

公益社団法人 日本化学会 バイオテクノロジー部会

NEWS LETTER

Division of Biotechnology, The Chemical Society of Japan

Vol. 22, No. 2 (2019. 02. 01)

目 次

| | |
|-----------------------|-----------------------|
| ◆ 巻頭言 | 1 |
| | 竹山 春子 (早稲田大学) |
| ◆ 先端研究ウォッチング | 3 |
| | 上田 宏 (東京工業大学) |
| ◆ 若手研究者からのメッセージ | 12 |
| | ① 山口 哲志 (東京大学) |
| | ② 伊野 浩介 (東北大学) |
| | ③ 根岸 諒 (東京農工大学) |
| ◆ 海外の研究室から | 26 |
| | 太田 誠一 (トロント大学・現 東京大学) |
| ◆ 学会活動報告 | 30 |
| | 古谷 俊介 (産業技術総合研究所) |
| ◆ 各種研究会、国際会議から | 32 |
| | 中島 一紀 (北海道大学) |
| | 高原 茉莉 (北九州高専) |
| ◆ 編集後記 | 36 |
| | 神谷典穂 (九州大学) |

◆ 巻頭言 ◆

超スマート社会の後はバイオの時代？

第5期科学技術基本計画が、平成28年からスタートした。その中で、立案された計画のPDCAサイクルをまわしながらその実効性、効果を実証することが求められている。科学技術の発展がすさまじい速度で進む中、将来を予測した計画はその有効性に疑問もあり短いスパンでの再設計が余儀なくされる時代である。私たちの社会は「情報社会」から「超スマート社会」と変遷している。そして「超スマート社会」において新しい価値やサービスの構築とともに社会を経済的に発展させる Society 5.0 の取り組みが進められている。AI, IoT, ロボット等の最先端技術を取り入れた社会構築のために様々なイノベーションが必要とされている。エネルギー、食糧、健康、環境等、グローバルには SDGs に貢献するイノベーション (STI for SDGs) が重要視されている。

と、一気にここまで書いてはみたが、このような事柄を現場の研究者がどれだけ意識しているだろうか。分野によっては、敏感に反応しながら研究を転換しているかと思うが、Society 5.0 って？ SDGs って？ STI って？ という反応が返ってくることもある。さすがに、SDGs に関しては、それぞれの機関の執行部が中長期目標に記述するようになったことや、研究費申請で SDGs のどの分野に貢献するかを明記させられることがあることから浸透し始めている。しかしながら、私たちはどのようにこの社会を理解して研究を進めるべきなのか？

Society 5.0、超スマート社会の次はどのような社会になるのであろうか？ 何を予測して目標を設定すればよいのか？ という問いが多い。そして、「バイオ」の時代が来るとも言われている。しかしながら、そこで求められてる「バイオ」はどのようなバイオなのであろうか？ 是非、このバイオテクノロジー部会でもポスト超スマート社会のバイオを考え、新バイオの時代を作っていくことに貢献することが重要かと考える。

このように技術革新と構造変革が進む社会で重要なのが、人材であろう。人材育成では、政府的には、若手、女性が重要なキーワードとなっている。若手研究者の育成では、様々なプロジェクトが目白押しである。どのような人材育成が重要なのか、優秀な研究者像が多様化しているなかで、大学での学生の育成もよくよく考える必要がある。

スキルの的には、例えば、昨今のゲノム時代においては実験と情報解析の両方ができる人材がデフォルトとなっていくであろう。バイオと情報の分野融合というのではなく、どちらかに軸足があっても、両方を理解して研究を推進できるような人材が求められている。一方、科学技術政策を論じ、実際それらを動かす理系の博士号を持った人材が必要とされている。

国際的な駆け引きの現場にいかにか博士号を持った人材が少ないか、という日本の現状がある。科学技術政策を主導している現場で理系、博士人材が活躍しているかという点と非常に少数である。博士課程に進学する学生が少ないのはどの分野でも同様であるが、博士号取得後のキャリアパスの多様性と可能性をもっと見せる、さらには開拓する必要がある。

平成が終わり、年号が変わる。バイオテクノロジー部会は、何をすべきなのであろうか。

2019年1月 早稲田大学 理工学術院
先進理工学部 生命医科学科
竹山 春子

◆ 先端研究ウォッチング ◆

タンパク工学とケミカルバイオロジーによる免疫センサープローブの構築

東京工業大学科学技術創成研究院
化学生命科学研究所
教授 上田 宏

1. はじめに

血糖値測定用グルコースセンサーに代表されるバイオセンサーは、従来の時間と手間のかかる診断を誰でも簡便に実施可能にし、現在の長寿高齢化社会における健康寿命の延長に大きく貢献すると期待されている。その中でも特に抗体を用いたセンサー（免疫センサー）は原理的にターゲットを選ばない汎用性と性能（選択性、感度）の高さから注目されてきた。しかし従来の表面プラズモン共鳴法、QCM法などに基づくバイオセンサーは高価な装置を必要とする、定量性、安定性が悪い等の問題点があり手軽に利用可能な Point of care デバイス等への応用には難があった。

一方、生体内には細胞膜受容体など、リガンド結合によりその機能を活性化するセンサー機能を有する蛋白質が多く存在する。もし抗体にセンサー機能を付与できれば、より簡便で使いやすいバイオセンサ構築が可能になると考えられる。我々はこれまで、タンパク質工学とケミカルバイオロジーの方法論を用いて抗体自身を分子レベルでセンサー化する試みを行ってきており、ここではその「そもそも」の発想から最近の動向までを紹介させていただきたい。

2. オープンサンドイッチ法に基づく抗体センサー

釈迦に説法とは思われるが、現在行われている、抗体を使ったサンプル中の目的物質測定法（免疫測定法）の測定原理は大きく2種類に分けることができる。一つはサンドイッチ法で、マイクロプレートなどの固相に固定化した一次抗体と酵素標識二次抗体を組み合わせたサンドイッチ ELISA 法は、高い感度と特異性、広い測定濃度域をもち、免疫測定法の代名詞とも言える（図 1a）。しかし少し考えると、この方法には、二つの抗体で同時に結合出来ないほど分子量が小さい抗原は測定不可能、という原理的な限界と、最低2回の結合・洗浄ステップが必要で手間と時間がかかる、という実施上の短所も見えてくる。ではサンドイッチ法で測定できない低分子はどうするかというと、競合法と呼ばれる方法で測定する（図 1b）。競合法では、例えば固相に固定した抗体に対し、サンプルと酵素標識した一定量の抗原を加えて競争的に反応させ、洗浄後に残った標識抗原の量を酵素活性で検出することでサンプル中の抗原量を推定する。この方法ではうまく抗原を酵素標識さえ出来ればどんな抗原でも検量線を作って定量でき、反応洗浄ステップも各一回で済む。しかし、その検出感度は基本的

に抗体の結合能 (K_d 値) に支配されるため、結合能の高い抗体が絶対的に必要である。さらに実際に良い感度を出すには測定条件の検討が必須である。そのため、競合法は実際には低分子の測定にのみ用いられる。

我々はこのような従来法に対し、低分子が非競合的に検出可能な「オープンサンドイッチ法 (OS 法)」を考案しその実力を検証してきた (図 1c) ^[1,2]。OS 法では、Y字型の抗体そのものではなく、その二つの鎖の先端部分からなる可変領域のみを測定に用いる。といってもすでにあるタンパク質を切って使うより、この部分の遺伝子を用いて大腸菌でタンパク質を発現させることの方が多。ともあれ、可変領域を構成する二つの断片 V_H , V_L を用いると、低分子であってもこれらでサンドイッチして検出することができる、というのがこの方法の原理である。分かったことは、この方法だと多くの低分子を、競合法より高感度に広い濃度範囲で測定できる、ということであった。また、抗原量が増すとシグナルも増すので直観的に分かりやすい、という利点もある。

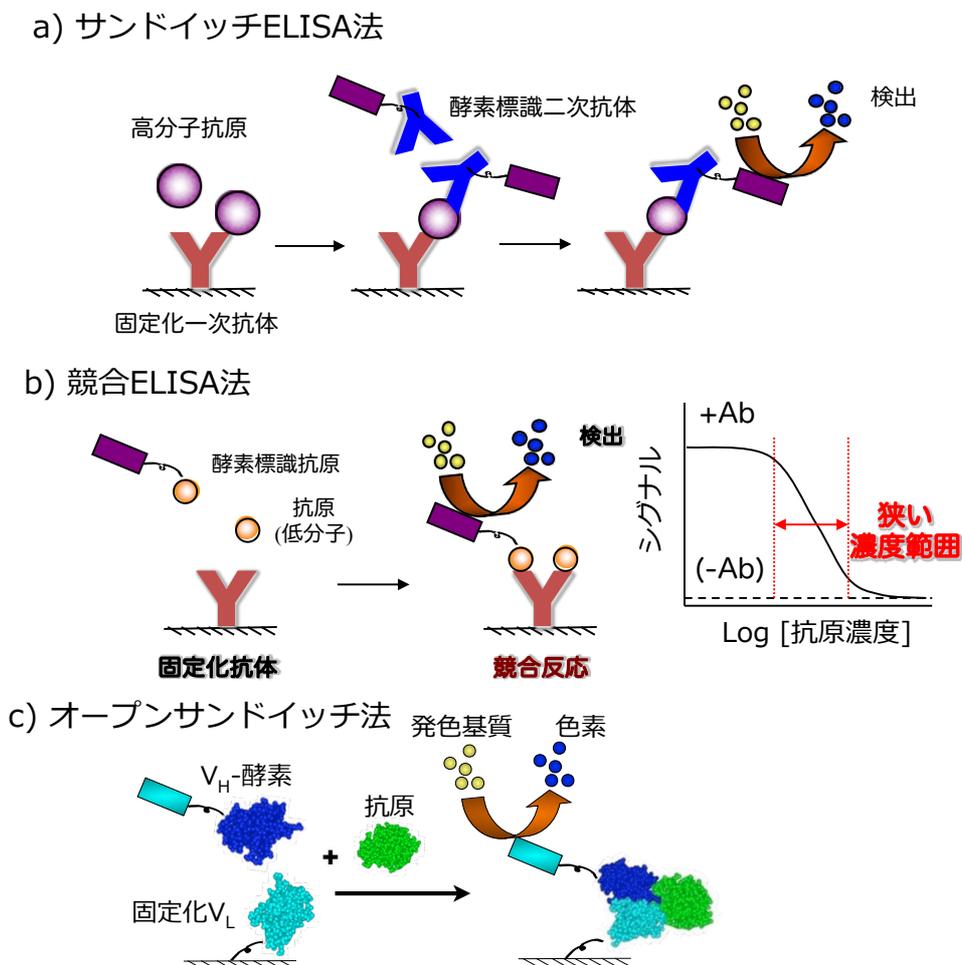


図 1. 免疫測定法の原理 a) サンドイッチ法は低濃度から高濃度まで、高い特異性で測定できる。反面、測定できるのは分子量が 1000 以上の高分子のみであり、必要なステップ数も多い。b) これに対して競合法は、低分子でも測定でき、ステップ数も少ない。但し、感度は低い。c) オープンサンドイッチ法は二つの可変領域を用いて抗原をサンドイッチするので、低分子でも非競合的に低濃度から検出できる。

