	-----------	---------	--------------

広い分野から優れた課題を選ぶために、多方面から優れたアドバイザーを選ぶことが最も重要な課題であった。そこでアドバイザーの人選については、最大の努力を払った。人選に当たっての考え方としては、

- (1) 特定の分野に偏ることなく広い範囲の分野から一線級の人材を選んだ。
- (2) アドバイザーとして見識のある人を選んだ。

この 2 点をポイントにさまざまな分野から、総括が熟慮し選んだ。広い範囲を網羅することから、アドバイザーの人数は増えたが、委嘱した人からは快諾が得られ、その結果当初描いていた条件を満たすアドバイザーを選ぶことができた上に、個性豊かなアドバイザーを揃えることができた。その結果、選考の過程は非常に活発に行われ、またそれぞれのアドバイザーから、おもしろい選考ができたとの感想も聞かれ、適切なアドバイザーの選考により、独創的な課題を発掘することができたと言える。

また、アドバイザーの中に、領域のテーマを補う課題としてアドバイザーを辞して自らチームを立ち上げる人も出た。その結果領域はさらにバランスよくチームが存立することとなり、領域を盛り上げる結果となった。

またアドバイザーは課題評価にも参加し、かなり辛辣な意見もあり、厳しいながらも各チームの研究を側面から支援し、領域の運営にも忌憚のないアドバイスを頂いている。

## 8. 研究領域の運営について

新しい方法を開発することにより、何か新しいことがわかることを目標に、14 チームのうち、ひとつぐらい達成できればいい、という運営方針で、総括、領域参事が連携して領域の運営に当たった。研究総括が多忙で自ら動けない分、領域参事が総括のメッセージを伝えることとした。各チームの総括に対する信頼は大きく、総括のメッセージは何よりも影響力が大きく、研究に反映している。

基本的には各チームの研究・運営は研究代表者に委ねられるものであり、研究領域はそれがやりやすいようにアドバイスし、支援してゆくことである。サイトビジット、チームミーティングへの参加を通して、チーム状況を把握し、チームの求めに応じ助言を行った。また、チームの状況や要求を的確に JST 本部に伝えられるよう努力した。各チームには領域の目標を理解してもらいながら、各チームの個性を生かしてゆけるよう領域運営を心がけている。

### (1) 領域の予算面での指導

4 項の採択課題・研究費の重点配分にも記載したように、必要なチームには領域が予算を含め方向づけと支援を行った。計測装置の開発から生物への応用へ強く指導、1 分子計測技術の開発から、結果の解釈基盤の展開を押し広げ、競争の激しい脳イメージング技術開発で研究者のポテンシャルを引き出すよう予算、チーム編成変更を行った。これらの実績は現時点では明らかではないが、成果は上がりつつあるように思われ、今後 CREST 後の研究展開まで含め研究の行方を見守ってゆきたい。

「生命現象」領域の予算は全面的に委託研究を通して行っている。したがって、予算が一旦決まってしまうと、その執行について共同研究者に任せられ、研究代表者の力も及ばないこともある。研究代表者と歩調をあわせながら、チームの研究にとってプラスになるよう指導してゆくことも必要である。各チームとも採択された時点では、多かれ少なかれ、研究費の獲得という大義が果たされた思いがある。研究費のばら撒きに近い雰囲気がある場合もあることは歪めない。立ち上げ後 1、2 年は CREST の趣旨を確認し、研究の目標をしっかりと打ち出してゆく必要もあった。

## (2) 融合チーム

18年度採択課題の中には、2つの融合チームがある。採択選考の過程で、共通の技術課題を掲げた2つの候補チームの長所・短所を補い合うということで、融合チームとして1つの課題へ融合して採択した。量子ドットの応用を強調した課題と、量子ドットそのものの開発を目指した課題がひとつの融合チームとして、また、カーボンナノチューブを使って1分子の熱計測という挑戦的なテーマと、カーボンナノチューブを専門とし1分子生体分子の相互作用の計測を目指した課題が融合チームとして採択された。他のチームとは異なり、チームのまとめには少し神経を使い助言を行っている。実際には研究代表者や研究者の個性、努力に助けられ、順調にひとつのチームとして機能しつつあるように思われる。

## (3) 異分野融合の場として領域

「生命現象」領域の各チームに共通する特色のひとつは、異なった分野の融合という課題を抱えていることである。計測と生物材料・条件、無生物と生物、実験と理論、違った研究分野がぶつかり合っている。研究者個人が異なった全ての技術を習得し、新しい分野を作ってゆくという方法もある。実際そのように機能しているチームもある。しかしそれは大変なことである。そこで専門の違う研究グループが共同研究をする。共同研究では、両者の利益が一致してある程度の成果が出るが、同じチームの中において共通の目標を掲げて研究する以上何か新しいものが生まれないだろうか、育てられないだろうかという点がCREST研究の可能性であり、領域全体で向かい合ってゆくべき課題である。各研究代表者の役割、チームミーティングの意義、新しい共同研究の様式、さまざまな可能性を考えてゆきたい。

