

**(独)科学技術振興機構  
戦略的創造研究推進事業  
個人型(さがけ)**

**研究領域事後評価用資料**

**「生命現象と計測分析」  
(2005-2010)**

**研究総括 森島 績**

**2011.3.10**



## 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盤技術の創出

### 1-2 経緯

文部科学省は平成16年度に「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盤技術の創出」という戦略目標を設定した。本戦略目標は広範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と述べられている。

科学技術振興機構（以下JST）はこの目標達成のために、平成16年度にCRESTに「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」研究領域と「物質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、“さきがけ”に「構造機能と計測分析」研究領域の3研究領域を発足させた。平成17年度に“さきがけ”に「生命現象と計測分析」研究領域（以下本研究領域）を発足させた。

### 1-3 具体的な達成目標

複雑多岐にわたる生命現象に関わる事象について、全く新しい発想に基づく計測分析ならびに探索技術の開発、すなわち独創的な物理学的・化学的・生物学的手法の探索を通して新規な生命現象の（一断面）発見とより深い理解、など生命科学における創造的な研究活動を支える新たな計測分析ならびに探索手法や臨床応用に繋がる診断法の実現に向けた基盤技術の確立を目指す。

具体的には、たとえば従来の構造生物学的手法（X線結晶構造解析やNMRなどを用いた生体分子の構造科学）を超えて、生命現象における分子の動態を捉える計測分析や探索手法、すなわち、細胞内でのタンパク質の動態挙動の可視化計測、自発蛍光の強い細胞内での特定のタンパク質の新たな可視化プローブの開発、細胞内構成分子を再構成する技術、リズムを刻む生命現象のタンパク質構造レベルでの因子解明のための計測手法、細胞間コミュニケーションを測る技術、細胞内環境と同一レベルでの一分子リアルタイム計測分析、など生命現象のダイナミックな一断面を計測分析する機器に繋がる基盤技術を確立することなどが挙げられる。従来の生体系の形態計測から機能計測へとパラダイムシフトを目指している。さらには器官・個体などシステムレベルでの細胞動態計測や薬物動態解析技術の確立をも目標とする。

## 2. 研究領域

「生命現象と計測分析」（平成17年度発足）

### <研究領域の概要>

本研究領域は、生命現象の解明のために必要な新たな原理や手法に基づく計測・分析の技術に関して個人の独創的な発想に基づく革新技术の芽の創出を目指す研究を対象とする。

具体的には、細胞内の種々の化学過程の計測・分析や細胞から個体、生態系などのミクロからマクロに至る多様なスケールでの生命現象を解明するための新規な計測・分析技術等を対象とする。生命系科学技術における斬新な成果の発掘を目指した新たな方法論の創出や技術展開の契機となることが期待される研究を対象とする。また生命現象に関連の深い環境の計測分析も含む。

### 3. 研究総括

森島 績 (立命館大学総合理工学院生命科学部 客員教授／  
京都大学 名誉教授)

#### 4. 採択課題・研究費

平成 17～19 年度採択課題 32 件の研究者の所属・役職、研究課題、研究費を下表に示す。

(百万円)

| 採択年<br>度       | 研究者    | 所属・役職<br>上段：研究終了時<br>下段：応募時                                          | 研究課題                                            | 研究費<br>※ |
|----------------|--------|----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|----------|
| 平成<br>17年<br>度 | 秋山 修志  | 名古屋大学大学院理学研究科 講師<br>理化学研究所播磨研究所 基礎科学特別研究員                            | 時間と共に離合集散を繰り返す分子機械の<br>X線小角散乱・動的構造解析            | 44       |
|                | 石本 哲也  | 富山大学大学院医学薬学研究部 助教<br>富山医科医薬科大学大学院医学系研究科 助手                           | 記憶形成の脳内イメージング                                   | 36       |
|                | 上杉 志成  | 京都大学 物質－細胞統合システム拠点／化学研究所<br>教授<br>京都大学化学研究所 教授                       | 生命現象分析のための小分子転写因子創成                             | 46       |
|                | 小椋 俊彦  | (独)産業技術総合研究所脳神経情報研究部門<br>主任研究員<br>同上 研究員                             | 蛋白質電顕画像を用いた自動 <i>in silico</i> 擬似<br>結晶構造解析法の開発 | 43       |
|                | 金子 智行  | 東京医科歯科大学生体材料工学研究所 准教授<br>東京大学大学院総合文化研究科 助手                           | オンチップ多電極刺激計測系による細胞ネッ<br>トワークの構成的理解              | 40       |
|                | 喜多村 和郎 | 東京大学大学院医学系研究科 助教<br>University College London Senior Research Fellow | 神経活動の <i>in vivo</i> 高速イメージングと光操<br>作           | 50       |
|                | 末田 慎二  | 九州工業大学大学院情報工学研究院 准教授<br>同上 情報工学部 助手                                  | 2段階ビオチン化反応を利用したタンパク質<br>解析                      | 36       |

|                 |        |                                                                                                                     |                                             |     |
|-----------------|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----|
|                 | 楯 真一   | 広島大学大学院理学研究科 教授<br>生物分子工学研究所機能制御研究所 部長                                                                              | 超高分子量蛋白質の分子形態変化を観測する<br>NMR 技術              | 3 6 |
|                 | 谷 正彦   | 福井大学遠赤外領域開発研究センター 教授<br>大阪大学レーザーエネルギー学研究センター<br>助教授                                                                 | 生体分子計測用 THz 帯 CARS 分光イメージ<br>ング装置の開発        | 4 1 |
|                 | 寺田 純雄  | 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 教授<br>東京大学大学院医学系研究科 講師                                                                          | 細胞内生体分子間ネットワークのリアルタイム<br>検出法の開発と細胞生物学的応用の検討 | 4 4 |
|                 | 中西 淳   | (独)物質・材料研究機構国際ナノアーキテクニクス<br>研究拠点 独立研究者<br>早稲田大学先端科学・健康医療融合研究機構 助手                                                   | 時空間を制限した細胞内シグナルの発生とその<br>計測                 | 4 3 |
|                 | 松崎 政紀  | 東京大学大学院医学系研究科付属疾患生命工学セン<br>ター 准教授<br>自然科学研究機構生理学研究所 助手                                                              | 広狭域 2 重 2 光子励起顕微鏡による神経回路<br>網の計測            | 4 1 |
| 平成<br>18 年<br>度 | 海野 雅司  | 佐賀大学理工学部 機能物質化学科 准教授<br>同上 助教授                                                                                      | ラマン円偏光二色性分光による生体分子の<br>動的構造解析               | 4 8 |
|                 | 王子田 彰夫 | 京都大学大学院工学研究科 講師<br>同上 助手                                                                                            | プローブラベリングによるタンパク質間相互<br>作用解析                | 4 7 |
|                 | 岡野 俊行  | 早稲田大学理工学術院先進理工学研究科 准教授<br>同上 助教授                                                                                    | 光受容タンパク質を利用した新しい遺伝子<br>機能解析法の開発             | 4 3 |
|                 | 川上 勝   | 北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエン<br>ス研究科 講師<br>Postdoctoral fellow, Institute of Molecular<br>Biophysics, University of Leeds | 熱揺らぎを利用した粘弾性測定による 1 分子<br>内部運動の解析           | 4 4 |

|                 |        |                                                                     |                                    |     |
|-----------------|--------|---------------------------------------------------------------------|------------------------------------|-----|
|                 | 田川 陽一  | 東京工業大学フロンティア創造共同研究センター<br>生命系 准教授<br>東京工業大学大学院生命理工学研究科 助教授          | E S細胞由来肝組織装置による薬物動態計測システム          | 4 3 |
|                 | 谷 知己   | 北海道大学電子科学研究所 准教授<br>同上 助教授                                          | タンパク質 1 分子モーションキャプチャー技術の開発         | 4 2 |
|                 | 森田 将史  | 大阪大学免疫学フロンティア研究センター<br>特任助教<br>滋賀医科大学 MR 医学総合研究センター<br>特任助手         | MR I ・ 蛍光同時計測による生体内分子・細胞イメージング法の開発 | 4 0 |
|                 | 横田 浩章  | 京都大学物質－細胞統合システム拠点 講師<br>(財) 東京都医学研究機構 東京臨床医学総合研究所<br>主任研究員          | DNA／タンパク質間相互作用の高精度<br>1 分子多次元解析    | 4 0 |
|                 | 渡邊 恵理子 | (独) 物質・材料研究機構国際ナノアーキテクトニクス研究拠点 独立研究者<br>日本女子大学理学研究科 学術研究員           | 細胞情報解析のための超高精度・高速位相計測システム          | 4 2 |
|                 | 渡邊 朋信  | 大阪大学免疫学フロンティア研究センター<br>特任助教<br>東北大学 先進医工学研究機構 助手                    | 生細胞内における蛍光蛋白質による力発生の<br>3 次元可視化    | 4 0 |
| 平成<br>19 年<br>度 | 池滝 慶記  | オリンパス (株) 未来創造研究所主任研究員<br>同上 基礎技術部 主任研究員                            | 1 分子超解像空間分析法の開発                    | 4 3 |
|                 | 上村 想太郎 | (独) 理化学研究所横浜研究所オミックス基盤領域<br>L S A システム構築グループ ゲノム解析技術展開ユニット ユニットリーダー | 1 分子同時計測技術によるタンパク質翻訳操作             | 4 0 |