3. OS 原理に基づく酵素免疫センサーの構築

我々は、これまでさまざまなアプローチで OS 法に基づく免疫センサーの研究を行ってきた。ここでは例として最近開発した酵素を用いた二つの方法、すなわち β グルクロニダーゼ変異体 GUSm と分割発光タンパク質 Nanoluc (Nluc) をレポーターとして利用する方法を紹介したい。

従来、細胞内のタンパク質間相互作用検出系として、4 量体タンパク質である大腸菌 β ガラクトシダーゼの二つの欠損変異体 $\Delta\alpha$ と $\Delta\omega$ をレポーターとして、それらにタンパク質ペアを融合させることでそれらのリガンド依存的相互作用による多量体化を検出する系が開発されている。また以前我々は、これらの二種類の β ガラクトシダーゼ変異体を抗体の VH/VL 断片にそれぞれ融合し、精製した 2 種類のタンパク質を溶液中で混合することで、抗原依存的な両者の会合を試験管内において高感度に測定することに成功している^[3,4]。しかし、これらのタンパク質は試験管内ではかなり不安定性で、活性検出のためには発光基質を使う必要があり、また活性の上昇率（シグナルバックグラウンド比, S/B 比）は 1.5~2.5 倍と実用的な測定にはやや問題があった。

そこで今回、類似の 4 量体タンパク質である大腸菌 β グルクロニダーゼ(GUS)の二量体間界面残基に相互作用を弱めるための変異(M516K/Y517E)を加えた GUSm を用いて、これに VH/VL を融合させた同様の系の構築を試みた (図 2)。この結果、溶液中で得られた融合タンパク質は不活性な二量体で存在し、これらに抗原である低分子 4-hydroxy-3-nitrophenacetyl (NP)あるいは骨疾患マーカーであるオステオカルシンペプチド BGP-C7 を添加することで、活性のある 4 量体の形成を誘導でき、結果、約 5 倍の最大 S/B 比を得る事ができた^[5]。

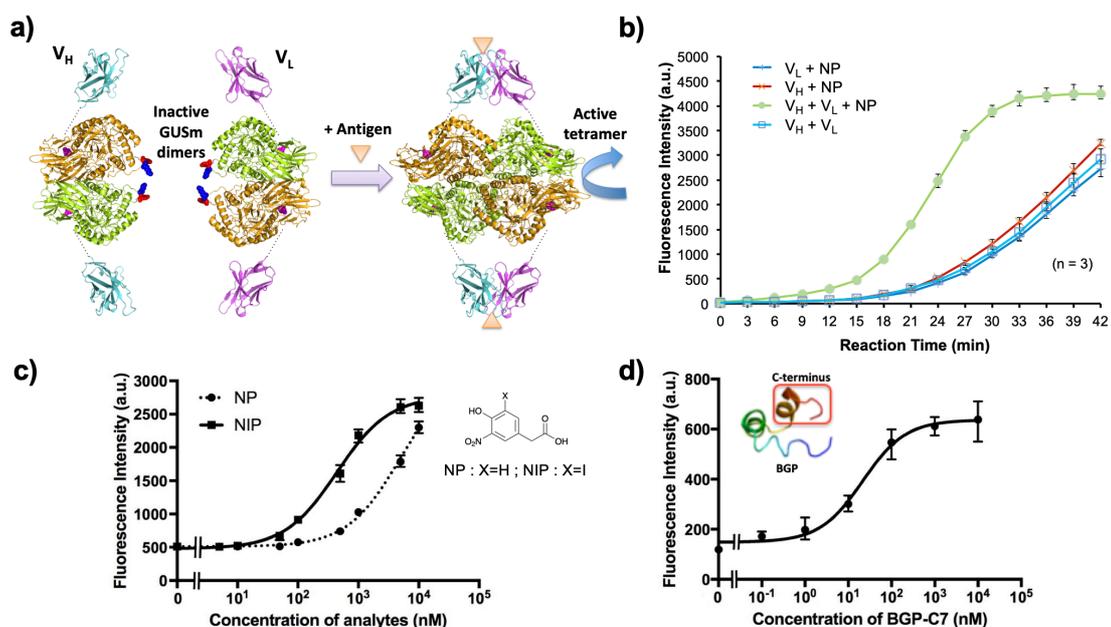


図 2. β グルクロニダーゼの抗原依存的再構成を利用したプローブ a) スキーム, b) 抗 NP 抗体を用いた場合の GUS 活性の時間変化。c) 反応開始後 20 分での NP/NIP (NP の高親和性アナログ) の検量線。d) オステオカルシンペプチド BGP-C7 の検量線。

この GUSm 系は前述の β -gal 系より安定性が高く、30 分以内に抗原濃度を発色あるいは蛍光で検出することが可能であった。さらに系の安定性を高めるため、最近我々は熱安定化された GUS 変異体に、最適な界面変異体を選択して用いることで、試薬と測定系の安定化と感度向上、最大 40 倍以上の S/B 比の獲得に成功した（蘇ら、第 18 回蛋白質科学会年会、特許出願中）。また、本系を用いたデジタル免疫測定系の構築も進めている。

またより一般性の高いタンパク質間相互作用検出法として、分割タンパク質をレポーターとする Protein-fragment complementation (PCA)法が、特に細胞内での相互作用検出に威力を発揮している。これまで、緑色蛍光タンパク質 GFP やジヒドロ葉酸還元酵素、 β ラクタマーゼ、ホタルあるいはウミシイタケ由来ルシフェラーゼなどを適切な部位で二つに分割し、相互作用を調べたいタンパク質ペアに融合させることで、それらの相互作用を蛍光あるいは酵素活性の増加として検出する系が開発されてきた。そこで我々は、最近開発されたホタル酵素より分子量が小さく(19 kD)、100 倍以上明るいと言われる発光酵素 NanoLuc (Nluc) を用いた PCA 系に基づく OS イムノセンサーの構築を試みた。

まずは細胞内での相互作用検出用に市販されている PCA 系である LgBiT-SmBiT 系⁶⁾を用いた OS 系の構築を試みた。なお LgBiT は Nluc の C 末 β ストランド 11 残基を除いた部分(1-169)を変異導入により安定化したもので、SmBiT は残り 11 残基の LgBiT とのアフィニティを相互作用検出が可能となる程度(190 μ M)に弱めたものである。我々は、オステオカルシン抗体 VH/VL をこれらの N 末側に結合させ、酸化的細胞質をもつ大腸菌 SHuffle T7 Express lysY を用いて可能な 4 種の融合蛋白質の発現を試みた。しかし、4 種のうち 1 種(チオレドキシシン Trx 融合 VL-LgBiT)は可溶性画分での発現が確認されず、残る 3 種のうち 2 種(VH-LgBiT, VL-SmBiT)を混合してその発光活性を調べても、発光の抗原依存性は全く見られなかった。おそらく VH と LgBiT が相互作用して、抗原と VL に結合できない状態になっていると考え、次に窮余の一策として、我々は LgBiT を C 末 β ストランド 11 残基を除いた部分(LnBiT と名付けた)と残りの 11 残基 LcBiT に分解し、VH を LcBiT に結合させて LnBiT 存在下での抗原依存的な 3 者複合体形成の検出を試みた (図 3)。

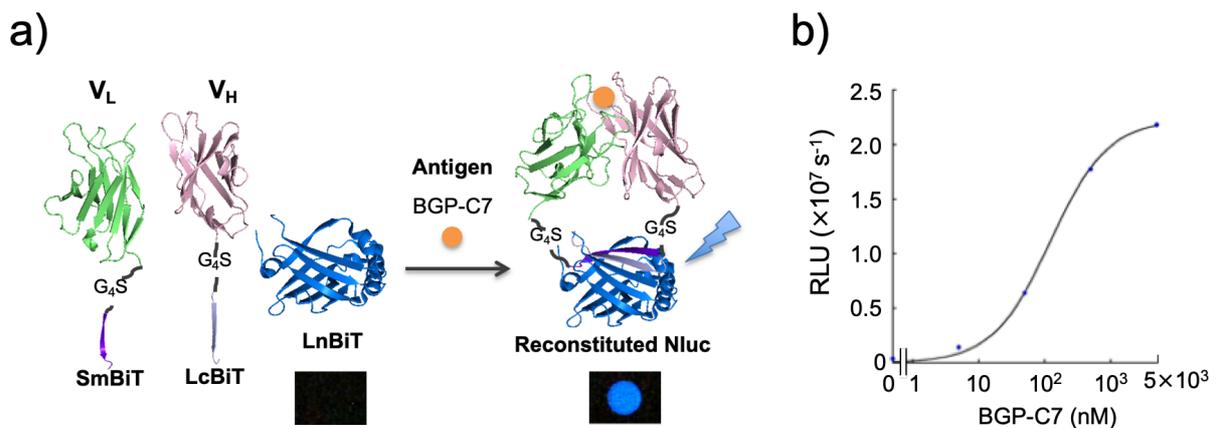


図 3. 3 分割 Nanoluc の再構成を利用したプローブ a) スキーム, b) 抗 BGP 抗体を用いた場合の検量線。

この結果、LnBiTは大腸菌発現用にコドン最適化を行った遺伝子を用いて、またVH-LcBiTについてもTrx融合蛋白質として大量に発現精製することができた。

これら3者を混合し、これに抗原BGP-C7を加えた所、発光値は同濃度のNlucの約0.3%以下と小さいものの抗原濃度依存的な最大70倍以上の発光増加が観察された。すなわち、低分子抗原の非競合発光検出に成功した。さらに、発光値の向上を狙ってDixonらにより報告されたLgBiTとの結合能がより高い数種のSmBiT変異体をVLに融合してみた。この結果、最も高い結合能($K_d=0.7$ nM)を持つSmBiT86(HiBiTとも呼ばれる)を用いることで、約300倍に最大発光強度が増加し、かつELISAに近い67倍の高いS/B比が保たれる事が分かった。なおこの発光は一時間以上安定で、50 nM以上のBGP-C7があれば肉眼でも観察可能であった(図3a)。

この他にも、我々は円順列変異を導入した β ラクタマーゼの末端間距離をOS法の原理で近づけることで、抗原を用いて酵素を活性化する(人工アロステリック酵素とする)ことにも成功している^[7,8]。