実際には、多くのチームにとって異なったグループが共同研究をするということは、むしろチャレンジとして、積極的に立ち向かっているようである。このチャンスを楽しむチームからは成果がでてきているように思える。また参加している若手にも、このような場で学べることや研究できることの意義は大きいように思える。

## (4) チーム間の共同研究

チーム間の共同研究は自然発生的に育っている。それは、そもそも新しい計測技術の開発には異なった分野との共同作業は不可欠であり、また広い範囲のチームが領域を構成した時点で、必然的に育った結果であろう。これは、各チームの意識の高さ、外に向かって新しいものを求めてゆく力の大きさによるものであろう。年一度、全てのチームが一同に会し成果を発表し合う場である領域中間報告会は、そのような交流の場を提供している。各チーム参加研究者など150名以上が参加して開催されている。昨年度からはポスターセッションも企画し、研究者間の直接の交流の機会も設け盛会である。共同研究の成果の最も結実したものはRNAアプタマーの技術と、結晶化技術の共同研究の結果、アプタマー・タンパク質の複合体の結晶化が可能となり、その構造が決定されRNAアプタマーの基本的理解が著しく進んだことである。その他、要素技術としてマイクロ技術の提供、特定の計測のためのプローブの開発などバーチャルラボとしてのチーム間の融合は着実に進んでいる。それ以外にも、要素技術として技術を共通するチームがあり、中には共通の問題で行き詰まっている場合の情報交換の場にもなっている(画像解析技術、基板への分子固定技術、細胞内導入技術など)。

## 9. 研究の経過と所見

### (1) 新しい計測と新しい結果

所期の目標に向かって研究の芽は着実に育っていると思われる。いくつかのチームでは新しい計測を可能とするような技術が確立し、その計測結果が期待される。たとえば、高速 AFM では実際に生物試料を使って計測が順調に動き出した。これまでの 1 分子計測とは質的に違う形や構造の動的計測が可能であり、今後の計測によってこれまでは知られていない結果が得られ、生物分子の動作原理を説明する新しい概念が生まれることも期待される。In-cell NMR では生きた細胞内でタンパク質の 3 次元構造や機能特性が計測され、タンパク質の安定性が細胞内で異なっていることが見いだされた。このような成果をきっかけに、細胞内でのタンパク質の安定性について、さらに深い検証が行われ研究が掘り下げられることが期待される。

#### (2) プローブの開発と新しいイメージングから診断技術への展開

新しいプローブの開発は、今後の研究の可能性を広げる重要な要素である。新しい有機蛍光プローブの開発はイメージングの新しい可能性を開くものであり、さらに診断への応用が広がっている。量子ドットの可能性を個体内でのガン細胞の転移過程のイメージングとして示したのもイメージングの新しい方向性を示した。RNA の物質としてのポテンシャルの大きさは RNA アプタマーの開発で明らかにされつつあり、医療・創薬への成果として研究が広がりつつある。

これまでの常識を打ち破った結晶創成技術の確立は、高精度での構造解析を可能にし、生命機能理解へ大きな可能性を切り開いている。その他すべてのチームから今後の芽が育っており、領域全体として研究が盛り上がっている。

#### (3) 企業との連携

このような成果が新しい診断や医療に応用され、活用される可能性が広がっている。SPR を応用したセンシング装置は製品化に向け大きな進展を遂げており、今後手のひらサイズセンサーの実用化を目指して、社会的な貢献も期待される。その他、各チームでは商品化に向け、チーム内で企業、ベンチャー企業と連携をとれる体制を整えている。また企業にとっても、このような研究の一端に加わることで、基礎研究の場ができ、メリットがある。このように製品化までをプロジェクトの一環に組み入れ、スムーズな流れに沿って基礎研究から応用までを進めているのは生命現象領域のひとつの特色であろう。

以下に各チームごとの概要と進捗状況、今後の方向、所見をまとめた。

#### 平成 16 年度採択チーム (4 課題)

##### 安藤敏夫 タンパク質のナノダイナミクス高速撮影装置の開発

水溶液中にあるタンパク質の形状・構造をナノ解像度で直接可視化するとともに、その動態をリアルタイムで追跡できる革新的な顕微鏡 (高速 AFM) を開発し、タンパク質の機能解明にとって直接的で分かりやすいこのアプローチの有効性を実証する。装置開発については、ほぼ完了し、30-100 ms/frame のイメージング速度を実現し、低侵襲性との両立も試みられた。この方法を使って Myosin V の Actin Filament 上でのプロセッシング運動、シャペロニン GroEL-GroES の ATPase 反応とカップルした結合・解離反応、Bacteriorhodopsin 2 次元結晶のトライマー及び格子構造の光応答などの観察に成功し、タンパク質の機能メカニズムの解明や物理化学的性質の解明に高速 AFM が有力な手段であることを実証した。DNA 関連タンパク質系についても、発現方法や基板の検討を行い、試験的なイメージングを進めている。

今後、低侵襲性の更なる改善を完了させ、これまで取り組んできた試料系のいくつかについて動態イメージングを成功させる。また、複数の ATPase サブユニットから成る複合タン