|       |  |                                      |                                           |    |
|-------|--|--------------------------------------|-------------------------------------------|----|
|       |  | 東京大学大学院薬学系研究科 助教                     |                                           |    |
| 荻 博次  |  | 大阪大学大学院基礎工学研究科 准教授<br>同上             | 無線・無電極振動子たんぱく質マイクロアレイの創製                  | 44 |
| 小澤 岳昌 |  | 東京大学大学院理学系研究科 教授<br>同上               | 不透明な生体内における細胞内小分子の可視化と光制御法の開発             | 40 |
| 加納 英明 |  | 東京大学大学院理学系研究科 准教授<br>同上              | コヒーレント・ラマン内視分光鏡による生体組織の <i>in vivo</i> 計測 | 40 |
| 加納 ふみ |  | 東京大学大学院総合文化研究科 助教<br>同上              | セミインタクト細胞を用いた蛋白質の一生の可視化解析                 | 40 |
| 西山 雅祥 |  | 京都大学大学院理学研究科 助教<br>同上                | 高圧力による分子間相互作用変調イメージング                     | 46 |
| 福間 剛士 |  | 金沢大学フロンティアサイエンス機構 特任准教授<br>同上        | ビデオフレーム液中原子分解能AFMの開発                      | 46 |
| 八代 晴彦 |  | (独) 科学技術振興機構 さきがけ専任研究者<br>大阪大学 特別研究員 | 多周波電子核2重共鳴法による酸素発生機構の解明                   | 44 |
| 若杉 桂輔 |  | 東京大学大学院総合文化研究科 准教授<br>同上             | 蛋白質工学的手法による細胞内環境の計測                       | 47 |
|       |  |                                      |                                           |    |

※ 各研究課題とも3年間の見込みの

## 5. 研究領域のねらい

一言で言えばタンパク質などの生体分子の精密構造解析（構造生物学）の次に来るべき「複雑な動的平衡」にある生命現象の計測分析ならびに探索法の新規創出である。生命現象といっても超複雑システム系であり、分子レベル、細胞レベル、細胞組織レベル、器官や個体でのシステムレベル、さらには生態系レベルなどの階層構造における事象の中で生命科学の本質に関わる一側面を切り取り、これを計測分析や探索する新規かつ強力な手法を確立する基盤技術を創出することが本領域のねらいである。

いままで不可能であった測定分析を可能にする斬新な手法、既存の手法の改良であっても新規な発想で感度や測定解析速度を飛躍的に向上させ、また、測定対象を生命現象の本質的な課題でありながら未解決の問題を解明する研究も本領域の研究対象である。さらには計測技術の創出に直接関わらなくても生命現象を人工的に制御する化学物質の分子設計（ケミカルバイオロジー）や既存のタンパク質のダイナミックな生命現象に関わる新規機能の探索なども本研究領域のねらいに含まれる。

本領域研究は様々な専門分野を異にする若手の個人研究者（研究グループに大小はある）が行うものであり、飛躍的発展には領域内あるいは生命科学に関する他領域の研究者間の共同研究が有効であり、これもねらいの一つである。

## 6. 研究課題の選考について

### 6-1 選考の基準

選考に当たっては、募集要項に示した選考基準を基本としたが、以下の点に特に留意した。

生命科学の分野において、構造生物学などの「生体分子の科学」から「生命現象の科学」への流れが顕在化しつつある点に重点を置き、複雑系の科学である生命現象の本質に関わる計測・分析・探索技術の飛躍的展開を目指す研究、すなわち細胞間や細胞内での生体分子の動態を捉える新規な測定・分析・探索技法やそれを可能にするプローブの開発を重視した。また、構造生物学分野においても複雑な生体分子間相互作用や既存の方法では観測不可能な動的構造と機能との相関を見いだす新規な手法も選考の対象とした。さらには生物個体、生態レベルで生命現象の本質に関わる計測・分析技術の開発の提案も選考対象として含めた。

### 6-2 選考方法

選考は本研究領域に設けた領域アドバイザー9～10名、必要に応じて研究総括が委嘱した外部評価者3～4名と研究総括で行った。

選考方法は、書類選考、面接選考及び総合選考とした。1応募課題につき3名の領域アドバイザーまたは外部評価者が書類審査し、書類選考会議において面接選考の対象者を研究領域の採択予定者数の2倍程度まで絞り込んだ。続いて、面接選考および総合選考により採択候補者を選定した。

## 7. 領域アドバイザーについて

領域アドバイザーの人選にあたっては、領域研究のねらいから鑑みて第一線で活躍されておられかつ実績のある方々の中から、ナノバイオロジーとくに一分子生物物理学、細胞生物物理学、生体分子分光学、分子生理学、ケミカルバイオロジー、光を用いる細胞・器官・個体のイメージング、表面物理化学、生物物理化学、生化学・タンパク質工学、などの専門家を選んだ。時間に多少の余裕のある退職直後の先生も意識的に選んだ。企業から機器開発への展開と分析化学に造詣の深い神原博士に参加していただいた。また。女性のアドバイザーも意識し、さきがけ研究の経験のある方で分子の力学特性測定や表面物理化学で業績のある栗原教授も加わっていただいた。昨年度終了したさきがけ「構造機能と計測分析」研究領域寺部茂総括には本研究領域会議や成果報告会に出席いただき専門の分析化学の立場から貴重なアドバイスをいただいた。

| 領域アドバイザー名 | 所属                 | 現役職    | 任期                                   |
|-----------|--------------------|--------|--------------------------------------|
| 石渡 信一     | 早稲田大学理工学術院         | 教授     | 平成 17 年 6 月 7 日<br>～平成 23 年 3 月 31 日 |
| 神原 秀記     | (株) 日立製作所          | フェロー   | 平成 17 年 6 月 7 日<br>～平成 23 年 3 月 31 日 |
| 北川 禎三     | 兵庫県立大学大学院生命理学研究科   | 特任教授   | 平成 17 年 6 月 7 日<br>～平成 23 年 3 月 31 日 |
| 桐野 豊      | 徳島文理大学             | 学長     | 平成 19 年 5 月 1 日<br>～平成 23 年 3 月 31 日 |
| 栗原 和枝     | 東北大学原子分子材料科学高等研究機構 | 教授     | 平成 17 年 6 月 7 日<br>～平成 23 年 3 月 31 日 |
| 田村 守      | 清華大学医学院            | 高級訪問学者 | 平成 17 年 6 月 7 日<br>～平成 23 年 3 月 31 日 |
| 長野 哲雄     | 東京大学大学院薬学系研究科      | 教授     | 平成 17 年 6 月 7 日<br>～平成 23 年 3 月 31 日 |
| 難波 啓一     | 大阪大学大学院生命機能研究科     | 教授     | 平成 17 年 6 月 7 日<br>～平成 23 年 3 月 31 日 |
| 藤吉 好則     | 京都大学大学院理学研究科       | 教授     | 平成 17 年 6 月 7 日<br>～平成 23 年 3 月 31 日 |
| 柳田 敏雄     | 大阪大学大学院生命機能研究科     | 特任教授   | 平成 17 年 6 月 7 日<br>～平成 23 年 3 月 31 日 |

## 8. 研究領域の運営の状況について

### 8-1 研究領域のマネジメント

#### (1) 研究計画

全体の研究期間にわたる研究計画は応募時の提案書を基にして、研究者が具体的研究内容、期間内計画、予算計画書を作成した。さらに各年度終了時に、各研究者は研究進捗状況に応じて次年度研究計画書を作成した。研究総括はこれらの研究計画書を詳細に検討し承認を与え、各研究者によって実施された。大幅な研究計画に変更のある場合にはサイトビジットして内容を良く把握し、申請時の研究目標に大きく外れない限りこれを了承した（実例は後述）。

#### (2) 予算配分

研究計画に沿った予算配分に準拠したが、研究の進展に伴って予算の増額要求がかなりの人数あった。特定の研究者に偏ることを避けつつ増額要求の合理性を配慮して許容範囲内で総括がこれを認めた。研究期間内に所属を移動した研究者に対しては研究実施環境の整備のための予算を配慮した。