4. クエンチ抗体に基づくセンサーの構築

近年、筆者らが見いだした部位特異的蛍光標識抗体Quenchbody(Q-body)は、蛍光クエンチ現象を利用して低分子から高分子まで多くの抗原を洗浄なしに迅速高感度に検出できるという利点から、次世代免疫測定素子として期待されている。Q-bodyとは、部位特異的に抗原結合部位近傍にTAMRAなどのローダミン系色素で蛍光ラベルを施した一本鎖抗体(scFv: V_H と V_L をペプチドリンカーで結合させたもの)あるいはFab断片であり、抗原添加時にその蛍光強度を顕著に強まるものをいう。この現象は、一般に抗原非存在時には可変領域内における V_H/V_L 相互作用部位近傍のトリプトファン(Trp)に蛍光色素が近接し蛍光強度を低下させる(光誘起電子移動によりクエンチ状態になる)が、抗原結合時は可変領域が安定化し色素が外部に放出され、クエンチしなくなるために起きると考えられる(図4)^[9]。

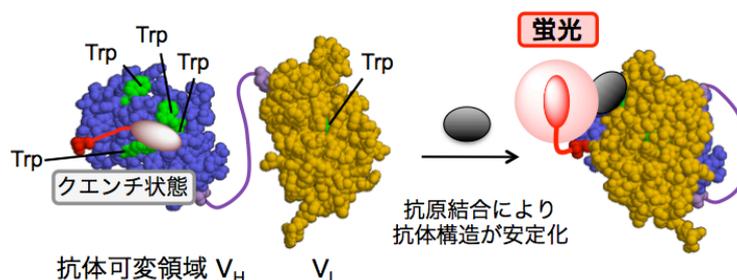


図4 scFv型Quenchbodyの動作原理

る V_H/V_L 相互作用部位近傍のトリプトファン(Trp)に蛍光色素

が近接し蛍光強度を低下させる(光誘起電子移動によりクエンチ状態になる)が、抗原結合時は可変領域が安定化し色素が外部に放出され、クエンチしなくなるために起きると考えられる(図4)^[9]。すでに薬物^[10]、農薬^[11]などの低分子化合物やペプチドホルモン、ウイルスや生理活性タンパク質、あるいはそのリン酸化修飾^[12]等を認識する多くの抗体をQ-body化し、迅速高感度検出に利用できることが確認されている。Quench現象に必要なTrp残基は、マウスをはじめとする各種の抗体で90%以上保存されていること、ローダミン類の多種類の色素が使える事、特にH鎖とL鎖の両方のN末に色素を導入したFab(その応答と安定性の高さからUltra Q-bodyとも呼んでいる)^[13]を用いることで高い応答で各種タンパク質を検出可能な事などから、本法は汎用的な簡便免疫測定技術となりうる。

ここでは、最近行った Ultra Q-body を用いた細胞表面蛋白質の検出例^[14]を紹介する（阪大薬・近藤昌夫准教授らとの共同研究）。クローディンは、タイトジャンクションに存在し細胞間接着を担う 4 回膜貫通型蛋白質であり、正常組織にも一定量存在する。一方、ある種のクローディンは癌細胞表面に過剰発現することから、がんマーカーさらには治療用ターゲットとしての応用が期待されている。我々は、各種クローディンの細胞外ドメインを認識するモノクローナル抗体を材料に、それらの Q-body 化による癌細胞可視化ツールの構築を試みた。クローディン 1 と 4 (CL1, CL4) を認識する計 6 種の抗体を用いて、H/L 両鎖の N 末に色素修飾用の Cys をコードする配列 (Cys タグ) を付加した Fab 断片を大腸菌 SHuffle T7 express lysY で発現させた所、特に CL4 認識クローンの高い抗原結合能が CL4 陽性細胞を用いたフローサイトメーター解析で確認された。そこでこれらを蛍光色素 TAMRA あるいは ATTO520 で標識して蛍光強度の抗原濃度依存性を確認した所、5A5 と 5D12 の二つのクローンで最大 2.5~3 倍の抗原依存的な蛍光増大が認められた。そこでこれらのうち PBS 中で高い応答を示した TAMRA 標識 Q-body,

およびネガコンとして通常の方法でアミノ基を AF488 で標識した 5A5 Fab を CL4 陽性あるいは陰性細胞に添加したところ、AF488 標識 Fab では高いバックグラウンド蛍光中弱い陽性細胞由来シグナルしか見えなかったのに対し、Q-body 添加時には洗浄操作なしで低いバックグラウンドで陽性細胞 (CL4 強制発現株あるいは CL4 陽性 LoVo 細胞) を確認できた (図 5)。

このように Ultra Q-body は一般に色素間のクエンチ (蛍光共鳴エネルギー移動 FRET あるいは H-dimer 形成) により応答が向上し、蛋白質検出における汎用性も高い。一方検出感度については抗体の K_d 値程度とやや低く、応答もやや遅い傾向がある。そこで我々は抗原結合部位に Trp を多く含む Her2 認識抗体を元にシングルラベル型 Q-body を構築して用いることで、Her2 陽性ガン細胞をより高感度に蛍光検出することにも成功している (Oka, Dong ら, submitted)。またさらに最近、VH 単独あるいはラクダ族由来の重鎖単鎖抗体 V_{HH} のようないわゆる Nanobody の Q-body 化にも成功しており、本技術の更なる広がりが期待される。

6. 天然抗体からのクエンチ抗体構築法の開発

これまで Q-body はその構築に遺伝子組換えを要する事から構築に手間と時間がかかり、研究ツールとしての利用が広がりにくい問題があった。我々はこの問題に対処するため、天然抗体すなわち動物あるいは動物細胞由来の抗体蛋白質を材料に、これらを簡便に Q-body 化する技術開発を進めている。具体的には抗体の N 末端あるいは可変領域を特異的に蛍光

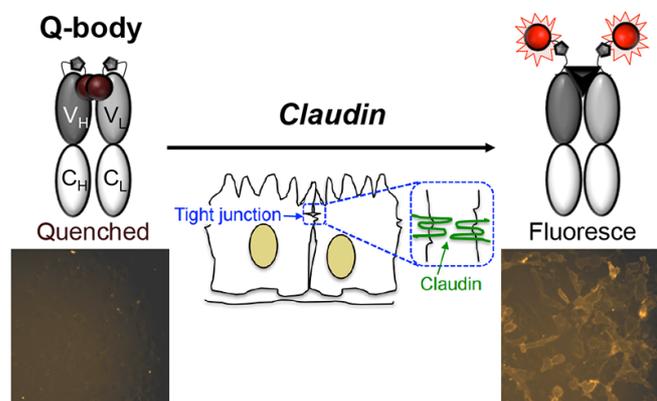


図 5. ダブルラベル Fab 型クローディンによる細胞イメージング

標識する方法の開発になり、これまで N 末端のアミノ基転移を利用した方法^[15]、抗体結合タンパク質を蛍光プローブ化して利用する方法^[16]、可変領域内に存在する核酸結合部位 (Nucleic acid binding site, NBS) への光化学修飾に基づく方法^[17]を報告しているが、いずれも材料としては今のところ主に組換え抗体を用いている (NBS 法を除く)。ごく最近、芳坂らにより市販のペプチドタグ認識抗体の N 末修飾法による Q-body 化が報告された^[18]。これらの方法に共通する課題は、狙った箇所のみを特異的に修飾する特異性と高い修飾率の両立である。今後、方法の更なる改良により、多くの抗体を迅速に Q-body 化できる時代が来る事が期待される。

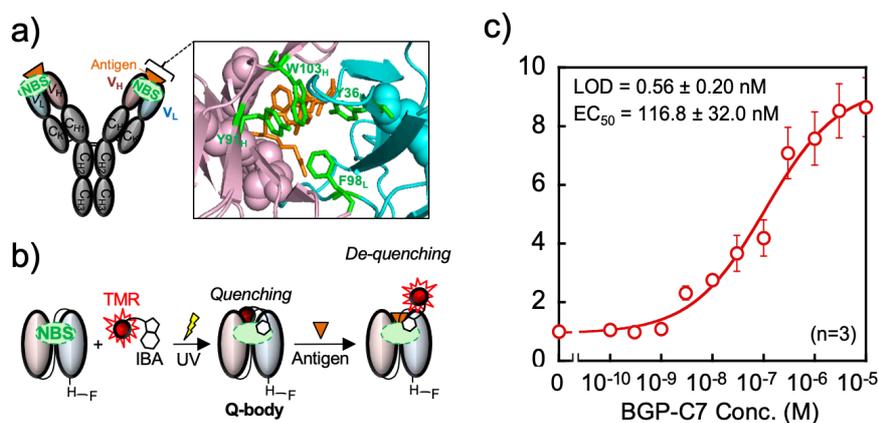


図 6. NBS(核酸結合部位)への色素修飾法による Q-body 作製^[17]
a) NBS の構造. b) 光化学修飾法の概要. IBA:インドール酪酸. c) 得られた検量線.

7. 蛍光タンパク質を用いた抗原センサー

抗体工学とケミカルバイオロジーの融合による Q-body 技術の進展により、細胞の外側にある抗原の洗浄なし蛍光イメージングはすでに可能となっている。一方、より関心が持たれるであろう細胞内抗原のイメージングに関しては、蛋白質導入試薬の進歩により障壁は下がりつつあるものの、その後の個体への応用など種々の理由で遺伝子コード型蛍光プローブが望まれる場合も多い。しかし抗体を遺伝子から発現させプローブ化するためには、還元的な細胞質で正しく fold して機能する細胞内抗体(intrabody)を用い、さらに抗原の有無で融合した蛍光蛋白質のスペクトルが変化するようなプローブ設計を行う必要がある。これを可能にしたのが Flashbody (東工大・北口哲也准教授との共同研究)である^[19]。

今回の Flashbody は、抗オステオカルシン抗体認識一本鎖抗体 VH/VL の間のリンカー部分に円順列変異導入緑色蛍光蛋白質(cpGFP)を挿入した構造になっている。これにより抗原結合に伴う VH/VL の構造 (位置関係) 変化を、cpGFP の末端近傍にある Tyr を含む発色団の蛍光量子収率変化として検出している。しかし、現状ではこれを分子設計のみで構築する事は難しく、VH-cpGFP-VL をつなぐリンカー残基の数と種類を変えた変異体が大腸菌で発現、スクリーニングすることで、試験管内において最大 4 倍の蛍光応答変化を示すプローブを得る事ができた。

この Flashbody は大腸菌内で発現・選択したものであるが、幸運なことに動物細胞の細胞質でも機能した。すなわち、flock house virus 由来細胞膜貫通ペプチド CPP を付加した抗原