パク質における ATPase 反応の作動機序を、構造変化とのカップリングを直接観察することによって解明することを目指す。

所見：水溶液中で機能する個々のタンパク質分子の形のダイナミックな変化を高い空間・時間分解能で計測できる高速 AFM システムを構築できた。世界の追従を許さない技術であり、これによりタンパク質のダイナミックな機能の理解へ新しいアプローチを可能にした。今後、この技術がさまざまなタンパク質に応用され、タンパク質のダイナミックな機能について、新しい概念の創出につながる成果が期待される。

平成 16 年度採択チーム

#### **生田幸士 光駆動ナノマシンを用いた新原理バイオ計測ツールの研究**

独自の基本概念で開発を進めてきた「光駆動マイクロ・ナノマシン」技術を基盤とした「細胞生物学研究用のナノマニピュレータ」と、独自のデバイス概念を起点として研究を進めてきた「新原理バイオ化学 IC チップ群」の実現を目指している。前者に関し、すでに実証まで到達している生細胞の個別操作に加え、細胞の力学特性を精密計測する新手法と、フェムトニュートンの微小力キャリブレーション法の開発、さらにリアルタイム力計測システムを構築し、細胞生物学への光駆動ナノマシン応用基盤を築いた。後者、バイオ化学 IC チップは、指の上に乗るサイズの合成用、分析用の汎用化学装置のマイクロ化を目的としている。欧米のラボオンチップやマイクロ T A S と違い、輸液装置や検出装置などすべてをマイクロチップ化し、すでに 30 種近い化学 IC チップを開発してきた。生化学の全工程を微小化する「真のマイクロ化」が進展しつつある。

また、これまで培ってきた基盤技術のさらなる工学的展開を行うと同時に、新規バイオ計測ツールへの応用の比重を増す。生田研究室で新規に発案・開発したバイオ計測ツールを、ユーザである生物、生化学の研究室で試用してもらい、開発にフィードバックするアプローチを各サブテーマで実施している。従来不可能であった細胞生物学における *in vivo* の微細操作とリアルタイム精密力計測・制御を可能にすることにより、単にバイオ分野の研究を加速するだけでなく、細胞・分子レベルで疾病の解明につなげ、医療工学にも貢献できる技術を目指す。

所見：細胞内部のようなサブミクロンの世界で光による超微細操作と光による超微小力計測が可能で光メカトロニクスの世界を拓く。バイオ・医療への応用を目指し、独自の概念を基礎に光駆動ナノマシンの構築、バイオ化学 IC チップの開発、膜構造マイクロ流路の作成を行い、数多くのデバイスを実現し、世界をリードしている。生物学・医学への取り組みも進んでおり、この方法の有用性が示されつつあり、今後医療を含めさまざまな展開が期待される。また実際このチームの技術は他のチームの計測システムにも取り入れられ、領域への貢献も大きい。

平成 16 年度採択チーム

#### **白川昌宏 磁気共鳴法による生体内分子動態の非侵襲計測**

特定分子の挙動の選択的観察のための分子プローブを効率的に導入し、磁気共鳴技法によって、細胞・生体におけるタンパク質の動態を非侵襲的に計測する手法の開発を目的としてさまざまな技術を開発してきた。①細胞内タンパク質の分子間相互作用、立体構造の解析、②細胞内遺伝子発現の分子イメージング、③タンパク質の細胞内局在の解析、④生物個体における物質動態の解明を目指したメタボロミクス、について研究を進めている。とりわけ、「細胞内タンパク質の分子間相互作用、立体構造の解析手法の開発」については、ヒト由来培養細胞に安定同位体標識をしたタンパク質を導入し、*in-cell* NMR を測定する手

法を開発し、これを使ってヒト細胞内に導入したタンパク質の構造の安定性は、試験管内とは違うことを示した。また生きた大腸菌内でタンパク質の立体構造決定に成功した。

今後、in-cell NMR について、更なる方法論的な研究・開発を行うとともに、細胞内のタンパク質の振る舞いについてさらに詳しい解析を行い、細胞内のタンパク質について新しい概念の確立を目指す。また、細胞内タンパク質の運動性や構造的揺らぎの解析や molecular crowding の効果の解析などにも応用していく。MRFM については現在、生体試料の変形を最小限に抑えるために急速冷凍法の作業手順を検証中である。この MRFM を含めさまざまな磁気共鳴技術を駆使した新しい計測技術の開発が進んでいる。

所見：細胞内での NMR 計測技術を確立し、その結果、細胞内のタンパク質の構造とダイナミクスについて、これまでの概念を打破し、新しい概念を示唆するデータが世界で初めて得られ、2 報同時に nature 誌に掲載された。分離・精製されたタンパク質を対象としたタンパク質構造学が大きく展開するブレークスルーになる可能性もある。また、他の NMR 技術の開発も進んで、磁気共鳴技法の可能性を大きく広げつつあり、広く生物学への応用が期待される。