#### (3) 研究の進捗把握と推進

年2回の領域会議での研究者による研究進捗状況の発表を行い、また、アドバイザーによる評価とコメントを総括が自身の意見を含めてまとめ各研究者にフィードバックした。次回の領域会議では前回のコメントに対する対応を問うこともあった。総括と技術参事による年1回のサイトビジットで研究現場状況を把握し、適切なアドバイスを行った。場合によっては研究者の上司（研究科長や学長の場合もあった）にも会って研究場所の確保や配属大学院生の増加など協力を依頼するとともに問題点を指摘していただいた。この他メール等で総括から進捗状況の更なるチェックも行った。さらには年1回の関連する他研究領域との合同研究会（アドバイザーは出席しない）ではフリーな雰囲気の中で活発な議論と共同研究への芽生えが見られた。

本総括は本研究領域の研究者が多数研究発表する学会（例えば日本生物物理学会など）に毎年参加し、さきがけ研究者の発表状況を把握しつつ、他の研究者からの評価も聴取し、これを当人にフィードバックした。

研究成果報告会では各研究者の発表をビデオで収録し、これをフィードバックした。成果報告会の前には、総括によって各研究者一人当たり2時間程度の発表練習を徹底的に行った。内容の再検討や詰めの甘さ等も指摘し追加実験を要求する場合もあった。「やる限りを尽くせ」をモットーとした。

難渋している研究、たとえば石本研究者には小澤研究者の手法を取り入れるように指摘しこれを一部克服した。このような例は寺田研究者、池滝研究者においても見られ何れも解決に至った。尤も各研究者自ら自主的に行ったケースが多かったが。

上村想太郎研究者は途中でテーマ変更を願い出たので、本総括と技術参事ならびに

JST 本部がサイトビジットを行って内容を把握し、これが本研究領域のねらい（生命現象の本質に迫る計測分析研究）によりふさわしいことを確認した。さらに上司の教授とも面談して東大の助教の職を辞することを承認していただき、さきがけ専任研究者として以前留学したことのあるスタンフォード大学医学部 Puglisi 教授の研究室に移籍して共同研究を行うとともに、大学近くの企業 Pacific Biosciences 社の協力を得て開発中の新しい 1 分子計測法である ZMW 法(zero mode waveguides、新しい超高速 DNA シーケンサー)をリボソームによるタンパク質合成過程をリアルタイムで計測分析する全く新しい利用に挑戦することになった。その結果、項目 9 に記載するように所定の目的を達成し、Nature 誌の full article として 2010 年 4 月 15 日号に掲載されたとともに Nature 誌の News and Views, Nature Method 誌、Nature Technology 誌にも紹介された。内外の新聞紙上でも紹介された。

#### （４）研究評価の手続き

研究者の課題別評価報告書を基に、領域アドバイザーの意見を参考にして、研究総括が評価を行った。評価項目は、研究計画書の目標に対する研究課題の達成度、得られた研究成果の科学技術への貢献（計画外成果も含む）、外部発表（論文、口頭発表等）・特許出願など発信状況、招待講演など外部からの評価状況である（添付資料 2-1 主要論文・特許出願件数、3.受賞等）。最終評価に至るまでの評価の流れは下記のとおりである。

##### ①最終年度領域会議（９月）非公開

研究総括・アドバイザーが中間評価を行い、コメントを研究者にフィードバック

##### ②最終年度研究報告会（１２月～１月）一般公開

研究総括・アドバイザーが最終評価を行い、コメントを研究者にフィードバック

##### ③研究報告書および研究課題別評価書提出（２月）

##### ④研究総括による最終評価に基づき領域活動・評価報告書を提出（３月）

## ８－２研究支援活動

### （１）非公開シンポジウムの開催

#### ①領域会議

領域会議を年 2 回開催し、研究の進捗状況と今後の計画についての発表・討議を行った（添付資料 4-1 領域会議開催実績）。研究総括、領域アドバイザーからは、質疑に加えて、アドバイスが適宜行われ、また、研究者間での質疑応答も盛んに行われた。領域会議は、1 泊 2 日の合宿制で行ったので、発表会に加えて、その後の懇親会でも、熱心な討論が交わされるとともに、全員の親交が深まり、領域としての一体感の醸成にも役だった。同時に、領域会議を通じて、研究者同士が刺激しあい、研究者間の共同研究が数多く生まれた。発表・討議については、ビデオ撮影を行い、各研究者に映像の DVD を送付して、発表の仕方の向上の参考にしてもらうと伴に、質疑応答の記録を作成して

もらった。質疑応答の記録は、次回の領域会議の発表内容の冊子に添付した。なお、「構造機能と計測分析」領域の寺部研究総括には、ほぼ毎回領域会議に参加いただき、また、参加の希望を受けた他領域の研究者にも、一部参加いただき、議論の輪を広げた。

## ②生命・計測分析合同研究会

「構造機能と計測分析」領域（寺部茂研究総括）の生命系の研究者との交流を促進する目的で、「生命・計測分析合同研究会」を年に1回開催した（添付資料 4-2 生命・計測分析合同研究会開催実績）。第3回より、「生命システムの動作原理と基盤技術」領域（中西重忠研究総括）の研究者も参加し、さらに、第5回は、「代謝と機能制御」領域（西島正弘研究総括）の研究者も参加した。日帰りで行ったので、各研究者の研究紹介的な色彩が強かったが、他領域の研究者との交流により、領域会議とは違った刺激とネットワークが得られたと考えられる。

## （2）研究成果の対外発信

### （公開シンポジウム）

研究成果の対外発信の場として、各研究者の終了年度に一般公開の研究報告会を開催した（添付資料 4-3 研究報告会開催実績）。その際に、出来るだけ多くの人に参加いただくため、および、領域間の交流を深めるため、他の関連研究領域との共同開催を企画した。平成17年度採択研究者（1期生）の研究報告会は、「構造機能と計測分析」研究領域（寺部茂研究総括）、「代謝と機能制御」研究領域（西島正弘研究総括）と「さきがけ3領域合同研究報告会」として開催し、3日間延べで438名に参加頂いた。平成18年度採択研究者（2期生）の研究報告会は、戦略目標を同じくするCREST「生命現象の解明に資する新しい計測・分析基盤技術」（柳田敏雄研究総括）と「「生命現象解明のための計測分析」さきがけCREST研究報告会」として開催し、2日間延べで378名に参加頂いた。平成19年度採択研究者（3期生）の研究報告会は、前年度と同じ形で開催した。2日間延べの参加者は217名と前年度に比較して減少したが、これは、前年度は、口頭発表だけでなく、ポスター発表も行ったが、ポスター発表件数が57件と非常に多かったため、関係者の参加が多かったためと考えられる。なお、研究報告会の開催に当たっては、事前に、関連する学会ホームページや雑誌への案内、年会等でのポスター掲示・パンフレット配布等の依頼を行う等一般参加者の増加を図ったこともあり、参加者の半数は大学・企業などの一般参加者であった。

### （広報活動）

主要雑誌に掲載されたインパクトの大きい研究成果については、広報担当者と連携して新聞記者会見などの広報活動を行った（添付資料 5-1 広報活動状況）。また、インパクトの大小に関わらず研究成果、受賞、産学官連携推進活動などを研究領域のホームページでPRに努めた。

#### （国際交流活動）

JST 本部からの提案でさがけ研究者とスウェーデン SSF (Swedish Foundation for Strategic Research) 若手研究者との交流シンポジウムがスウェーデンで開催することが計画され、本総括が日本側の団長に指名された（添付資料 5-2 国際交流活動）。時期は2008年5月25日から6月1日と決まり、SSF 側の団長の教授と内容の打ち合わせを1年ほど前から開始した。日本側派遣研究者は「生命現象」、「構造機能」「生命システム」、「代謝」の領域から各領域の総括に数名ずつ推薦してもらい、本総括が各領域会議に出席した際に見極めて絞り込み14名を決定した。ストックホルム大学、カロリンスカ研究所、ルント大学、企業として GE メディカルを訪問し、またジョイントセミナーをもった。本総括は残念ながら出国直前に急病に罹り団長を急遽上杉研究者に託した。その後両国側の研究者間で共同研究がいくつか展開されている。（産学官連携推進活動）

新しく開発した計測分析技術は論文・学会等で発表するだけでなく、広く産業界にもアピールして、計測分析機器の開発等に繋げて、研究成果の社会還元を行うことは重要であり、内閣府主催の産学官連携推進会議等への参加を推進した（添付資料 5-3 産学官連携推進活動）。本研究総括および技術参事はこの会議に参加した。なお、研究期間終了後に、JST の先端計測分析技術・機器開発事業や研究成果最適展開支援事業（A-STEP）等を利用して積極的に実用化を推進する研究者も相当数見られた。