BGP-C7 を細胞外から与えた際、細胞質に Flashbody を発現させた HeLa 細胞ではこのペプチドが細胞内の特定の部位(nucleation zone, NZ)を通して細胞内に侵入する様子をリアルタイムに観察することができた。また核に Flashbody を発現させた細胞では、おそらく核膜を通して輸送されたと思われるゆるやかなペプチド濃度上昇が観察された。比較のために単にタンデムに EGFP を結合させた scFv を発現させた場合には、わずかな細胞内蛍光分布の変化しか見られなかったことから、Flashbody のイメージングプローブとしての有用性が示唆された。現在、他の低分子認識抗体の Flashbody 化も進めている。

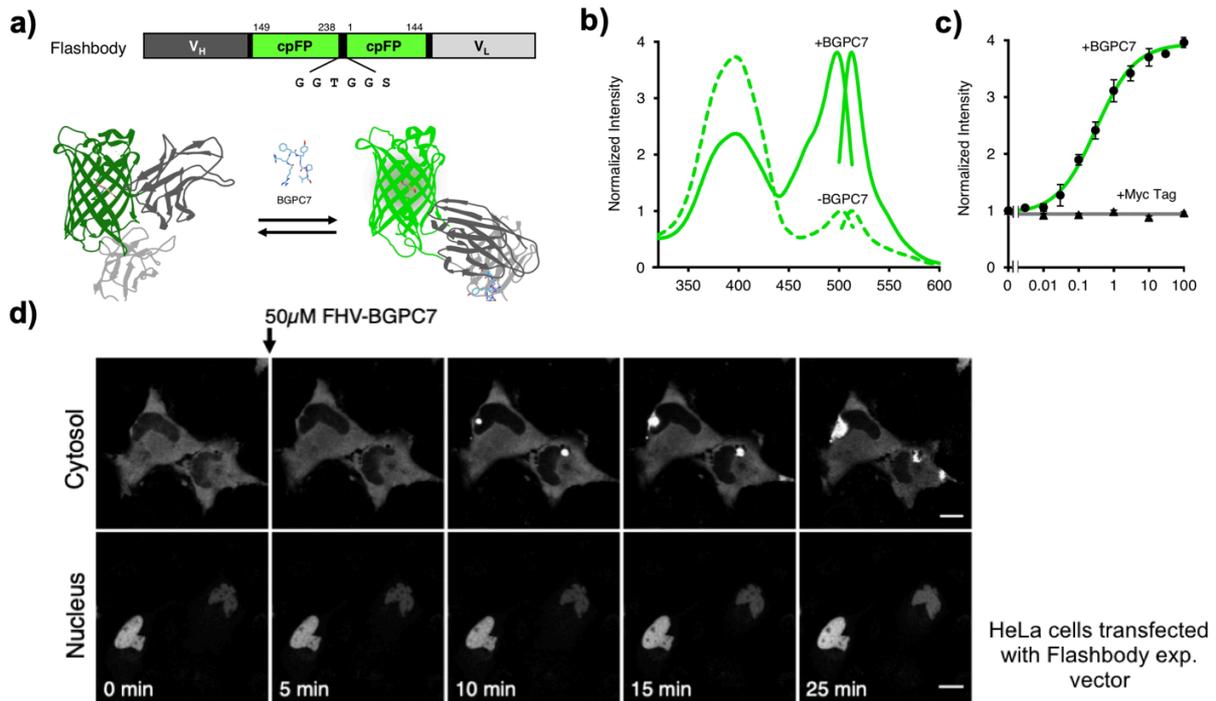


図 7. 遺伝子コード型蛍光抗体プローブ Flashbody a) 構築した Flashbody の一次構造とモデル b) 抗原存在下, 非存在下の蛍光励起スペクトル. c) 480 nm 励起時の蛍光強度の抗原濃度依存性 d) 細胞内抗原検出。細胞質局在プローブにより NZ を可視化できた。

おわりに

現在、細胞内外で利用可能な検出プローブの開発は化学者によるケミカルバイオロジー的アプローチと生命工学者による蛋白質工学的アプローチの両者が競い合う競争の激しい分野である。独自の検出原理をベースとする我々のアプローチは、低分子から高分子まで簡便迅速に検出可能、天然に適した結合蛋白質がなくてもプローブを構築可能というメリットがある。さらに蛍光シグナルを発光と組み合わせることなどで簡便なデバイス構築、あるいは体内のがん細胞検出等が可能になれば、より幅広い応用が可能になると期待している。

参考文献

- [1] Ueda H., et al., *Nat. Biotechnol.*, 1996, 14, 1714-1718.

- [2] Dong J. and Ueda, H. (2017). Open sandwich immunoassay and its applications. In *Advances in Medicine and Biology* (Berhardt, L. V., ed.), Vol. 125, pp. 123-159. Nova Science Publishers Inc., New York.
- [3] Yokozeki T., et al., *Anal. Chem.*, 2002, **74**, 2500-2504.
- [4] Ueda H., et al., *J. Immunol. Methods*, 2003, **279**, 209-218.
- [5] Su J., et al., *Analyst*, 2018, **143**, 2096-2101.
- [6] Dixon A. S., et al., *ACS Chem. Biol.*, 2016, **11**, 400-408.
- [7] Iwai H., Kojima-Misaizu, M., Dong, J. and Ueda, H., *Bioconj. Chem.*, 2016, **27**, 868-873.
- [8] Kojima M., et al., *Bioconj. Chem.*, 2011, **22**, 633-641.
- [9] Abe R., et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**, 17386-17394.
- [10] Sasao A., et al., *Drug Test. Anal.*, 2018, **in press**.
- [11] Zhao S., et al., *Anal. Bioanal. Chem.*, 2018, **410**, 4219-4226.
- [12] Jeong H.-J., et al., *Biosens. Bioelectron.*, 2013, **40**, 17-23.
- [13] Abe R., et al., *Sci. Rep.*, 2014, **4**, 4640.
- [14] Jeong H.-J., et al., *Anal. Chem.*, 2017, **89**, 10783-10789.
- [15] Dong J., Jeong, H.-J. and Ueda, H., *J. Biosci. Bioeng.*, 2016, **122**, 125-130.
- [16] Jeong H.-J., et al., *Anal. Methods*, 2016, **8**, 7774-7779.
- [17] Jeong H.-J., et al., *Chem. Commun.*, 2017, **53**, 10200 - 10203.
- [18] Fukunaga K., et al., *Chem. Commun*, 2018, **54**, 12734-12737.
- [19] Wongso D., Dong, J., Ueda, H. and Kitaguchi, T., *Anal. Chem.*, 2017, **89**, 6719-6725.

上田 宏 (うえだ ひろし)

東京工業大学 科学技術創成研究院 化学生命科学研究所 教授

1991年7月 東京大学大学院 工学系研究科

博士課程修了 博士(工学)

1991年7月 東京大学工学部 化学工学科 助手

1997年7月 同大学院工学系研究科 化学生命工学専攻 講師

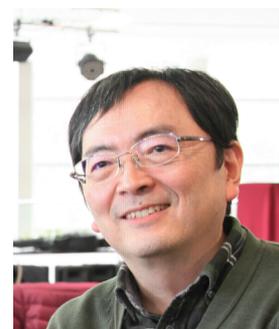
1998年4月 英国 MRC Centre for Protein Engineering
客員研究員(Dr. Greg Winter 研) ~2000年3月

2001年1月 東京大学大学院 新領域創成科学研究科 先端生命科学専攻 助教授

2003年5月 東京大学大学院 工学系研究科 化学生命工学専攻 助教授 (准教授)

2013年2月 東京工業大学 資源化学研究所 教授

2016年4月 現職



◆ 若手研究者からのメッセージ ◆

東京大学先端科学技術研究センター

岡本研究室

講師 山口 哲志

はじめに

基礎研究から再生医療までの幅広い分野において、基材表面と細胞との相互作用を自在に制御できる刺激応答性材料が有用である。そこで、熱や光、電気など、様々な外部刺激によって細胞との相互作用を制御する材料が開発されてきた。中でも、光照射は時間的・空間的な分解能が高く、1 細胞レベルの精度で選択的に鋭いオンオフ制御が可能である。また、波長を適切に選べば細胞毒性も低い。従って、光応答性の細胞接着表面の開発が盛んに行われてきた^[1,2]。我々も、ポリエチレングリコール (PEG) 脂質を基本骨格とした光応答性の細胞固定化剤を開発してきた。PEG に脂質を修飾した化合物は、自発的に脂質二分子膜と相互作用するため、基板表面に修飾すると、どんな細胞も表面に固定できる。一方、これまでに報告されてきた光応答性細胞接着表面は、細胞自身の生物学的な接着性を利用するため、接着細胞にしか応用できなかった。そこで、我々は、光分解性の PEG 脂質を設計・合成し、任意の細胞の固定化を光制御する技術を開発した^[3]。また、この技術を用いて 1 細胞アレイを構築し、細胞の表現型を単一細胞ごとに定量解析したり^[4]、膜受容体の細胞内動態を 1 細胞解析したりしてきた^[5]。また、最近では、PEG 脂質に光異性化する官能基を付与し、異なる二波長の光で細胞の固定化と脱離とを誘起する光スイッチング型 PEG 脂質の開発にも成功した^[6]。本稿では、これらの成果について紹介するとともに、自由に意見を書いて良いという本企画の主旨に則り、化学を用いたバイオテクノロジー研究についての思いも少し書きたい。

光分解性 PEG 脂質の開発と応用

PEG 脂質を基板に修飾すると、基板表面に提示された脂質と細胞膜とが相互作用し、細胞が修飾表面に瞬時に固定される。特に、脂質としてオレイル基を用いると、強固に固定される。我々は、光応答性を付与するために、PEG とオレイル基との間に光分解性のリンカー構造を挿入した化合物を設計・合成した (図 1A 上)。リンカーのない従来の PEG 脂質と同様に、この化合物を修飾した基板には細胞が短時間で固定された。一方、この基板に紫外光 (365 nm) を照射すると、リンカーの分解に伴ってオレイル基が PEG 鎖からはずれ、細胞と非接着性の PEG が露出する (図 1A 下)。実際に、はずれたオレイル基を洗浄除去した後に細胞を作用させると、光照射を施した表面には細胞が固定されなかった。従って、この化合物で基板表面を被覆し、細胞を固定したい場所以外に光を照射することによって、自由に細胞パターンを作製できる技術が創出できた。さらに、この基板上に固定した細胞は、PEG 脂質の光分解により、基板表面から取り外すことができる (図 1A 下右)。我々は、光分解性 PEG

脂質を修飾したマイクロ流路の底面に、非照射領域がドットパターンになるように光を照射し、浮遊細胞であるマウス **proB** 細胞株 **BaF3** 細胞の細胞クラスターアレイを作製した (図 1B 左)。このアレイ上の特定の細胞クラスターに光を照射したところ、照射した細胞のみが選択的に基板から遊離する様子が観察された (図 1B 右)。このように、光分解性 PEG 脂質は、細胞のマイクロパターン形成や選択的な回収に応用可能である^[3]。