平成 16 年度採択チーム

#### **高橋 聡 蛋白質の折り畳み運動解明を目指した一分子観測法の確立**

個々のタンパク質分子が折り畳まれる運動を一分子レベルで連続的に観察する実験手法と、この実験により得られた時系列データを解析する理論の開発を目指してきた。また、タンパク質の水和環境を含めてタンパク質が折り畳む特性を理解することを目標にしてきた。これらの目的のために、基板に固定していないタンパク質分子を長時間観察できる計測システムをキャピラリーを使って構築できた。さらに、数種類のタンパク質の一分子観察を行い、変性状態に共通して遅い運動が存在することを明らかにした。この計測のために、安定性の異なるシトクロム *c* 系列を特定し、個別のシトクロム *c* の構造、物性、水和状態などを明らかにした。特に、特異な折り畳み特性を持つ AA シトクロム *c* の構造を解明した。また、時系列データから分子の状態空間の動的構造を推定する解析理論を開発し、手法を多くの実験データに適応する研究を進めている。

これまでの努力により観測装置の開発、データ解析理論の基礎的な枠組みは完成した。今後、多くの結果を得ることで、生物学的、物理化学的にインパクトのある成果を挙げることに全力を尽す。特に、一分子時系列データや水和データを基にすることで、タンパク質の多次元自由エネルギー地形や遷移ネットワーク・パスウェイの特徴を明らかにする作業を推進し、得られたデータと個別のタンパク質の特性を結びつける考察を行う。

所見：1 分子レベルで水溶液中の非固定タンパク質の時系列データを計測する技術を開発し、タンパク質の自由エネルギー地形を推定するための実験・解析手法を開発した。ここで開発した非固定の単一分子を長時間観察できる手法は、これまで提案された手法に比べ多くの利点を持っており、世界をリードしている。この計測により、これまで不可能であったタンパク質の折り畳みについて新しいダイナミクスの情報が得られ、また今後この方法がさまざまなシステムに応用され、広く生体分子のダイナミクスの理解に貢献することが期待される。

平成 17 年度採択課題（5 課題）

#### **青山 茂 ハイブリッド局在 SPR を用いた生体分子の環境応答性計測**

生命現象を司る生体分子間相互作用をマイクロ領域で非標識、リアルタイムで検出する手法として表面プラズモン共鳴 (SPR; Surface Plasmon Resonance) センサを応用し、高感度

センシング技術を構築し製品化を目指す。このため、ナノ光学設計技術を用いて、センシング領域と金属表面ナノ構造との相関関係を解明し、光の回折限界以下である 50 nm 以下のセンシング領域を実現する構造の特定を行った。また微細加工技術を用いて基板を作製し、環境変動要因によるバックグラウンドノイズに対して S/N10 倍の高感度化を確認した。さらに、本基板用のセンシングシステムとしてデスクトップサイズのプロトモデルを構築し、従来 SPR 装置に対して 1/10 の小型化を実現した。その結果、肝臓癌の腫瘍マーカーである AFP ( $\alpha$ -fetoprotein) を用いて実証を行い、数十 ng/ml 程度の精度で検出できることを確認した。

しかし、例えば近年注目を集めている心疾患マーカー BNP などのカットオフ値は数十 pg/ml であり、さらに低濃度物質の高感度検出が求められる場合も多い。そこで、さらに高感度検出を目指して、センサ構造の最適化、固定化層の改良、システムの低ノイズ化等に取り組む予定である。また、構築した技術を広く普及させ、生命現象解明に大きく貢献していくために、センサ基板を高精度、安定的に供給する技術が不可欠である。そこでナノ構造、マイクロ流路等も含めたセンサチップの量産可能な作製プロセスの検討を実施する。このように生体分子間相互作用の検出が簡便化することで、様々な分野へ応用の可能性が開かれる。

所見：センサ表面の金属にナノ構造を構築することで、センシング領域を光の回折限界以下に閉じこめ、従来の表面プラズモン共鳴の課題であったノイズの低減化に成功し、センサの高性能化・小型化が達成されつつある。今後手のひらサイズの生体分子間相互作用装置の実用化・商品化を目指し、これにより生物学・医療診断への貢献、社会への貢献が見込まれる。将来的には疾患と生体分子との相関関係、発症メカニズムの研究など生命現象の解明に大きく貢献できる可能性を有するものである。

平成 17 年度採択課題

#### **長野哲雄 生体分子の動的可視化プローブの開発と応用**

生体分子（生理活性種・酵素・受容体・タンパク質など）の活性あるいは濃度を時々刻々の変化に対応して、ダイナミックに捉える可視化プローブを創製することを目的としている。これにより、生命現象の作用機構の本質に迫る解析が可能になり、分子イメージングに基づく新たな研究領域が拓ける。本研究が既存の研究と異なるのは（1）蛍光発光の原理に基づいて、論理的に可視化蛍光プローブを創製する事 （2）創製したプローブの有用性を示すため、学術論文での発表だけにとどまらず、実用化・市販化の段階まで行う事である。この方法で、今までに得られている研究結果を背景に、更に高次の生命現象を捉える蛍光プローブの創製を目指す。これまでに「d-PeT 機構」及び「閉環・開環機構」の 2 つの新たな蛍光 off/on 制御機構を明らかにするとともに、3 つの試薬の市販化、生体分子を可視化検出できる 15 種類の蛍光プローブの開発に成功している。CREST 研究の進捗状況として、当初予想した以上に大きく展開しており、今後も（1）蛍光発光原理の解明、（2）プローブの合成、（3）生細胞・生体系でのプローブの評価、（4）プローブの実用化・市販化の 4 段階で研究を進めてゆく。