#### （3）特許出願支援

新しい計測分析技術の研究開発を課題とする研究者が多いことから、研究者の特許意識は、個人差はあるが全般的に高いと感じたが、折に触れて、特許出願の推奨を行い相談に応じた。特に優れた特許出願については、国内出願に引き続いて外国出願を行うことを促進した。外国特許出願に当たっては、先行文献調査を行って、新規性・進歩性を有することを確認し、JST の出願審査において特許専門家の承認を受けて出願した。出願実績は、国内49件（研究期間終了後の特許出願支援1件含む）、外国（PCT 出願ベース）10件であった（添付資料 2-1 主要論文・特許出願件数）。日本版バイ・ドール制度から、研究者の所属機関からの出願を優先したが、特許出願予算オーバー等の理由から所属機関から出願が出来ない案件は JST から出願した。JST 出願は、国内6件、外国（PCT 出願ベース）2件であった。なお、JST 出願に関しては、出願内容・先行文献調査・国際予備調査への対応等の方針を技術参事が発明者、弁理士と打ち合わせを持って進めた。

#### （4）研究現場訪問

研究総括は技術参事と共に、研究開始時に研究現場を訪問し、研究環境、設備等や研究費の確認及びヒヤリング、組織責任者への協力依頼を行った。研究期間内で異動した研究

者をその都度訪問し、研究環境を確認した上、新組織責任者への協力依頼、研究継続に必要となる支援の決定を行った。さらに、最終年度に入る直前にもう一度訪問を行い、最終年度における研究の促進についてアドバイスを行った。研究者訪問は、実験装置を前にして、しかも時間を掛けて討議ができるため、研究内容・進捗状況を把握することに加えて研究・教育等について考え方の議論もできて、非常に有益であった。同時に、研究補助者や研究に参画する学生とも懇談して、励ますことができた。

特許出願に関わる助言のための技術参事の訪問や購入物品の納入状況把握のための事務参事の訪問も随時行った。

#### (5) 研究期間終了後のフォロー

1、2期生については研究期間終了後も研究の進展をフォローするために、領域会議で研究成果その後を発表してもらった。また、本総括から直接研究者にその後の状況を訊くこともしばしばあった。これには本総括が常々強調していたことであるが、3年間で論文発表に至らなくても、4、5年後には重要な国際誌に発表することを研究者に徹底的に認識させていたためである。この点については9-2 個別研究の成果のところに記載した(添付資料 6-3 研究期間終了後のさきがけ研究成果を土台とした研究開発展開状況、6-4 研究期間終了後の論文掲載状況)。

### 9. 領域のねらいに対する成果の達成状況

#### 9-1 研究領域全体としての特筆すべき研究成果

本領域研究は、タンパク質などの生体分子そのもの(1分子を含む)の静的・動的構造解析を行う構造生物学的新手法の開発は一部には含むものの、複雑な生命現象(の一断面)を捉えて解析する研究を目指すものである。したがって細胞レベル、個体レベルでの生体分子の動的挙動やそれらの間の相互作用、などの研究に重点を置いている。すなわち、計測分析技術開発として、新規顕微鏡観察技術開発、新規アルゴリズムやその他の新規計測技術開発、新規プローブ物質の合成・探索などに分類される。期待される効果としては、超高分子量蛋白質・蛋白質複合体の動的構造解析、生体分子・遺伝子の機能解析・相互作用解析、生体分子・細胞の可視化・相互作用解析、システムレベルの細胞動態解析、薬物代謝動態解析、などである。

まず、大きなタンパク質の単粒子構造解析法の迅速化新手法の開発、溶液中でのドメイン間変化(形態変化)、さらには多分子間相互作用解析手法や離合集散するタンパク質の動態計測、などの新しい構造生物学的手法が確立された。さらにはラマン円偏光二色性分光法、AFMによるポリペプチド1分子の粘弾性測定、いくつかの新規1分子イメージング計測法、などによって生物的、生化学的、生物物理学的新知見が得られた。1分子・1細胞計測におけるケージド化合物の巧みな利用によるイメージング計測などに大きな成果が得られた。細胞間のネットワーク計測法の開発や神経回路網の計測や神

経活動の高速イメージングなどの計測分析など複雑系である生命現象の計測分析にふさわしい研究にかなりの進展が見られた。これらの研究の展開には多岐にわたる分野のアドバイザーからの適切なアドバイスやさきがけ研究者間の協同・協力研究がなされた成果でもある。

GFP などの蛍光タンパク質を用いない合成プローブラベル法、光受容タンパク質を遺伝子発現のための光スイッチに用いる制御法、なども一部に成果は認められるものの、多方面での応用に繋がる可能性を持っているだけに、更なる展開を期待したい。ヒト ES 細胞、ヒト iPS 細胞由来の肝組織の人工構築と機能の実証、チップ化の試みは半ば成功したと言えよう。人の顔を位相情報から見分けるように細胞も同様に行う測定システムが出来上がり、無染色細胞イメージングへの途が開かれた。これからの展開を期待したい。MRI・蛍光同時測定による細胞イメージング法は極めて重要であるが、可成りの段階まで進展した。手法の完成までにはまだ克服すべき課題は残っており早急な進展が欲しいところだ。タンパク質における力発生の 3 次元可視化測定システムが完成した。力感受性蛍光タンパク質の分子設計、3 次元可視化技術の開発は素晴らしいものがある。生細胞を用いた研究への展開を期待したい。

本領域研究の最大級の成果はアメリカのバイオベンチャーの開発した超高速 1 分子 DNA シークエンサーを用いて生命現象の基本問題であるタンパク質翻訳過程の 1 分子可視化に成功したことであろう。計測手法そのものも開発した訳ではないが、測定対象が細胞内の条件（高濃度）と同一であり、既存の全反射 1 分子計測法では不可能な測定をリアルタイムで測定し、永年未解決の翻訳メカニズムを解明した。この手法の生命科学一般への応用範囲は計り知れないと思われる。これによって 1 分子生物学という新しい分野が拓けたと言えよう。実用化に近い計測法の開発もいくつかあった。新しいアイデアに基づく超分解能光学顕微鏡の開発である。企業の研究者によるものであるだけに既存の顕微鏡に実装出来るように設計されている。無線・無電極水晶振動子を用いた高感度タンパク質センサもその一つである。これは A $\beta$  ペプチドの凝集過程の解析に威力を発揮しつつある。高速化した変調原子間顕微鏡 (FM-AFM) も一般に普及させたい計測法である。水和層が原子分解能で測定出来、生体膜への応用等柔らかい物質の原子分解能測定が可能になった。多周波高感度 ESR および ENDOR 装置の開発も実用レベルにある。プローブ開発に工夫がなされて達成された。いままで不可能であった整数電子スピンの ESR 測定に世界で初めて成功した。生命現象（光合成系での酸素発生メカニズム）への応用は途半ばであるがこの装置は我が国に常置してもらいたい。CARS 内視鏡の開発では白色レーザーを光源とする CARS 分子イメージング（細胞レベル）に成功している。感度と空間分解能の改善が進めばいわゆる内視鏡のレベルにまで発展するであろう。圧力変調顕微鏡の開発もユニークだ。圧力という摂動は様々な生命現象のメカニズムの解明に手掛かりを与えてくれる可能性を秘めている。一方、ハードウェアの開発とは異なり細胞生物学的研究として、自家蛍光の強い細胞内の小分子の可視化プ

ローブを独創的なアイデア（分割ルシフェラーゼ）で開発し多方面に応用し成功している。また、病態モデル細胞をセミインタクト・リシール細胞でミミックして再構築するという独創的な技法が完成した。病態と細胞内変異とを結びつけるこの方法の発展性は極めて高いものと思われる。生化学的・細胞生物学手法とタンパク工学的手法を融合させてタンパク質（脳内のニューログロビン、tRNA 合成酵素）の新規機能発現機構を解明した研究もあった。これは従来のアミノ酸置換やドメイン置換ではなく、モジュール（DNA のエクソンに対応）置換しこのモジュールが機能単位であることを実証しながら人工キメラタンパク質が細胞内でたとえば酸化ストレスから細胞死を防ぐことを解明した（ニューログロビン）ものである。細胞生物学での技法として利用出来る可能性がある。

以上挙げた研究はいずれも十分な成果を挙げており最終目標への到達度はかなり高いと言えよう。

## 9-2 個別研究の成果

### (1) 1 期生 (12 名)

#### 「時間と共に離合集散を繰り返す分子機械の X 線小角散乱・動的構造解析」(秋山修志 研究者)

シアノバクテリアの生物時計タンパク質(KaiA, KaiB, KaiC)が ATP と反応して概日振動が生ずる動的構造生物学的研究である。生化学的解析も行っている。溶液中で離合集散を繰り返すこれらのタンパク質の動態を Spring 8 の施設を利用して X 線小角散乱測定によって見事に解析したことは極めて高く評価される。測定技術の工夫、試料の取り扱いとはもとよりいろいろなモデル反応系を想定して緻密な解析を行っている。さらには、さきがけ研究期間終了以後 2 年以内で KaiC の構造変化を捉え、形状をリズミカルに膨張・収縮させることによって 24 時間周期で時を刻むことを世界で初めて解明した (EMBO J.に発表)。これらの研究によって本研究者は文部科学大臣表彰若手科学者賞を始め各種の賞を受賞している。