この光分解性 PEG 脂質表面を用いて 1 細胞アレイを作製し、血球系浮遊細胞の形態変化を網羅的に解析した^[4]。血球の形態変化は走化性と強く相関し、その定量的な解析は抗炎症剤の評価や免疫療法の研究に直結する。しかし、浮遊している状態では細胞の移動や回転により形態変化の定量解析ができない。一方、光分解性 PEG 脂質を用いた 1 細胞アレイ上では、細胞底面が基板の上に捕捉され、移動や回転を止められる。さらに、側方や上方への細胞の形態変化は制限しない。実際に、リガンドが作用すると運動性が大きくなる遺伝子を導入した細胞と導入していない細胞とを同数混ぜて 1 細胞アレイを作製し、リガンド添加時の応答を調べたところ、約半数の細胞の形状が変形する様子を観察できた。画像解析の結果、遺伝子導入細胞を、形態変化率を指標に識別できた (図 1C)。このように、本 1 細胞アレイ上では従来にないパラメータも定量でき、創薬や細胞診断の有用なツールになり得る。

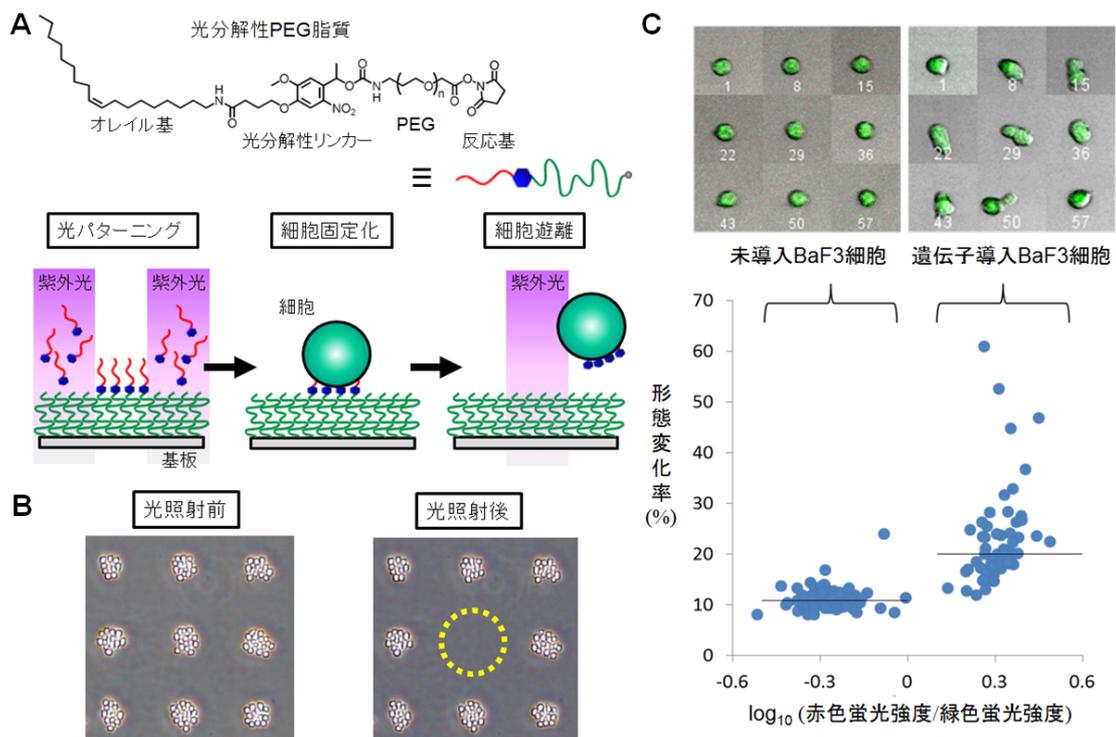


図 1 (A) 光分解性 PEG 脂質の構造式と修飾表面上での細胞の光操作の概念図。(B) 照射前後での細胞クラスターアレイの顕微鏡像 (黄丸：光照射領域)。(C) リガンド刺激時の細胞の顕微鏡像 (数字は経過時間) とその形態変化率 (遺伝子導入細胞は赤色蛍光)。

光スイッチ型 PEG 脂質の開発

上記の我々の研究成果も含めて、細胞の脱離と固定のどちらか一方を光誘起する材料は多

く報告されているが、異なる二波長の光を用いて脱離と固定のどちらも誘起できる光スイッチ型の細胞固定化剤はほとんど報告されていない^[2]。特に、細胞の接着性を利用せず、任意の細胞に応用可能な技術は皆無である。そこで、PEG 脂質骨格を用い、任意の細胞と基材表面との相互作用を光によってスイッチできる化合物の開発を試みた。我々は、これまでの研究の中で、PEG 末端に修飾する脂質部分の疎水性に応じて、PEG 脂質修飾表面と細胞との相互作用が変化することに気が付いていた。疎水性が高いと細胞を固定できないこと、ただし、PEG 脂質を低濃度で修飾すると疎水性が高過ぎても固定できることから、疎水性が高過ぎると脂質部分同士が基板上で凝集して細胞膜と相互作用しなくなるのではないかと、という仮説を立てた。この仮説に従うと、脂質部分の疎水性を光照射に応じて可逆的に変えることができれば、光スイッチ型の PEG 脂質修飾表面が開発できる。ここで、我々は光異性化に伴って疎水性が変化するスピロピランに注目した。スピロピランは、紫外光を照射すると開環して疎水性の低いメロシアン (MC) 構造をとり、可視光を照射すると再度閉環して疎水性の高いスピロピラン (SP) 構造に戻る。PEG 脂質の脂質部位にスピロピランを導入すれば、疎水性の高い SP 構造時に脂質部位が凝集して細胞膜と相互作用しないが、MC 構造に変換すると凝集が解けて細胞膜と相互作用するようになると考えた (図 2A) ^[6]。

まず、PEG とオレイル基との間に分岐リンカーとしてリジン構造を挿入し、プロピオン酸構造を介してスピロピランを導入するプロトタイプの化合物 (図 2B、[0Sp2]-NHS) を設計・合成した。この化合物を基板表面に修飾し、紫外光 (360 nm) または可視光 (520 nm) を照射後、BaF3 細胞を作用させ、表面に捕捉された細胞の数を定量した。その結果、固定化力を「オフ」にするはずの可視光照射によっても細胞が固定された (図 2C)。これより、プロトタイプでは、「オフ」の SP 構造時の疎水性の高さが不十分であると考え、より疎水性の高い 5 つの化合物を合成して同様の実験に供した。その際に、既報の計算プログラムを用いて化合物の疎水性部位の $\log P$ 値 (疎水性を表すパラメータ) を計算し、SP 構造時の疎水性がプロトタイプよりも大きくなるものを設計した。本稿では、紙面の都合上、特徴的な化合物の結果のみを紹介する。まず、スピロピラン構造を二つ導入した 2[0Sp2]-NHS は、計算上最も疎水性が高かった。この化合物では、プロトタイプとは正反対に、疎水性が高過ぎてどちらの光を照射した表面でも細胞が全く固定されなかった (図 2C)。これらの中間の疎水性を持つ化合物の中で、スピロピランとリジン構造とをつなぐリンカーを長くすることによって疎水性を強めた化合物の 1 つ ([0Sp6]-NHS) が、望み通りのきれいなオンオフ制御を示した (図 2C)。他の化合物の結果と併せて考察したところ、 $\log P$ 値が 10.5 程度に細胞固定の閾値があり、最適な [0Sp6]-NHS は、光異性化反応によって計算上この値を「またぐ」ことができる。さらに、ポリマー主鎖とのリンカーの長さが長い化合物の方が光異性化しやすく、分光学的解析において、[0Sp6]-NHS が最も効率よく MC 構造へと変換された。つまり、光異性化によって設計通りに大きく疎水性が変化して、オンオフの閾値を十分にまたぐため、この [0Sp6]-NHS は光スイッチを実現できたと考えられる^[6]。

この最適化した修飾表面を用いて空間的な制御を試みたところ、紫外光照射領域のみへの選択的な固定や (図 2E 左)、可視光照射領域のみからの選択的な脱離が可能であった (図 2E 右)。また、本手法を用いて細胞を固定・脱着させた細胞の生存率を調べたところ、未処理の細胞と全く同じであった。さらに、紫外光と可視光とを交互に照射して細胞の固定と脱着を繰り返し行ってみた。その結果、スピロピラン構造の光による鈍化によって、細胞の固定量は次第に低下するが、10 回程度のオンオフ制御に成功した (図 2D)。今後、本光スイッチ型表面が 1 細胞レベルの操作にも応用可能であるかを調べる必要はあるが、1 細胞イメージング解析に基づく細胞ソーティングなどへの応用が期待される。

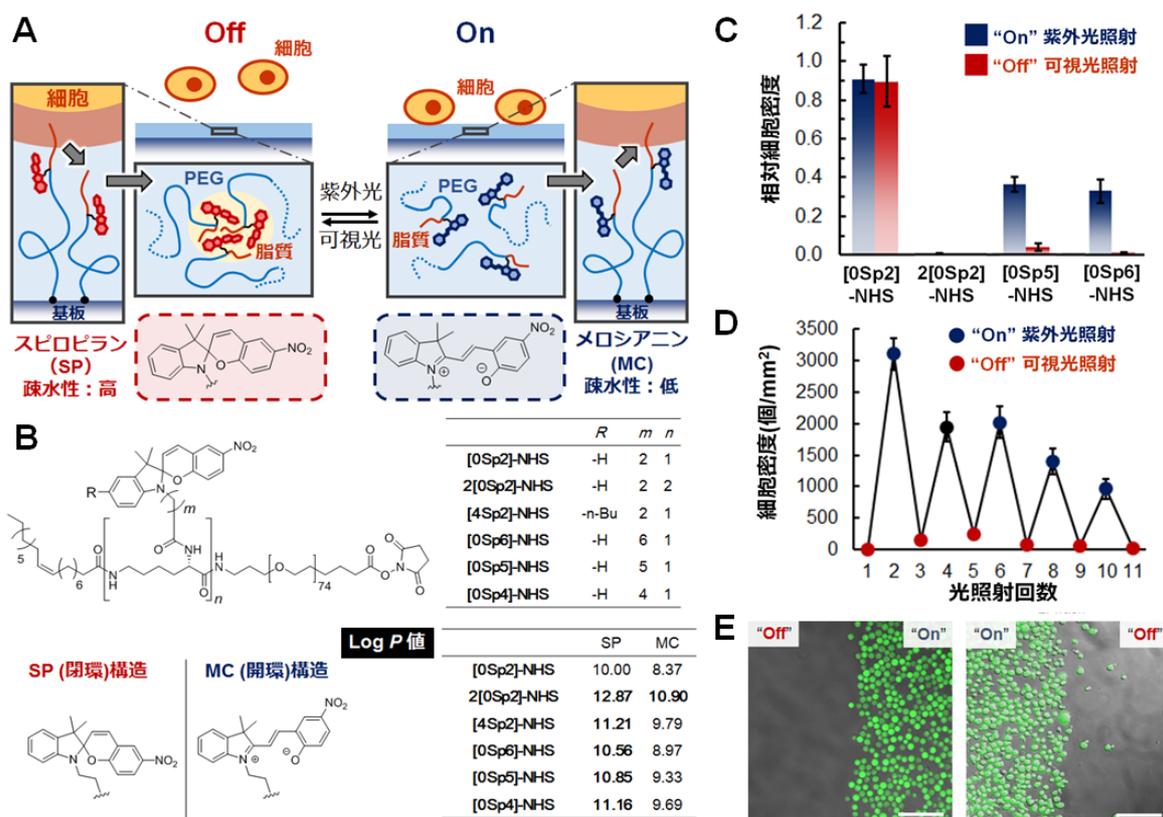


図 2 (A) 光スイッチ型 PEG 脂質の設計指針の概念図。(B) 候補分子群の構造式と $\log P$ 値の計算値。(C) 光照射後に修飾表面上に固定された細胞の相対密度。(D) 繰り返し光照射後の細胞密度。(E) 右側半分で細胞固定 (左) および細胞脱離 (右) をさせた後の顕微鏡像。