今後引き続き「新たな蛍光 off/on 制御機構原理の解明」および「その原理に基づいたプローブの開発」を行う。その際の研究進行における重点としては、真に生命科学研究において意義を有する「観測対象分子」を設定することにおいている。また同時に、非常に難しい研究課題ではあるが、「新たな蛍光団母核の開発」および「個体における可視化(主にがん検出プローブの開発)」にも意欲的に取り組んでいく。特に「新たな蛍光 off/on 制御機構原理の解明」とこれら 2 つの研究課題の達成は、「生体分子の動的可視化プローブ開発」の研究分野に大きなインパクトを与えることができると考えられる。

所見：蛍光の理論的基盤に立ち、新しい蛍光プローブを作成し、生体分子の機能の動態イメージングに新たな可能性を切り開いている。有機小分子を使った機能性蛍光プローブの分野を自ら切り開くものであり、世界をリードしている。また臨床診断薬への可能性も拓かれ、診断用プローブの開発も検討されている。基礎研究にとどまることなく、市販化まで一体となった研究体制がしかれ、多くのプローブが製品化されている。

平成17年度採択課題

#### **中村 義一 多目的 RNA ナノセンサー・モジュレーターの開発**

標的分子に結合する特異的な RNA (アプタマー) は、単に一次配列や配列相補性に依存して働くだけでなく、個性ある立体構造を形成して機能する、高分子マテリアルとしてのポテンシャルをもつことが明らかとなった。このように潜在的に優れた特性をもつ RNA マテリアルを利用した医用あるいは計測分析の基盤を確立することを目的としている。標的分子を選び、試験管内人工進化 (SELEX) 法とよぶランダムな配列の RNA プールの中から標的分子に結合する特異的な RNA (アプタマー) を釣り上げる技術を使い、それらに対する RNA アプタマーを創成し利用するというアプローチをとった。モノクローナル抗体の取得が困難な細胞膜表面に分布する受容体や、リガンドを標的に RNA アプタマーを作製し、特性解析、センサとする疾患の診断システムを確立し、得られた RNA アプタマーの薬理効果を確認することで、RNA 治療薬の開発を検討する。

酸性線維芽細胞成長因子 aFGF に対するアプタマーは、ヘパリンがなくともヘパリンと同じ増殖作用をすることから、RNA によるヘパリンの機能的擬態が示唆され、世界初の RNA agonist 分子となりうることを示された。今後、構造レベルでの研究を進め、分子擬態を機能・構造両面から探る。ミッドカインアプタマーでは多発性硬化症に対する薬剤として薬効が示され、**その他の炎症系サイトカインに対するアプタマーを含めて、医薬開発研究が進んでいる。**多目的のために作られた抗体 IgG に対する RNA センサーを使って、複合体の立体構造を X 線結晶構造解析によって 1.9 Å の分解能で決定することができた。アプタマーの特異性、高親和性について理解の糸口がつかめた。また、細胞内 RNA 可視化システムの開発を目指し、Cy 3 に対するアプタマー、RNA 高次構造を識別するアプタマー、融合タンパク質に対する超特異的 RNA センサーの開発も行っている。

所見：RNA アプタマーは特定のタンパク質に対して、抗体をしのぐ特異性と結合力を持ちうることを示され、RNA のこの「造形力」は、RNA をマテリアルとする新たな応用が広がり、さまざまなアプタマーが創出され興味ある成果が得られている。立体構造解明を基礎にアプタマーの動作原理の解明が進み、さらに、がんなど広範な疾病に対する予防・治療薬・診断システムの開発が期待され、RNA を中心にした医薬が次世代医療の要として発展する可能性も期待される。

平成17年度採択課題

#### **森勇介 タンパク質完全結晶創成**

これまで開発してきた新しいタンパク質結晶化技術であるフェムト秒レーザー照射による結晶核発生技術、及び溶液攪拌による高品質化技術に関して、高度化を行うとともに、膜タンパク質など難結晶化タンパク質の高品質大型結晶育成技術の確立と汎用化を目的としている。レーザー核発生技術については、集光点からのキャビテーション発生が結晶核発生の促進には重要であることを明らかにした。溶液攪拌技術に関しては、様々な種類のタンパク質において、高い確率で大型化・高品質化を実現できることが分かった。レーザー核発生技術に関しては、タンパク質だけでなく、有機低分子化合物においても結晶核発