#### 「記憶形成の脳内イメージング」(石本哲也 研究者)

脳内イメージングという大変チャレンジングな研究課題であり、困難な問題に遭遇することが予想された。事実要素技術の一つの達成に難渋し途中で変更を余儀なくされた。しかしながら、3 期生の小澤研究者の開発したイメージング用スプリットルシフェラーゼを用いてシナプス可塑性にかかわる転写因子である CREB のリン酸化やスパインに集積しているアクチンの重合を計測出来る発光プローブを作成した。目的としていた記憶すると脳が光るマウスの作製にはまだ距離があったが、さきがけ研究期間終了後発光プローブを発現するトランスジェニックマウスの作製に成功しており、個体レベルの行

動と脳内の特定のタンパク質の挙動を同時計測する基盤技術が出来た。今後、記憶形成とタンパク質挙動の時空間的関連を解明してほしい。

#### 「生命現象分析のための小分子転写因子創成」(上杉志成 研究者)

本研究者が見いだしたレンチノールを出発点として分子設計した数多くの小分子の合成とスクリーニングの末、有効な小分子転写因子(非ペプチド型)を開発した。また、最適化した小分子化合物により、細胞内の遺伝子を発現させ、細胞の筋肉分化誘導にも成功している。転写因子は、遺伝子の発現を制御し、分化、癌化、老化など多くの生命現象の根幹をなすタンパク質であるので本研究の成果は、合成化合物で様々な生命現象を操作できる可能性を示唆するものである。大きな目標を持った研究なので本研究者の情熱と執着心をもって目標を達成することを期待したい。さらに、想定外の成果として、本研究領域内の共同研究によって「アドヘサミン」と名づけられた化合物も開発した。この化合物は培養細胞の生理的接着を促進する初めての非ペプチド化合物である。現在では基礎研究試薬として市販されており、再生医療にも応用できる可能性がある。

#### 「蛋白質電顕画像を用いた自動 *in silico* 擬似結晶構造解析法の開発」(小椋俊彦 研究者)

電子顕微鏡画像から3次元構造を求めるための単粒子構造解析法を改良するために、本研究者は3次元画像再構成のための新しいアルゴリズムを考案し、これによりタンパク質平均画像の3次元角度を自動的に決定することが可能となり、3次元構造の高精度化と処理の高速化を達成した。この手法を用いて10種類以上のタンパク質の構造決定を行い、インパクトのある研究成果を数多く得た。また、想定外の成果として、走査電子線による生物サンプルの高分解能・高コントラスト観察法を開発した。この点も高く評価したい。さきがけ研究期間終了後に、さらに数種類の重要なタンパク質の構造解析を行い、特に、細胞内の酸化ストレス防御機構に関与する Keap1 タンパク質については、完全な非対称3次元構造を解明した。また、走査電子線を用いたオリジナルな軟 X 線顕微鏡の開発も進め、分解能は世界最高レベルの 11nm を達成した。この装置では、水溶液中の生物サンプルを非染色で観察可能であるため、今後生物サンプルの観察法としてスタンダードな装置になる可能性がある。

#### 「オンチップ多電極刺激計測系による細胞ネットワークの構成的理解」(金子智行 研究者)

アガロースマイクロチェンバーネットワークを構築し、心筋細胞の拍動周期や安定性の解析システムを確立した。すなわち、心筋細胞ネットワーク中の1細胞間の細胞電位伝達速度の測定システムを構築した。そして、多電極刺激系計測との組み合わせによって、細胞間コミュニケーションによるコミュニティ効果を明らかにするなど、細胞ネットワークシステムの動態解析への途を開いた。この方法による伝導遅延も測定可能な創

薬スクリーニングシステムの構築に貢献するものである。この基礎研究の更なる深化を望む一方、その上にたって薬剤スクリーニングなどへの応用も試みてはいるが実用化されることを期待したい。なお、この手法は国内外で他には試みておらずユニークな研究として国際学会等で注目されている。

#### 「神経活動の *in vivo* 高速イメージングと光操作」(喜多村和郎 研究者)

本研究は生きた動物個体の脳内の特定のニューロンを同定し活動電位の入出力関係を定量的に測定する新しい手法として、蛍光標識を用いない単一ニューロンを可視化すると同時に従来法のパッチクランプ法を結びつけたシャドウパッチング法を開発した。すなわち、2光子励起イメージングとホールセル記録とを組み合わせた感覚シナプス入力可視化の新しい手法である。これを用いて覚醒行動中のマウスの脳において、単一ニューロンからのホールセル活動記録が出来るようになったことは、今後の脳機能解析に大きく寄与するであろうと考えられる。実際、平成 20 年度に発足したさがけ「脳情報の解読と制御」領域で『感覚情報をコードする局所神経回路の機能構築』に採択され、さらに CREST「脳神経回路」(本さがけ松崎研究者のチームの研究参加者)として新たなスタートを始めている。今後の展開に期待したい。なお、本研究者は文部科学大臣表彰若手科学者賞等の賞を本研究によって受賞している。

#### 「2段階ビオチン化反応を利用したタンパク質解析」(末田慎二 研究者)

本研究はプロテオーム解析に有用な新規のプロテインタグシステムの研究開発である。本研究者は偶然に古細菌由来のビオチン反応系では固定化酵素 BPL がビオチン化された基質タンパク質(BCCP)と極めて安定な複合体を形成することを見いだしている。そこで、これを利用して、BCCP をタグとして標的タンパク質に導入し、その融合タンパク質の捕捉や蛍光検出を行なうことを目的としている。目的はほぼ達成できた。BPL と BCCP ならびにビオチン化 BCCP との詳細な相互作用解析を行い、BPL とビオチン間のみならず BPL と BCCP 間にも特異的な相互作用が存在することを示したことは興味深い。また、BCCP の構造特異性(剛直性など)からプロテインタグとして優れていることも明らかにしている。標的タンパク質の例としてグルタチオン S-トランスフェラーゼ(GST)をとりあげ、BPL を固定化した磁気ビーズを利用して大腸菌ライセートから特異的に捕捉することにも成功している。また、蛍光標識を施した BPL を利用して、マイクロプレート上での蛍光検出にも成功している。さがけ研究期間終了後に、ヒト細胞に発現させた膜タンパク質(Bradykinin B2 receptor)の蛍光イメージングを行なうことにより、このタグシステムが生細胞中に存在するタンパク質の蛍光標識化法として活用できることも示している。今後、他の生物学的に重要な標的タンパク質への応用が期待される。

#### 「超高分子量蛋白質の分子形態変化を観測する NMR 技術」(楯 真一 研究者)

分子量の大きなタンパク質の中には溶液状態でドメイン間での配向状態変化を決め

ることがしばしば極めて重要であるが、本研究者は新しいNMR手法を開発、確立した。すなわち、異方性圧縮アクリルアミドゲルを用いて磁場に対して弱く配向させ、分子配向依存的に誘導されるTROSYシグナルの変化からドメイン間の配向変化を決定する方法である。各ドメインの構造は前提条件として必要であり、また、いくつかのNMR解析上の仮定は必要とするものの、他に代えがたい手法であり、その有効性もいくつか例示された。NMR技法としては完成度が高く、優れた成果として高く評価したい。生物学的に意義のあるタンパク質分子形態変化の事例をさらに増やしつつある。なお、本研究者はさがけ研究終了後先端計測事業に採択され世界に発信する技術として測定技術とソフトに研ぎをかけているところである。日本発の汎用性の高いNMR技法が極めて少ないだけに誰にでも使える技術に育ってほしい。

#### 「生体分子計測用 THz 帯 CARS 分光イメージング装置の開発」(谷 正彦 研究者)

測定法として困難な課題に挑戦しており、技術上の問題点に遭遇しながらも何とか THz 帯 CARS 測定システムを開発出来た。しかしながら、S/N は極めて不十分であり、タンパク質における低波数ラマンシグナルが明確に観測されていないのは残念なところである。目的とするイメージングの達成にはまだ距離があるものの、技術的課題を克服して少なくともいくつかのタンパク質について明瞭なデータが出ることを期待したい。なお、さがけ研究期間終了後に、新しいレーザーの導入と光学系の工夫により、測定システムとしては、測定帯域の拡大(周波数上限が 5THz から 15THz に)と、S/N の改善が一部達成され、また本測定手法と THz 波吸収分光の併用による、多角的な THz 帯の生体分子分光研究(科研費基盤 B およびイタリア研究者との国際共同研究)への展開もみられ、課題達成へ向けた努力が見られる。