おわりに

私は、もともと有機合成化学を全く用いない生物学系の研究室に卒論研究で配属され、市販の化合物だけを添加剤として用いて、タンパク質の凝集を抑制する方法を研究していた。大学院生時代に、望みの物性を有する添加剤を自分の手で合成できればより良い方法が開発できると考え、有機合成化学の研究室の門を叩いた。生物学の研究室に籍を置いたまま、4 年間、毎日有機合成に明け暮れ、学位取得後も、有機合成の研究室でポスドクとして修業を積んだ。多くの失敗と幾つかの成功を体験する中で、苦勞して望みどおりの機能を創出できた時の「喜び」と、思いがけない機能が偶然創出された時の「興奮」に魅せられた。市販の

化合物の中から選ぶことしか出来なかった研究開始時の境遇が、自分で自由に設計・合成できることの素晴らしさをより一層強く感じさせたように思う。

それから10年以上、現在も有機合成化学をツールとして新しいバイオテクノロジーを創出する研究に従事している。「若手のベテラン」の域に達し、なかなか自分の手そのもので合成する機会が無くなってきたが、依然として、学生さんの成果を通じて日々上述の「喜び」と「興奮」が絶えない。特に今回ご紹介した二つ目の成果には、喜びと興奮が満ち溢れていた。投稿論文の査読者から、「バイオテクノロジーとして実用的な意義やインパクトが足りない。」という内容の辛辣なコメントを頂くと、一瞬落ち込みはした。しかし、ハイインパクトの雑誌に断られたとしても、分子構造のほんの少しの違いに由来する物性や機能の異なりを知った瞬間の「なるほどね」という自分の中の感動は色褪せない。分子開発における試行錯誤は、発見や感動を必ず創出してくれる。そのような小さな科学的発見の積み重ねが大きなブレークスルーにつながり、学生さんと共有する感動の積み重ねが人材育成につながるのだと信じたい。また、本部会を含む日本化学会での活動を通じて、興味や志を同じくする多くの諸先輩方・同世代の仲間・後輩諸君とお互いの発見や感動を共有できる幸せも感じており、拙筆の末尾で大変恐縮ですが、運営に関わられている先生方に心より感謝申し上げます。

参考文献

- [1] Nakanishi, J., Kikuchi, Y., Takarada, T., Nakayama, H., Yamaguchi, K., Maeda, M, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 16314–16315.
- [2] Liu, D., Xie, Y., Shao, H., Jiang, X, *Angew. Chemie. Int. Ed.*, 2009, **48**, 4406–4408.
- [3] Yamaguchi, S., Yamahira, S., Kikuchi, K., Sumaru, K., Kanamori, T., Nagamune, T., *Angew. Chemie. Int. Ed.*, 2012, **52**, 128–131.
- [4] Yamahira, S., Yamaguchi, S., Kawahara, M., Nagamune, T., *Macromol. Biosci.*, 2014, **14**, 1670-1676.
- [5] Tan, M., Yamaguchi, S., Yamahira, S., Nakamura, M., Nagamune, T., *Lab Chip*, 2017, **31**, 1933-1938.
- [6] Izuta, S., Yamaguchi, S., Kosaka, T., Okamoto, A., *ACS Appl. Bio Mater.*, *in press*.

山口 哲志 (やまぐち さとし)

東京大学 先端科学技術研究センター 岡本研究室 講師

2004年3月 東京大学大学院 工学系研究科

博士課程修了 博士(工学)

2004年4月 九州大学 先端物質化学研究所 博士研究員

2005年8月 京都大学 工学研究科 博士研究員

2006年4月 東京大学 工学系研究科 特任助教、後に助教

2013年2月 現職



はじめに

筆者は生物工学の分野で博士号を取得し、現在は電気化学の分野を研究している。学生時代には馴染みが薄かった電気化学であるが、学んでみるとバイオ分野における電気化学は重要な学問分野であることに気付いた。そこで本稿では、バイオ分野における電気化学と、筆者の研究（電気化学バイオセンサ）を紹介する。

電気化学とは？

電気化学は電子の授受を伴う化学現象を扱う学問である。したがって、物理化学や無機化学などのあらゆる化学分野と深い関わりがある。電気化学はボルタによる電池の原型の発明（1800年）が始まりと言われている^[1]。この発明はガルバニの研究に端を発している。ガルバニはカエルに2つの電極を設置すると、カエルの足が痙攣することを発見した。ボルタは、この原因は金属が水に溶け際の化学反応であると考え、ボルタの電堆を作製して電気エネルギーを取り出した。これは化学物質から電気を得た世紀の大発見であった。これを用いた電気分解により様々な元素（KやMgなど）が分離・単離されており、電気化学が近代科学に与えた影響は大きい。

現在、電気化学は電池、メッキ、工業電解、半導体などの多岐に渡る分野で活躍している。また、この生物機能と電気化学を合わせた研究領域は生物電気化学と呼ばれており、電気化学に立脚した生体の解明が行われている。この他に電気化学はバイオセンサとして広く利用されている。例えば、市販されている血糖値センサの多くは電気化学に基づいている。さらに、マイクロ・ナノメートルサイズの電極が用いられており、優れた電気化学計測システムとして利用されている。次の項目では微小電極を用いた電気化学センサについて述べる。

微小電極を用いた電気化学センサ

微小電極の優れた特徴として、測定感度が良いことが挙げられる。これは、図1で示すように、計測対象物が3次元拡散で拡散して反

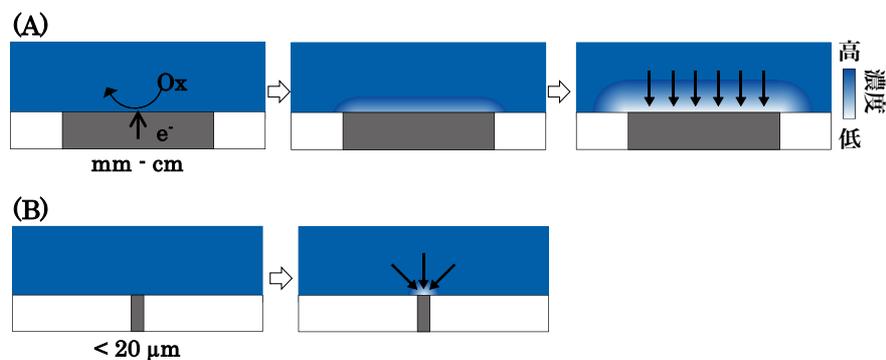


図1 微小電極の特徴。(A) マクロ電極。(B) 微小電極。

応するため、電流密度が高くなるからである。微小電極を用いる利点を以下に簡単にまとめる^[2]。

- (1) 局所計測が可能。
- (2) 3次元拡散により、高感度計測が可能。
- (3) 定常電流が得られる。
- (4) 高速な化学反応速度を測定できる。
- (5) 微小電極の組み合わせで、シグナルを増幅できる。

(5) の例として、2 個の電極を向かい合わせたナノ流路電極デバイスが挙げられる (図 2) ^[2]。それぞれの電極に適切な電圧を印加すると、一方の電極で

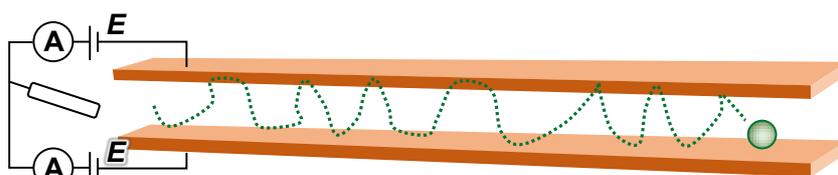


図 2 ナノ流路電極デバイスを用いた 1 分子電気化学検出^[3]。日本化学会から転載許可。

反応したレドックス種をもう一方の電極で再生できるため、電流値を増大させて感度を向上できる。例えば 1 分子検出が可能である^[4]。次の項目では、微小電極を用いた電気化学計測デバイス・システムについて述べる。

電気化学計測デバイス・システム

現在、チップデバイスやプローブデバイスといった様々な電気化学計測デバイス・システムが開発されている (図 3) ^[5-7]。例えば、走査型電気化学顕微鏡 (SECM) が挙げられる。SECM ではサンプル近傍で微小電極を走査して、サンプル近傍で起こる化学反応や化学種を電流値に変換して、イメージングできる。現在、nm サイズの電極が報告されており、高解像度の電気化学イメージが可能になっている。

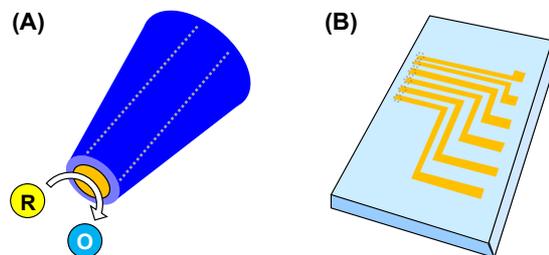


図 3 電気化学デバイスの例^[6]。(A) プローブタイプ。(B) チップタイプ。

Reproduced from the Royal Society of Chemistry ©2017.