生を促進できるという結果が得られた。

今後もフェムト秒レーザー照射による核結晶発生技術、および、溶液攪拌による高品質化技術のメカニズムの解明と高度化を行うとともに、難結晶化タンパク質の高品質大型結晶育成技術の確立と汎用を目的として研究を進める。これらの研究を通して、新しい結晶化手法の高度化を実現し、膜タンパク質をはじめ、様々な難結晶化タンパク質において高分解能の完全結晶育成技術創成を目指す。

所見：レーザー照射による結晶核形成技術、溶液攪拌による結晶成長技術を開発、これまでの常識を打ち破る方向で研究は進み、難結晶化タンパク質の結晶化に取り組んでいる。そのメカニズムが次第に明らかにされ、たくさんの高品質な結晶の例が報告され構造決定に至っており、今後の更なる展開が期待されている。また、この技術の汎用化、実用化にも取り組み、今後創薬など医療への貢献も期待が持たれる。

平成17年度採択課題

#### **吉岡芳親 次世代無侵襲・定量的脳機能イメージング法の開発**

脳波、心電図、呼吸等の多様な生理学的指標と磁気共鳴スペクトロスコピー(MRS)による脳内温度計測、機能的磁気共鳴画像(fMRI)、近赤外分光法(NIRS)の同時計測法を確立するとともに新規解析法を導入し、ヒト脳の覚醒安静時・活動時や睡眠時の脳活動を定量的に解析する次世代無侵襲・定量的脳機能イメージング法の開発を行うことを目的としている。基礎理論構築から技術開発まで充実して行うため、ヒトを対象とした(1)「高精度脳温計測技術開発」と(2)「fMRI/NIRSと生理学的指標の同時計測技術の開発(マルチモーダルfMRI)による脳活動計測の定量化」、主に動物や*in vitro*の系における(3)「神経-脳血流・脳温変化の基礎理論構築」と(4)「高度生体機能イメージング技術開発」の4つの中心課題を設け研究を遂行してきた。

その結果、(1)生理的負荷条件下での脳内温度変化を明瞭に示すことができるようになった。さらに臨床応用への可能性を追求する。(2)マルチモーダルfMRIでは、fMRIと脳波及びその他の神経生理学的指標の同時計測・解析システムを構築、解析手法を確立し、神経回路網から脳の状態を評価できる可能性を示した。(3)神経活動に伴う脳局所の温度変化をミリケルビンのレベルで計測が可能なシステムを構築し、電気刺激や薬物刺激による脳内温度変化を明瞭に検出できるようになり、また血流の寄与を除外した計測のため、脳切片を用いて、刺激に伴う電気信号と温度分布の変化を同時計測できるシステムの構築を始めた。(4)超高磁場(11.7テスラ)磁気共鳴装置により、サブミリレベルでの温度計測や、神経可塑性や記憶に関わる情報も得られるようになった。

所見：脳温度計測を中心にさまざまな脳機能イメージング技術の開発が進んでいる。また、さまざまな同時計測技術により、新しい情報が得られている。計測技術の開発とともに、解析技術の開発、解釈の検討などさまざまな問題が横たわっている。医療や社会貢献への期待も大きく、また競争も激しい分野であり、今後の展開が注視される。

平成18年度採択課題(5課題)

#### **佐々木裕次 高精度1分子内動画計測から見える生体分子構造認識プロセス**

機能性生体高分子が機能発現する際に起こる分子内部の構造変化情報を高速で高精度に1分子検出するための実験室レベルでの究極的1分子計測実現することを目標としている。位置決定精度を高精度にするために、X線や電子線という超短波長プローブを用いて、それらのプローブが関与する高感度な物理現象を利用し1分子計測を実現する。X線1分子追跡法をマイクロ秒レベルまで高速化し、ラベル結晶を直径10nm程度に微小化する。

また利用している物理現象を電子線プローブ系に代用することで、装置規模を大型放射光施設利用からラボサイズまでに落とし、装置のコンパクト化を実現しこの計測法の普及に努める。電子線による試料損傷は、ナノ結晶標識及び電子線ナノプローブの適応で生体高分子への直接的照射回避をし、加えて極低照射条件下計測という特徴を生かし克服する。

これまでマイクロ秒1分子X線追跡法の要素技術の確立をしてきたので、今後本格的な時分割データを取得する。また、回折電子1分子追跡法に関する装置立ち上げ及びウエットセル回りの構築及び評価を現在まで着実に進めてきた。分子の方位情報を取得するための標識結晶体に関しても、金ナノ結晶だけでなく、他の標識体の可能性が出てきたのは非常に重要な進展である。一方、サンプル系では、認識ペプチドを結合したときのMHC本体のゆらぎ運動に関する興味深い結果が蓄積されており、アダプター分子TCRも含めたT細胞系の分子認識機構の解明を目指している。また大型膜たんぱく質系の予備的計測も進めている。

所見：タンパク質ダイナミクスの高速度・高精度な計測へユニークなアプローチであり、計測手法が確立すれば、大いに成果が期待される。X線を使ったシステムでは、免疫分子認識システムを対象に結果が蓄積されており、本格的な時分割データと共に分子内構造変化と機能の解析が期待される。また電子線を使ったシステムでは、計測システムの確立と最終的にはより汎用的な計測システムが期待される。