#### 「細胞内生体分子間ネットワークのリアルタイム検出法の開発と細胞生物学的応用の検討」(寺田純雄 研究者)

生命現象解析法の未開発の一つとして複雑な生体分子間相互作用を観測する新規多(三)色同時励起蛍光相互相関分光法を試行錯誤の上開発したことは高く評価したい。基質特異性の低いタンパク質群の関わる複合体の *in vitro* および *in vivo* における会合・解離についてのいくつかの実験例で検証している。すなわち従来不可能であった弱い分子間相互作用の生体内観測を実現し高い評価を受けている (EMBO J.)。

#### 「時空間を制限した細胞内シグナルの発生とその計測」(中西 淳 研究者)

本研究は光照射に応じて表面の細胞接着性が変化する機能性「ケージド」基板を開発し、基板上の細胞接着を一細胞レベルで制御することによって、細胞移動や細胞増殖を誘導・制御する手法を開発した。また、表面に光分解性リンカーを介して反応性の官能基を有する金ナノ粒子をケージング担体として開発しその有用性を示した。ケージド化合物を数多く合成し、この概念を広げた極めて優れた成果が得られている。合成化学、

表面化学、細胞生物学、計測技術などを総合させた独創性の高い優れた研究成果を得ている。応用範囲は広い。特定の細胞の単離増殖の制御などへの応用も期待したい。ケー  
ジド基板の製品化は JST の A-STEP で実施研究が行われている。

#### 「広狭域 2 重 2 光子励起顕微鏡による神経回路網の計測」(松崎政紀 研究者)

神経回路網の計測のために 3 つの光刺激用のレーザー光路と 1 つのイメージング用の光路をもつ広狭域 2 重 2 光子励起顕微鏡システムを構築仕上げた。これによってある平面上に存在するシナプスを 2 光子イメージングしながら、異なる平面に存在する神経細胞を系統的に光刺激できるようになった。シナプス入力細胞とシナプス入力部位の分布を計測可能になった。また、より効率の高い光刺激用ケージドグルタミン酸も開発している。さらには、チャンネルロドプシンを遺伝子導入によって神経細胞に発現させ、青色光照射でマッピング出来ることを個体動物で示したことはこの分野の発展に大きな寄与をしたと言えるであろう。すばらしい成果を挙げたと評価出来る。なお、本研究者はこのさがけ研究を基にして新たに CREST 研究者(代表)に採択されている。今後のさらなる発展を期待したい。

#### (2) 2 期生 (10 名)

#### 「ラマン円偏光二色性分光による生体分子の動的構造解析」(海野雅司 研究者)

可視光励起ラマン円偏光二色性分光 (ROA) 装置の作製をともかく仕上げた。バクテリオロドプシンに応用し、暗状態と明状態でのスペクトルの違いを微弱な信号ながら観測した。さがけ研究期間終了後 1 年以内には近赤外励起円偏光二色性分光装置も完成させ、Photoactive Yellow Protein の発色団、4-ヒドロキシ桂皮酸の ROA スペクトルの測定に成功している。これによって発色団分子のひずみなど微小な構造変化を捉えることが出来るようになった。今後、ROA スペクトルの解釈ならびに感度向上に向けて特段の工夫を行い多成分系の測定まで発展させれば新しい分野を開拓することになるだろう。

#### 「プローブラベリングによるタンパク質間相互作用解析」(王子田彰夫 研究者)

(Asp)4 あるいはこれを倍長したタグ上の SH 基と共有結合可能なタグ認識ラベル化分子を作製し、具体的応用例としてブラディキニン受容体をラベル化し多色イメージングに成功している。まだ細胞表層膜タンパク質だけであり、しかも細胞外からのラベル化など限定的である。しかし、pH 感受性色素を用いてエンドソーム内の酸性度をイメージング化している点は興味深い。タンパク質機能阻害の少ないラベル化法としての利点を生かしたタンパク質相互作用解析への応用が期待される。さがけ研究期間終了後に、細胞内タンパク質のラベル化を目指した検討が進められて、ポリヒスチジンタグに対する相互作用特異性の非常に高いラベル化

分子を新たに見出し、タグを導入した細胞表層膜タンパク質の共有結合ラベル化に成功している。今後、この手法による細胞内タンパク質の特異的ラベル化の成果が期待される。

「光受容タンパク質を利用した新しい遺伝子機能解析法の開発」(岡野俊行 研究者)

ニワトリクリプトクロム(CRY4)を利用し、酵母において任意の遺伝子活性を制御できる新しい光制御システムを構築した。また、青色光受容分子候補であるクリプトクロムの発現・局在を調べ、タンパク質発現系も構築した。さらに、ゼブラフィッシュにおいて地磁気に感知能をもつことを見出した。まだ基礎的研究の段階であるが、この系が遺伝子発現のための光スイッチに用いる制御方法としてその応用性への期待が大きい。ほ乳類での発現も目指してほしい。基礎研究としては CRY のフラビンへの光照射で CRIP が解離するメカニズムや磁気センシング機構も解明してほしい(構造生物学者、生物物理化学者と協同で)。今後の研究発展に大きな期待が持てる。

「熱揺らぎを利用した粘弾性測定による 1 分子内部運動の解析」(川上 勝 研究者)

原子間力顕微鏡(AFM)技術を用い、タンパク質やペプチド鎖、糖鎖など1分子を捕え、分子を捕えているレバーの熱揺らぎ(熱ノイズ)や、強制振動の信号の解析から、1分子の「粘弾性」を測定することに成功した。また、モータータンパク質であるミオシン尾部の1分子粘弾性の結果、低い張力ではランダムコイルよりもはるかに大きな粘弾性をもち、50 pN 辺りで急速に粘弾性が落ちることから、この分子は通常はミオシン頭部で発生した力を効率よく伝え、急に大きな力が働いた際には緩衝体として働く事が「定量的に」示された。分子内の形状変化に応ずる粘弾性が定量的に測定できたことで、これまでバルクな試料の測定によって分子の形状(絡み合い)と粘弾性の関係が議論されてきたレオロジーの分野へ、分子レベルの構造を取り入れた新しい展開が期待される。今後、より生物学的機能に結びついた構造揺らぎに関する粘弾性の測定により、1分子内部ダイナミクスと機能の定量的な関連付けが望まれる。

「ES細胞由来肝組織装置による薬物動態計測システム」(田川陽一 研究者)

ヒト ES 細胞実験の許可の取得に時間がかかったにもかかわらず精力的な努力の結果、内皮細胞ネットワーク上で分化誘導するユニークな手法によりヒト ES 細胞、ヒト iPS 細胞由来の肝組織構築に成功し、肝機能を発現することも実証したことは極めて高く評価出来る。従来は不安定な肝細胞を用いていた。この肝組織のためのマイクロ培養装置も工夫が見られ、肝組織チップとして利用出来る可能性も示した。実用段階までに発展すれば創薬研究などへの貢献は極めて大きいものがある。今後の発展を大いに期待したい。

「タンパク質 1 分子モーションキャプチャー技術の開発」(谷 知己 研究者)

観察光軸に対称な偏光透過軸をもつ特殊偏光素子を光学顕微鏡に導入し、タンパク質

の任意のドメインを標識した蛍光分子 1 分子の向きを 3 次元的に高い時間分解能で計測し、タンパク質の構造変化を細胞内、実時間で観測する光学顕微鏡法を新規に開発した。このイメージ技術は光学理論・実験両面から丁寧な検討がなされている。分子の向きを細胞内のタンパク質で観測する世界初の 1 分子観察法として、細胞内タンパク質集合体のアセンブリ過程を研究する研究者との共同研究を進行中とのことで、今後大いに期待出来る。膜タンパク質や細胞内の 1 分子の配向変化を機能とどのように関連させるかも興味深い研究課題となろう。なお、本研究者はアメリカのウッズホール研究所に自らの研究室を開設している。

#### 「MRI・蛍光同時計測による生体内分子・細胞イメージング法の開発」(森田将史 研究者)

イオン注入法を用いた磁場・光応答性マルシモータル安定プローブの新規設計法を提案し、ナノダイヤモンド (ND) への Mn イオン注入により、 $T_1$  短縮能と近赤外発光を持つプローブ (Mn-ND) の合成に成功した。さらに Mn-ND への金ナノ粒子付加技術確立し、生体内での分散性維持・生体分子付加技術をも開発した。また、MRI による血流動態の可視化、リンパ節の可視化にも成功している。今後、これらの技術をたとえば樹状細胞が外来分子を認識する自然免疫過程を可視化し、ワクチン開発に必要なアジュバントの効果の解明などに役立てることなどが期待される。