多数のサンプルをハイスループットに計測する

ためには、多くの電気化学センサを配置したチップデバイスが開発されている。特に集積回路技術を用いたデバイスにより、高感度化・高密度化が達成されている。次の項目では、これらの電気化学デバイスを用いた細胞機能解析を紹介する。

電気化学センサを用いた細胞機能解析

電気化学センサを用いると細胞が持つ分泌物や呼吸活性、酵素活性などの様々な細胞機能

を計測できる (図 4)。これにより再生医療における効率的な治療や細胞の品質管理が期待できる。この他に、細胞をセンサ素子とした環境モニタリングセン

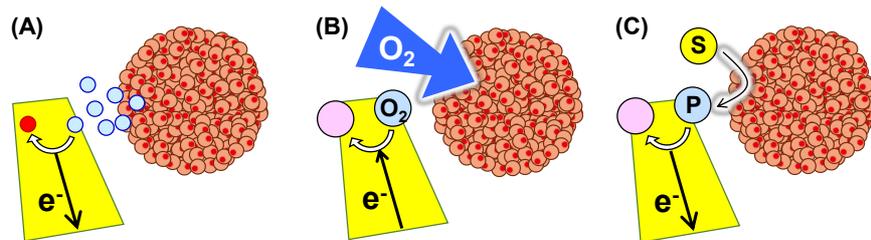


図 4 細胞計測の例^[7]。(A) 分泌タンパク。(B) 酸素消費。(C) 酵素活性。Reproduced from Elsevier ©2017.

サが提案されている。測定対象によっては、非標識で非侵襲的に計測できるため、細胞評価において有用である。

近年、筆者らは新しい原理に基づく電極アレイデバイスや^[8]、集積回路を組み込んだ電気化学デバイスを報告している^[9]。

例えば図 5 で示すように、微小空間で誘起される化学反応を用いることでトランジスタのような働きをする電気化学センサを開発しており、 $2n$ 本のコネクタパッドで、 n^2 個の電気化学センサを搭載することに成功している。

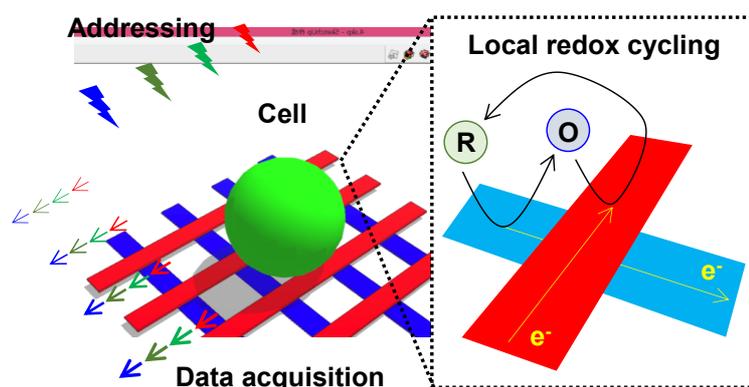


図 5 電気化学計測デバイス^[7]。Reproduced from Elsevier ©2017.

このシステムを用いて、 $30 \mu\text{m}$ 間隔で 256 個の電気化学センサを配置した電極アレイデバイスを報告している。このシステムを用いることで胚性幹細胞 (ES 細胞) の分化状態の可視化に成功している^[8]。このように開発したデバイスは様々な活性を評価できるため、細胞機能解析において有用なツールである。

図 6 は集積回路技術を用いて作製した電気化学デバイスの例を示している。このデバイスは、細胞の呼吸活性や神経様細胞の神経伝達物質の放出をリアルタイムに計測できる^[10]。また、電気化学に基づくミジンコのような微小生物のモーショントラッキングにも成功しており^[9]、簡単な水質検査ツールとしての応用も期待できる。

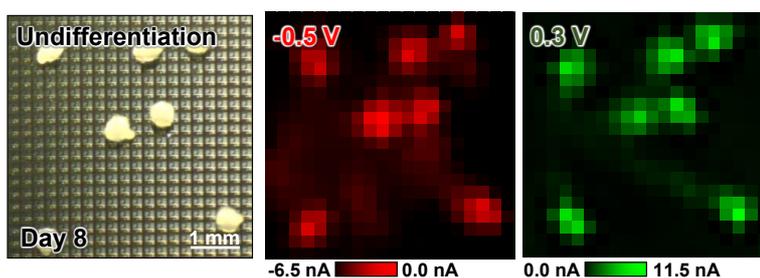


図 6 細胞計測の例^[10]。左：光学イメージング。真ん中と右：電気化学イメージ。真ん中：呼吸活性。右：酵素活性 (分化)。Reproduced from the American Chemical Society ©2017.

おわりに

本稿ではバイオ分野における電気化学について紹介した。特に細胞機能解析に向けた電気化学デバイス・システムを述べた。これらは培養細胞・組織の品質管理や薬剤スクリーニングといった応用が期待できる優れたツールである。細胞解析以外にも、タンパク質アレイ、DNA アレイなど様々なバイオ分析への応用が期待できる。また、バイオチップだけでなく、種々の化学センサとしての利用も期待できるため、今後も電気化学デバイスは大いに発展していくと考えられる。

最後に本研究を推進するあたり、ご指導、ご助言をいただきました東北大学大学院工学研究科の珠玖仁教授、東北大学大学院環境科学研究科の末永智一教授、それぞれの研究室の皆様、共同研究者の皆様に厚く御礼申し上げます。

参考文献

- [1] 大塚利行、桑畑進、加納健司、ベーシック電気化学、化学同仁
- [2] 青木幸一、堀内勉、森田雅夫、丹羽修、微小電極を用いる電気化学測定法、電気情報通信学会
- [3] 伊野、電気化学 1 分子計測への挑戦、化学と工業、2018、**71-1**、25
- [4] Kang, S., Nieuwenhuis, A. F., Mathwig, K., Mampallil, D., Lemay, S. G., *ACS Nano*, 2013, **7**, 10931-10937.
- [5] Ino, K., Nashimoto, Y., Taira, N., Ramon Azcon, J., Shiku, H., *Electroanal.*, 2018, **30**, 2195-2209.
- [6] Ino, K., Sen, M., Shiku, H., Matsue, T., *Analyst*, 2017, **142**, 4343-4354.
- [7] Ino, K., Shiku, H., Matsue, T., *Curr. Opin. Electrochem.*, 2017, **5**, 146-151.
- [8] Ino, K., Nishijo, T., Arai, T., Kanno, Y., Takahashi, Y., Shiku, H., Matsue, T., *Angew. Chem. Int. Edit.*, 2012, **51**, 6648-6652.
- [9] Ino, K., Kanno, Y., Inoue, K. Y., Suda, A., Kunikata, R., Matsudaira, M., Shiku, H., Matsue, T., *Angew. Chem. Int. Edit.*, 2017, **56**, 6818-6822.
- [10] Kanno, Y., Ino, K., Abe, H., Sakamoto, C., Onodera, T., Inoue, K. Y., Suda, A., Kunikata, R., Matsudaira, M., Shiku, H., Matsue, T., *Anal. Chem.*, 2017, **89**, 12778-12786.

伊野 浩介 (いの こうすけ)

東北大学 大学院工学研究科 珠玖研究室 准教授

2008年3月 名古屋大学 大学院工学研究科

博士課程短縮修了 博士(工学)

2008年4月 東北大学 大学院環境科学研究科 助教

2017年10月 現職



◆ 若手研究者からのメッセージ ◆

東京農工大学大学院グローバルイノベーション研究院
生命分子工学・海洋生命工学研究室
特任助教 根岸 諒

はじめに

本稿では、著者が所属研究室で研究開発を進めている血中循環腫瘍細胞 (Circulating tumor cell: CTC)の解析技術に関する内容を紹介します。CTC はがん組織から血管内に侵入し、血流に乗って全身を循環する腫瘍細胞である。血行性転移に関与する細胞であるため、CTC の機能解析は特にがん転移メカニズムの解明や転移診断において強力なツールとなると考えられている。一方で、CTC は血液 1 ml 中に含まれる約 50 億個の血球に対して、10 個程度しか存在しないため、解析するためには血液中から CTC を効率的に回収する技術が必要である。著者らのグループでは独自に開発を進めてきた単一細胞解析デバイス“マイクロキャビティアレイ (Microcavity array: MCA)”を用いた CTC 回収技術の開発を進めており、がん患者検体を対象とした臨床試験にて、その有用性を実証してきた。本稿では特に MCA 方式による CTC 回収システムと、現在精力的に進めている単一細胞遺伝子解析技術の開発に関して、著者が行ってきた取り組みを紹介する。

Microcavity array を用いた CTC 回収システムの開発

MCA は Ni や PET などの薄膜基板に直径数 μm の微細な貫通孔を高密度 ($\sim 10^5$ 孔)に加工したフィルター型のデバイスであり、細胞のサイズ及び変形能の違いを利用して血液中から CTC を回収することが可能である。私が学生として CTC の研究に参加したのは、所属する研究室が静岡がんセンターとの共同研究により、肺がん症例において既存の CTC 回収システムと比較して多くの CTC を回収できることが示され、MCA が新たな CTC 回収方法として注目され始めた頃である。私が最初に関わった研究は、MCA による CTC の回収性能の向上であった。上記のように、MCA はフィルトレーションにより CTC を回収するため、孔サイズに近い小径のがん細胞においては回収率が低下する傾向があることが明らかとなっていた。そこで、私は特に小径がん細胞の回収に向けて、フィルター構造の改良に取り組んだ。

血液 1 ml を MCA にてフィルトレーションした場合、2000~3000 個の白血球が夾雑物として MCA 上に残存する。捕捉された細胞は孔全体を塞ぐため、フィルトレーションが進み、細胞が捕捉されていくにつれて、細胞が通過できる孔が減少する。このため、フィルトレーションが進むに従って MCA にかかる圧力が増大し、小径のがん細胞が MCA を通過しやすい条件になっていると考えた。そこで、孔が単一細胞によって塞がれない構造として長方形型の孔を設計した (図 1A)。長方形の短辺の長さの最適化を行い、短辺 8 μm 、長辺 30 μm の長方形型孔を有する MCA を得た。この長方形型 MCA にて小細胞肺がん細胞株 NCI-H69 (直

径 12.5 μm)、NCI-H82 (直径 13.5 μm) を回収したところ、回収率は約 80% となり、丸型 MCA と比較して 20–30% の向上が見られた (図 1B)。また、血液をフィルトレーションした際の圧力を測定したところ、設計時の狙い通り長方形型 MCA は丸型 MCA よりも圧力が低い状態を維持した。以上より、孔の形状によるフィルトレーション条件の変化を利用することで、小径のがん細胞の回収に適した MCA を開発することができた¹。

次に MCA による CTC 回収操作の自動化に取り組んだ。従来の MCA は研究室で自作した PDMS 製のデバイスを用いて、マニュアル操作で処理を行っていたため、特に実験者間で結果にバラつきが生じるなどの再現性に課題があった。そこで私は、日立化成株式会社の協力のもと、MCA を内蔵するア