平成18年度採択課題

#### 永山 國昭 ns-nm分解能の光子・電子ハイブリッド顕微鏡の開発

電子顕微鏡の生物への応用で最大の障害とされている電子線損傷回避のために、光電子を用いたパルス電子顕微鏡、また、光学レンズと電子レンズのハイブリッド化による、電子・光子ハイブリッド顕微鏡という基本コンセプトのもとに電子顕微鏡技術の開発を行う。ハイブリッド化によって動的観察と微細構造を同じ試料から得ることが可能になる。開発を目指す顕微鏡は、i) レーザー光電子銃 ii) 常温常圧雰囲気試料室 iii) 光・電子ハイブリッド光学系 iv) 位相差顕微鏡の4つの要素技術から成り立っている。

(1) 光電子銃の先端の微小領域にセシウムアンチモン薄膜を形成する装置の開発・製作を行った。(2) 光・電子ハイブリッド顕微鏡。光学顕微鏡性能を重視するよう光学系のデザインを考案し、通常の光学顕微鏡で観察するのと同等の光学顕微鏡像と同時に、電顕像を得ることができた。(3) 雰囲気セル作成 SiN窓を持ったガス導入セル付き試料ホルダーを完成させる。また、位相差法による雰囲気セル中生物試料観察を行う。(4) ピエゾ制御過熱位相板ホルダーの開発を行い、位相差法としての高度化を行った。これを電顕に組み込み、ウイルスについて位相差トモグラフィを行い、コントラストのよい像を得ることができた。

所見：生物試料を対象とした汎用的な電子顕微鏡作りを目指して研究が進められており、要素技術の開発が進んでいる。光・電子ハイブリッド顕微鏡では生物試料を使って計測が進められており、光学顕微鏡による動的イメージングと、電顕による詳細な構造情報が同じ画面から得られることになる。また、改良した位相差顕微鏡により、生物試料を使ってコントラストのよい画像が得られている。

平成18年度採択課題

### 中山喜萬 カarbonナノチューブを用いた単一生体分子ダイナミクスの計測

カーボンナノチューブ (CNT) の優れた電気機械的性質を利用して変位と熱流の検知デバイスを開発し、数ミリ秒の時間分解能でzeptogram精度の質量とpiconewton精度の2次元力、 $10^{-19}$  ジュール精度の熱量を計測する技術を構築することを目的としている。これまで、CNT 先端への部位特異的タンパク質付加技術を確立した。二層 CNT を用いて樹脂化 CNT シートを作製し、この先端に2-3 分子のタンパク質の結合を確認した。また、より直径の細かい CNT を用いたシート作製を目的とし、アルコール CVD により垂直配向の単層 CNT の合成を試みている。プラットホームの開発に関して、プロトタイプの作製に取り組んでいる。今後基材に取り付けた CNT アームの先端に部位特異的にタンパク質を結合させる技術を確立する。液中での CNT アームの振動を検出するシステムを構築し、これを使って生体分子間の相互作用を計測する技術を確立する。また、生体分子の反応における熱量変化を CNT を用いて計測する新しいシステム構築のため、要素技術として CNT の水溶液中、光学顕微鏡下での可視化、CNT の操作技術、プローブへの固定、微量な熱変化を捉えることのできるプローブ技術について研究を行っている。細胞や生体分子から発せられる僅かな熱量を測定するために、半導体微細加工技術を用いて、微小熱量計測のためのバイメタル型振動子を先端に持つカンチレバーセンサプローブを作製した。また、振動検出のために「自励発振・振動検出測定系」を構築した。これを使って単一細胞や単一分子からの熱量を計測する。

所見：CNT の特性を生かした生命現象計測システムとして、1 分子レベルでの質量計測、熱計測の開発を目指し、技術的に非常に高いハードルを設定し挑戦している。非生物系の材料からスタートし生物環境に馴染ませながら、着実に要素技術が構築されつつある。今後、生物系への応用の意義を意識しながら、開発が進んでゆくものと思われ、成果が期待される。個々の技術力は高いものがあり、また要素技術の応用性も高く、さまざまな展開も見込まれる。

平成18年度採択課題

### 樋口秀男 In vivo ナノイメージング技術の開発と生体運動機構の解明

身体の仕組みを最終的には分子レベルで理解することを目指しマウス *in vivo* での生体運動に関連する分子の挙動をナノイメージングする装置を開発し、*in vivo* における生体運動の機構を解明する。本研究の鍵となる技術は、蛍光粒子の細胞内導入と様々な器官（骨格筋、心筋、平滑筋、がん腫瘍）のイメージング技術であり、その可能性を探求している。その結果、新たに強度の安定な量子マルチドットの合成に成功、量子ドットを細胞内やマウスの中に入れる方法が完成し、がん細胞の動態の詳細をマウスの中で観察できた。また、心筋や平滑筋に量子ドットを導入して分子ダイナミクスを観察できた。マウス *in vivo* での分子挙動を観察するための材料、導入方法の開発、実際の観測が進みつつある。