#### 「DNA/タンパク質間相互作用の高精度 1 分子多次元解析」(横田浩章 研究者)

蛍光 1 分子イメージングの障害となるタンパク質のガラス基板への非特異吸着を従来より 10 倍抑制する基板コーティング法の開発に成功し、DNA 結合タンパク質の蛍光 1 分子イメージングと DNA 1 分子操作が同時に可能な 1 分子同時計測システムの構築を実現し、DNA とタンパク質 (ヘリカーゼ) との相互作用 (結合・解離) を、力を加えつつ 1 分子レベルで計測するための光学顕微鏡を開発した。DNA にヘリカーゼ何分子が結合しているかをも直接観測した。これは DNA/タンパク質間相互作用の多次元的理解を可能にする新規計測システムといえよう。今後は DNA 修復・複製の際の DNA/タンパク質間相互作用の素過程を解明しながら、クロマチン構造やエピジェネティクスなどのより高次の系への拡大を目指してほしい。

#### 「細胞情報解析のための超高精度・高速位相計測システム」(渡邊恵理子 研究者)

位相情報をもとに無染色で細胞イメージングを行うというユニークで新しい測定システムを開発し、限られてはいるものの細胞の形態測定などの基本実験にも成功している。すなわち、細胞などの透明物体を対象とし、特異な前処理を施さずに測定可能な高速高精度な位相計測システムの構築に成功した。さらに細胞を位相情報でモデル化して識別する位相物体識別システムの基礎を構築した。細胞の 3 次元位相情報を高速に識別

できる可能性、再生医療の品質管理・がん細胞検査等への応用が期待される。異分野(動画像識別システム)においては既に実用化に成功している。

#### 「生細胞内における蛍光蛋白質による力発生の3次元可視化」(渡邊朋信 研究者)

ビデオレート(30ms)内で三次元顕微鏡像を取得できる顕微鏡システム、蛍光ナノ粒子の三次元位置をナノメートル、ミリ秒の精度で追跡する技術、蛍光蛋白質1分子に係る張力と蛍光スペクトルの同時計測技術の三種類の新規顕微鏡技術開発に成功した。これには張力によって吸収波長特性が変化する蛍光蛋白質の開発に成功したことにより達成された。開発された要素技術は、超解像顕微鏡、圧力感受性蛍光蛋白質など、新たなリソース開発に繋がると考えられる。本研究者は新たにさきがけ「iPS細胞と生命機能」領域で『分化・発生を理解する多次元定量計測技術の基盤開発』に採択され、そこでの発展的研究が期待される。

#### (3) 3期生(10名)

##### 「1分子超解像空間分析法の開発」(池滝慶記 研究者)

波動光学と分光光学を融合した超解像度光学顕微鏡、すなわち **erase** 光としてダークホール状あるいはマカロニ状にしたものを用い、**pump** 光で照射された回折限界スポット中において、さらに小さなスポットができるユニークな手法を用いた3次元的に回折限界を超えた顕微鏡の開発に成功したと言える。ダークホール型を蛍光相関法に適用し小さなスポットでの相関関数が得られるようにもした。検証実験も今のところ蛍光染色した微小管のイメージングなど限られているものの超解像度をチェックしている。共同研究等で生物試料の測定例をさらに蓄積して本手法の有効性をさらに示し、生物研究者が使い易いものへと実装化されることを期待する。顕微鏡技術では日本の優位性を維持し続けてほしい。

##### 「1分子同時計測技術によるタンパク質翻訳操作」(上村想太郎 研究者)

申請研究課題を途中で変更しているがむしろ本領域研究により適した研究を遂行した。1分子レベルでタンパク質翻訳過程をリアルタイムで可視化することに成功し、新しい翻訳メカニズムを解明した。生体に近い条件での1分子計測によって従来の全反射方式1分子計測によっては捉えることの出来なかった生命現象の本質を捉えることが出来、大きなインパクトのある成果をだした。東大の助教の職を辞してまでアメリカで本研究に集中し、短期間でありながら生命現象の本質の一つであるリボソームでのタンパク質合成のダイナミックな分子機構を新しい1分子計測技術 **ZMW (Zero Mode Waveguides)** 法を用いて解明した。構造生物学を超え生命現象における1分子計測の新しい利用の途を切り開いた成果を挙げたと言えよう。**ZMW** 法自体はアメリカの

Pacific Biosciences 社が新しい DNA シーケンサーとして開発したものであるがこれを生命現象の本質に迫る課題解決に応用し得ることを実証したことになる。今後様々な生命現象の本質の解明に応用展開されるものと大いに期待する。このような見事な成果を挙げ得たのも、本研究者が以前留学先のスタンフォード大医学部でリボソームの研究を行っていた研究室との共同研究でもあることが大いに寄与していよう。課題に対する問題点をとことんまで煮詰めていたからこそ達し得たものと思われる。一昨年リボソームの構造生物学的研究でノーベル化学賞を受賞した 3 名からも本研究者らに対してお祝いのメールが届いたことも付け加えておく。

#### 「無線・無電極振動子たんぱく質マイクロアレイの創製」(荻 博次 研究者)

無線・無電極の裸の水晶振動子を非接触で発振する技術を独自に考案・開発することにより、無線・無電極振動子バイオセンサを世界で初めて提唱し、これまでの感度を 1000 倍以上改善することに成功した。これを抗原・抗体反応など種々のタンパク質・リガンド反応や  $A\beta$  ペプチドの凝集反応過程を高感度で追跡して実証している。また、世界初の取替え不要のバイオチップを MEMS 技術により開発し、ラムネ Q センサと名づけた。従来常識的に使用されていた圧電振動子上の電極と配線がバイオセンサとしての感度限界をもたらすことを突き止め、これらを一切使用しない無線・無電極バイオセンサを確立したわけである。無線・無電極化は振動子の孤立化でもある。振動子を Si ウェーハ内のマイクロ流路に埋め込んだラムネ Q センサの開発を成功させたことにより、将来的に更なるセンサチップの小型化・高感度化が可能となろう。特許も多数取得していることから実用化は近いと考えられる。

#### 「不透明な生体内における細胞内小分子の可視化と光制御法の開発」(小澤岳昌 研究者)

ルフェラーゼを用いた分子プローブ（本研究者が開発したルシフェラーゼ分割・再構成法）をさらに深化させ、蛍光イメージングでは困難であった自家蛍光の強いツメガエル卵やシロイヌナズナ植物個体をモデルとして、個体内ではたらく生体分子のイメージング法を開発した。すなわち、pH 発光プローブ、cAMP 発光プローブ、cGMP 発光プローブ、タンパク質間相互作用検出プローブの開発である。cGMP プローブを用いたイメージング法により、植物個体内における cGMP の機能や、ツメガエル胚発生過程における cGMP 産生の新たな知見を発見した。また、光応答性ルシフェラーゼを用いて、タンパク質の構造変換速度を指標とした新たなイメージング法のコンセプトを創出した。今後はモデル動物および植物を対象として、個体内ではたらく生体分子の機能やシグナル伝達を、高空間分解能で可視化する技術や生体分子の特異的可視化による画期的診断・治療法の確立を目指してほしい。これらの研究によって本研究者は日本学術振興会賞等の賞を受賞している。

#### 「コヒーレント・ラマン内視分光鏡による生体組織の *in vivo* 計測」(加納英明 研究者)

分子の「指紋」であるラマン(CARS)スペクトルを読み解く方法論の確立と白色レーザーを用いたコヒーレント・ラマン ファイバープローブの開発に成功した。生細胞や生体組織を染めることなく、分子の情報を用いた“色づけ”が可能になった。非染色 細胞スクリーニング、“染めない”病理診断など多方面に応用が期待される。本研究者は、さがけ研究期間終了以降も、JST 先端計測分析技術・機器開発事業における開発課題「生細胞活性可視化診断用ラマン分光顕微鏡の開発」に開発担当者として参画するので、さがけ研究の発展を期待したい。

#### 「セミインタクト細胞を用いた蛋白質の一生の可視化解析」(加納ふみ 研究者)

セミインタクト細胞とは、連鎖球菌毒素・ストレプトリシン O (SLO) などを作用させ、形質膜を部分的に透過性にした細胞のことである。セミインタクト正常細胞に「病態モデルマウス組織より調製した病態細胞質」を導入することにより、真の病態状態に近い「病態モデル細胞」を創成した。さらにセミインタクト細胞の形質膜にできた穴を修復しインタクト細胞に戻す「リシール細胞技術」を確立し、形質膜を介したシグナル伝達過程が計測可能となった。今まで実現困難であった「病態における細胞内状態」を再現した病態モデル細胞システムであり、様々な慢性疾患に応用可能な汎用性を持つ。今後は病態モデル細胞におけるシグナル伝達異常の分子基盤解明を進めると同時に、リシール細胞技術を用いた蛋白質誘導による新規細胞形質転換法・エピジェネティクス改変法としての確立を目指してほしい。