今後は、量子ドットを1分子計測に使えるように進化させること、3D 装置で *in vivo* での単一分子の挙動を観察すること、さまざまな材料を改良して、新規量子ドットや新規装置が利用できる状態まで発展させ、生体運動機構の解明を目指して研究を進める。

所見：安定で明るい量子ドットの開発と、生物個体でのイメージング技術の開発は順調に進展している。マウスを使ったがん細胞の動態観察は今後生物個体を使ったイメージングの確立に向けよいスタートを切ったと言える。さまざまな生物器官を扱う手法を手にしており、これらを組み合わせることによって、今後の展開が期待される。また、医療診断などへの貢献も期待される。

平成18年度採択課題

### 宮澤淳夫 細胞内標識による生物分子トモグラフィー

細胞内で相互作用し分子複合体を形成する生体分子を観察対象とした電子線トモグラフィーの開発を行う。そのために、細胞内に存在するタンパク質分子の同定、生きた状態に近いクライオ観察および生体分子に特化した画像情報解析を同時に行える環境を整える。第1に電子顕微鏡で観察可能な遺伝的にコードされた細胞内分子標識法の開発を行い、さらに生物試料の電子線トモグラフィー計測を行う電子顕微鏡を実現し、専用のソフトウェアを開発している。

電子顕微鏡で検出可能な標識法として、金属と結合するタンパク質の結合モチーフやアミノ酸残基を標的タンパク質に遺伝的に組み込み融合タンパク質として発現し、細胞内の金属を使って金属クラスターを形成させ分子標識するという戦略を用いた。ホモ14量体を形成するGroELや、ポストシナプスに集積するPSD-95に、金属結合タンパク質であるメタロチオネインを融合させたコンストラクトを用いて、細胞内で形成された金属クラスターの電子顕微鏡観察を行い、その結果、世界初の電子顕微鏡用の遺伝的コード化標識として有用であることを示した。今後他の生物試料に応用すると共に、標識タグの金属結合効率向上を検討する。また、電子線トモグラフィー観測では、培養細胞や、組織切片における生体分子のクライオ電子線トモグラフィーの実現、および高分解能撮影条件の最適化を検討し、再現性よく非晶質切片を得ることに成功した。一方、クライオ電子線トモグラフィーに必要なモジュールの開発も進み、3次元再構成に関しては分子レベルのトモグラフィーが可能なパッケージを作製した。

所見：電子顕微鏡観察のために遺伝子を使った標識化の技術の開発に成功し、その有用性が示されている。さらに実用化に向け研究が進められている。また、クライオ電子線トモグラフィーの実施を行い、従来の方法より少ない損傷で微細構造の観察が可能となっている。新規の画像処理システムを含め顕微鏡システムが確立し細胞中の微細構造が観察されることが期待される。

## 10. 総合所見

### (1) 成果の見通し

16年度、17年度採択チームが課題中間評価を受け、18年度採択チームも立ち上げの時期を経過し研究に勢いが出てき、領域全体も活気が出てきた。各専門分野でそれぞれ高い評価を受ける成果も、16年度採択チーム、17年度採択チームを中心に始めている。また18年度採択チームも軌道に乗ってきており、先行チームに続いている。今後さらに飛躍を目指すことによって、特定の分野内で評価されるのみならず、分野を超えて評価されるような成果が上がるよう、領域全体で研究を盛り上げてゆきたい。さらに領域外の分野、社会に貢献できるような成果につながれば、と期待している。そのような候補として複数の可能性が芽生えていることは心強い。

### (2) 研究領域のマネジメント

領域アドバイザーの見識と意欲的な貢献でユニークな領域のチーム構成ができた。各チームとも意識は高い。この状況を今後各チームが生かせるよう環境を整え、モチベーションを高めてゆければよい。チーム内でのグループ間の融合、バーチャルラボとしての領域内でのチーム間の連携が鍵となってくる。そのための領域マネジメントの重要性は増している。領域の周囲の研究状況、進捗状況を広く見極め、医療や社会の要請を見極めながら、

次の目標を定めてゆくことも必要であろう。

### (3) 本領域設定の意義

ポストゲノム時代の新しい技術を求める気運はますます高まっている。新しい医療技術、診断技術、予防医療への具体的支援技術の必要性に応える道筋が、この領域から見えてきている。このゴールのために、各チームの研究のみならず、チーム間での連携が必要となってくることであろう。本領域を設定したことの意義に対する解答への道筋は、おぼろげながら見えてきている。

### (4) 今後への期待や展望

このように各チームの研究を通して領域、しいては生命を対象とした計測技術は、素晴らしい展開を見せているように思える。それだけに、これらの研究がこの領域の期間で終わってしまうことのないようお願いしたい。このような研究は決して5年くらいのスパンで収束するものではなく、もっと長い期間をかけて育つものである。ここに参加した研究者がこのCREST研究で得た、研究へのモチベーションを失うことなく維持できるよう、また、この分野がさらに活発に世界の科学・技術の主導権を持てるような体制を作り出してゆけることを願っている。