#### 「高圧力による分子間相互作用変調イメージング」(西山雅祥 研究者)

タンパク質、生体膜、細胞、個体等への圧力効果はかなり以前から種々の分光法等を用いて研究されて来ており、バロバイオロジーという研究分野に発展している。本研究では高圧力でタンパク質水和を変調させる新しい顕微観測法を開発した。これを用いて大腸菌べん毛モーターに応用し、圧力による回転方向の逆転と、速度変調に成功した。高圧力下ではべん毛モーターの構造変化から回転方向が逆転し、細胞外からの  $H^+$  結合反応が阻害され回転速度が低下したと解釈された。今後タンパク質の機能発現時における水分子の役割を可視化することを用いてべん毛モーターの回転に及ぼす圧力の作用の詳細な研究に応用されたい。圧力を変えることによって  $H^+$  や  $Na^+$  の流入が変調しモータータンパク質のトルクに影響を与えていることを明らかにしてはいるが何故 800 気圧でモーターの回転方向が逆転するのか解明してほしい。圧力の作用は水構造の変化や分子集合体の変化をもたらす。分子レベルの変化と分子システムの変化を区別して解明するには高圧力顕微鏡のみでは困難ではないだろうか。

「ビデオフレーム液中原子分解能AFMの開発」(福間剛士 研究者)

FM-AFM を高速化することで液中生体膜構造 (モデル膜) を原子分解能で 3D イメージングする方法を開発した。これには様々の要素技術の積み重ねがあつてこそ成功だと思う。脂質-水界面における水和層の構造を可視化出来ただけでなく、微小管中にあるチューブリン分子のヘリックス構造が見えるようになった。さらに技術改良によって時間分解能を高めてほしい。また、実際の生体膜とくにラフト構造も観測してほしい。とにかく画期的な成果を挙げつつあると言えよう。共同研究として理論家による計算シミュレーションも行っているの、そこからのフィードバックを実験に活かしてほしい。

「多周波電子核2重共鳴法による酸素発生機構の解明」(八代晴彦 研究者)

ESR プローブの改良によって多周波 ESR の高感度化に成功した。これによって整数スピン ( $S=2$ ) をもつデオキシヘモグロビンの ESR スペクトル測定に成功した。これは永年の課題が一応クリアされたといえるがその解釈は出来ていない。これは理論家との共同研究が必要であろうが。多周波 ENDOR もほぼ目処がついた。本研究の課題である光合成系の酸素発生中心である  $Mn_4-Ca$  クラスターの反応中間体で未解明のものの測定については今後に残された。2010 年にこのクラスター部位の X 線結晶構造解析がなされたが肝心の水分子の位置はわかっていない。これを本研究で開発された ENDOR で解決してほしい。我が国ではこのような難易度の高い ESR 測定出来る施設は無いので是非とも今後継続的に研究出来る拠点にしてほしいものだ。

「蛋白質工学的手法による細胞内環境の計測」(若杉桂輔 研究者)

ヒト脳内で見出されたニューログロビンがミオグロビン、ヘモグロビンサブユニットとヘム近傍構造が似ているにもかかわらず虚血・再還流による酸化ストレスによる細胞死を抑制する効果にニューログロビンの構造変化が必須であること、ヒトニューログロビンが三量体 G タンパク質  $\alpha$  サブユニットの GDP 解離阻害因子 (GDI) として活性をもち、これがニューログロビンの細胞死抑制に必須であることを実証している。また、魚類ニューログロビンが細胞膜貫通特性を持つことならびにそのメカニズムも解明している。さらには、ヒトニューログロビンとゼブラフィッシュニューログロビンとの間でモジュール (遺伝子上のエクソンに対応) 置換したキメラタンパク質を作成し、これを培地に加えるだけで細胞保護効果のあることを実証した。タンパク工学、生化学、構造生物学、分子細胞生物学などを融合した着実な研究の成果である。基礎的な研究で重要な成果を挙げているが、実用的価値もあるように思われる。ただし、課題に掲げている細胞内環境の計測との結びつきが希薄と思われる。今後はこの人工蛋白質を細胞内可視化技術と結びつけて酸化ストレスを計測出来るように期待したい。

## 10. 科学技術上の進歩に資する成果、社会・経済・文化的な価値創出への期待

本領域研究で遂行された研究はいずれも生命科学分野における基礎および応用上の進歩に確実に貢献する成果を挙げているといえよう。多くの研究は研究者らが自ら見出したシーズを基にして発展させた研究であり独創性に富んでいる。達成度も概ね60〜80（中には100）%と言えようか。いままで不可能であった計測分析が可能になって生命科学全体に大きな影響の可能性のある研究を敢えて選べば、例えば、上村想太郎研究者の研究が挙げられる。1分子計測にとどまらず1分子生物学という新しい分野に発展するであろう。加納ふみ研究者の研究も病態と細胞内変異とを結びつけるセミインタクト・リシール細胞技術の研究で、細胞を再構成出来る可能性を秘めている。生体分子をどんなに精緻に研究しても生命現象という複雑系の理解は難しい。細胞であっても再構成できればこれに近づけよう。これまでの要素分析から統合化というベクトルへの転換点になるかもしれない。

本領域研究はどちらかといえば基礎研究に重点を置いた。基礎研究においては独創的であればあるほど応用に繋がったときにはその影響は計り知れないことは歴史が示している。これ自体が社会・経済・文化的な価値そのものともいえる。MRI は2本の試験管中の水のプロトン NMR シグナルを識別するアイデア（傾斜磁場を用いる）から生まれたことを想起すれば基礎研究がいかに重要であるかは自明である。本領域研究には上記に挙げた例以外にもかなりの数の特筆すべき研究成果は見受けられるが、MRI に匹敵するものは今のところ残念ながら見当たらない。

## 11. 総合所見

課題選考についてはアドバイザーの専門分野にあまり偏ること無く行われたと思われる。出来る限り外部選考委員の協力を得て必ず申請内容の専門家が加わるようにしたことは適切であった。最終選考では総括から各選考委員に「この人に賭けたいか」と問いかけた。

研究現場訪問は研究者、総括双方にとって極めて有効であった。とくに、現場での研究協力者（大学院生など）への励ましは重要だと感じた。領域会議では時間の制約のために出来なかった研究遂行の詰めがかなり出来たように思う。とくに成果報告会前の総括による個人指導は、発表練習を行いつつ研究内容の最後の詰めに厳しく行ったため発表直前に良い結果が得られた場合があった。ほとんどの研究者にとって発表練習は学生時代以来初めてということであった。これは総括にとっても相当厳しい負担になったのであるが、研究内容の把握には良い機会にもなった。個人型研究といっても研究者1人で行っている所と大人数の大学院生を協力させている所まで研究室所帯に大小があり、これが成果の差となって現れているように見受けられた。

領域内研究者間の共同研究はかなり活発に行われていた（添付資料 6-1 共同研究活動

状況)。これには自発的なものが多かったが、総括やアドバイザーのサジェスションで行われることもかなりあった。アドバイザー抜き他領域との合同研究会も研究者の視野をさらに広げる役割を確実に果たしていたように思う。本総括は生命科学関連の他のさきがけ領域会議に積極的に出席して適切な研究者に合同研究会に誘うよう努めた。総合的に見て、現時点での研究領域の達成成果は概ね良好と考えている。

研究分野に関して、本領域では1分子計測研究(生物物理学)がかなり多かった。本研究領域の存在は生命科学の世界の潮流から鑑みて極めて適切であったといえよう。本領域は基礎研究に重点を置き、その成果は優れたものが多く、殆どの研究者が昇進異動または谷知己研究者のようにアメリカの著名な研究所(ウッズホール)から正規研究者として招かれている。

研究領域単位で研究を遂行する意義は(1)異分野交流が垣根を低くして出来ること、(2)領域会議がアドバイザーを含めた合宿の研究交流会になっており、いわば総括を中心とした「塾」となっていること、(3)(1)、(2)をとおして研究者間に仲間意識が芽生え、研究領域終了後も永く研究交流が続き易いこと、などが挙げられる。

最後に総括としてのその他の雑感を述べたい。種々の分野のアドバイザーの先生の方々が居られるとはいえ、総括自身が各研究者の研究分野を相当勉強する必要があり、また研究者からもいろいろと教えてもらった。知識の幅が随分広がったと思う。これは大学院での講義や研究会に充分フィードバックされた。また、総括はいわばオーケストラの指揮者とでもいえようか。各奏者の力量を最大限に発揮させつつ、自らは音を奏でることはしないが自ら設定した研究の狙いに沿って音楽(科学)という芸術を創造する。このような役割をさせていただいて本当に有意義であったと思う。領域事務所は欠かすことの出来ない存在である。とくに技術参事の存在は大きなものがあると思う。同時に、JST本部の方々にも感謝の意を表したい。

本総括は上村想太郎研究者をスタンフォード大に訪問した際、何人かの教授にJSTさきがけ事業について説明し、その感想を聞いた。全員がこの若手研究者支援システムを絶賛していた。ただし、さきがけ専任研究者の場合、3年終了後ポジションの獲得率はどうなっているのか、何故ポスドク(とくに外国人の)を雇えないのかの質問があったことを付け加えておこう。個人型研究とはいえ、研究協力者の国際化が課題として残る。