クリル製の使い捨てカートリッジと、カートリッジに自動で血液や洗浄液、染色液を導入する自動送液システムの開発及び性能評価に参加した (図 2)。最初の壁はカートリッジの作製条件だった。カートリッジは大量生産に対応した生産プロセスを想定し、射出成型した PMMA 製の流路で MCA を挟み込み、超音波溶着にて接着することで作製する設計としていた。PDMS 製の流路と MCA を防水性の粘着テープで繋ぎ合わせて作製していた自作デバイスと比較して、カートリッジは平坦性がよく顕微鏡観察がしやすい利点があった。一方で、溶着条件次第で MCA がたわんで平坦性が失われてしまったり、水漏れが発生するなど、装置開発ならではの課題が多く発生した。結果的に、設計を担当していた技術者と何度も試作を繰り返すことによって歩留まり良く作成できる条件を見つけ出すことができた。自動送液プロトコルなどの検討を経て、CTC 自動回収システムを完成させることができた²。現在は操作性や性能面の改良が加えられた新型機の開発が進められ、複数の研究機関で臨床試験による性能評価が行われている^{3,4}。

光硬化性ハイドロゲルを用いた簡易・迅速な単一細胞分離技術の開発

転移性の乳がん、大腸がん、前立腺がんにおいては血液中の CTC の数が患者の予後と有意に相関することが知られており、CTC 計数による診断が実用化されている。一方で、その他のがん種においては CTC 数が有用な診断基準にならない場合があることがわかってきてお

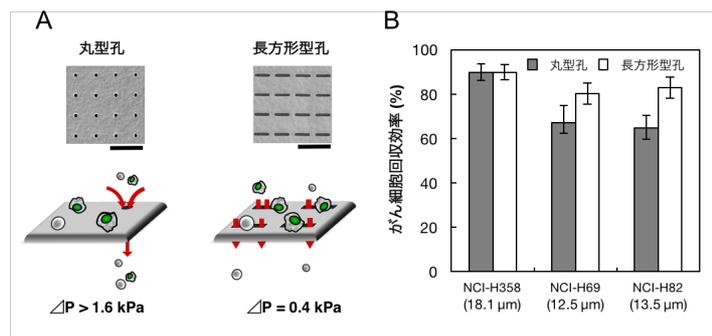


図 1. 長方形型 MCA の設計と性能評価 (A) 長方形型孔の効果のイメージと血液フィルトレーション時の差圧, (B) 細胞回収効率の比較(括弧内は細胞サイズ)

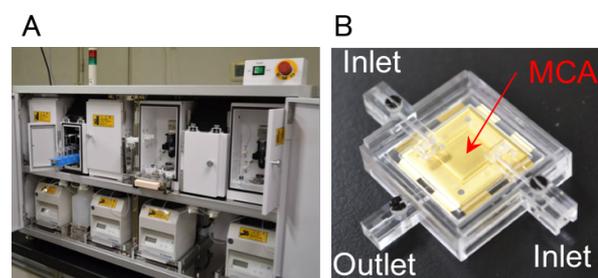


図 2. CTC 自動回収システム (A) 自動送液システムの試作機, (B) MCA カートリッジ

り、近年ではより詳細な情報を取得することを目的として CTC の遺伝子解析を行う試みが注目されている。さらに、がん組織が様々な形質を持つ細胞から形成される不均一な集団であることが周知の事実となっており、CTC においても単一細胞レベルでの解析が必要であると考えられている。一方で、血液から CTC を回収したサンプル中には数千から数万の白血球が混在するため、その中から CTC を単一細胞レベルでロスなく分離することは技術的に困難である。そのため、現時点では主に顕微鏡観察下でのマイクロマニピュレーションという労働集約的な手法によって行われている状況にある。そこで私は学生時代から現在に引き続き MCA にて回収した CTC を簡便に分離するための新たな技術の開発に取り組んでいる。

CTC は直径数十 μm 程度であり、観察には顕微鏡での観察が必須となる。私は顕微鏡下で単一細胞の単離操作を行うことがスループットを低下させる要因であると考えた。そこで細胞に肉眼で視認可能な目印をつけることで、目視観察下でのハンドリングを可能にすることを着想し、光硬化性ハイドロゲルを利用した新たな単一細胞分離方法“Gel-based cell manipulation (GCM)法”を考案した(図 3A)。具体的には、MCA にて CTC を回収した後、光硬化性ハイドロゲルの前駆体(液体)を上面に積層し、顕微鏡を用いて CTC に光を照射する。これにより、内部に CTC を包埋したハイドロゲル(直径 200 μm 、高さ 300 μm 程度)を作製する。ハイドロゲルが CTC の目印となり、ピンセットなどを用いて容易に分離することが可能となる(図 3B)。実際に、GCM 法でがん細胞を分離した場合、細胞あたり 1 分以内で分離操作を終了することができ、その成功率は 95%以上であることを確認している。さらに、本手法で分離した単一細胞は部分的にハイドロゲルに埋め込まれた状態ではあるが、遺伝子変異解析や遺伝子発現解析への利用が可能であることを示している⁵。本手法は既存技術と比較して迅速に CTC を回収することができる。この特徴が実サンプルで有利に働くかについては検証が必要であるが、既に本手法でがん患者 CTC の遺伝子解析データを取得可能であることは確認しており、CTC が臨床的に有意な情報を有しているか、都立駒込病院の協力のもと解析を進めている。

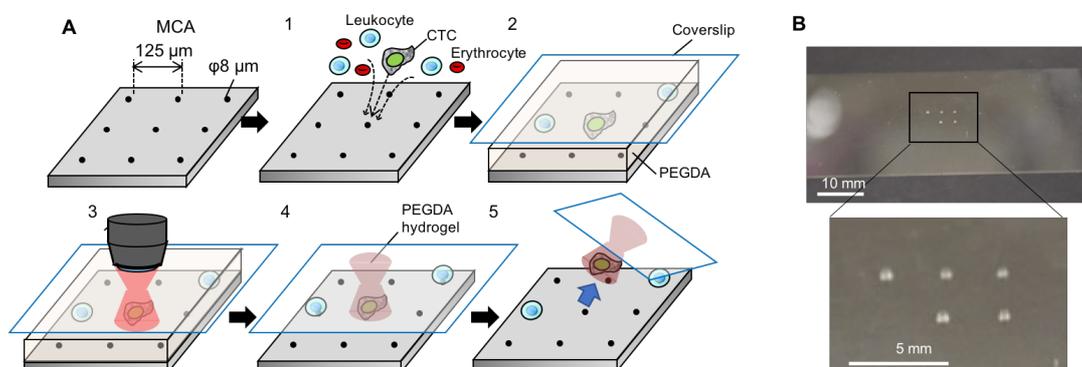


図 3. Gel-based cell manipulation (GCM) 法
 (A) 操作手順, (B)単一細胞を包埋したハイドロゲル

また、CTC そのものの研究と並行して GCM 法の技術的な改良や関連技術の開発も進めている。例えば、現状のプロトコールでは通常の蛍光顕微鏡を用いて一細胞ごとに光照射を行なうため、スループレット面での課題がある。そこで、複数の細胞に対して同時に光照射を行うことが可能な光学システムを開発している。具体的には、光照射の制御に Digital Micromirror Device (DMD)を用いることで、MCA を観察した画像から CTC が存在する部位に選択的に光を照射することを可能とした (図 4)。これにより、顕微鏡によるスキャンを最小限にすることが可能となる。既に原理検証用のプロトタイプ機にて顕微鏡の 200 倍程度のスループレット向上を達成しており、現在は蛍光検出性能などの機能面をブラッシュアップした次世代機の開発に取り組んでいる⁶。また、細胞を観察した上でロスなく分離できる GCM 法の特徴を利用して、接着細胞や微生物の単一細胞分離及び遺伝子解析への応用にも取り組んでいる⁷。

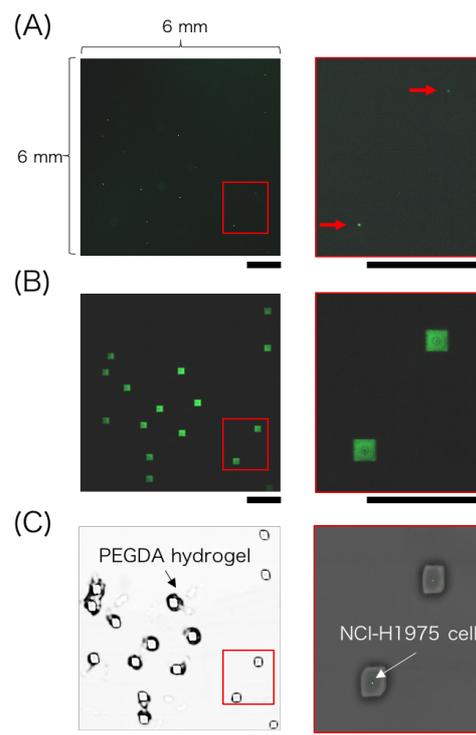


図 4. DMD によるハイスループレット光照射
(A) MCA 表面の画像, (B) 光照射の様子, (C) 作成されたハイドロゲル

おわりに

本稿では著者がこれまでに携わってきた CTC 解析技術に関わる研究内容について概説した。私が学生だった頃から現在にかけて、単一細胞解析の関連技術は急激に進化し、今や一般的な解析手段として普及しつつある。一方で、CTC の単一細胞解析は注目されているものの未だ技術的にはニッチな領域であり、その臨床的意義に関する知見は限定されている状況にある。その中で、CTC の回収から単一細胞分離、遺伝子解析までの一連の操作工程の開発の一端を担い、がん患者サンプルを用いた試験に参加することができたのは非常に貴重な経験となった。一方で、がん患者のサンプルを用いた試験では、研究室で行なっていたモデル試験では想定できなかった課題も多く発生している。今後もそれらを一つ一つ解決し、CTC 解析による創薬やリキッドバイオプシーにつながる技術開発を進めていきたい。

また、現在の立場に至るまで、何度も諦めたくなる瞬間があったことを覚えている。今まで研究を続けることができたのは、「CTC とは何か」という興味を持てたこと、そして、技術開発の立場からその興味にアクセスできる環境、人間関係の中に身を置けたことが決定的な要因であると感じている。そのような巡り合わせに感謝しつつ、研究に勤しみたいと考えている。

謝辞

この度誠に僭越ながら執筆のご依頼を賜ったことについて、深く感謝いたします。本研究は東京農工大学大学院工学研究院 吉野 知子 教授のご指導ご鞭撻と、共同研究を行なって下さった皆様、研究室の先輩、後輩、スタッフの皆様の協力により進めることが出来ました。この場を借りて感謝申し上げます。

参考文献

- [1] Hosokawa, M., Yoshikawa, T., Negishi, R., Yoshino, T., Koh, Y., Kenmotsu, H., Naito, T., Takahashi, T., Yamamoto, N., Kikuhara, Y., Kanbara, H., Tanaka, T., Yamaguchi, K. and Matsunaga, T., *Analytical chemistry*, 2013, **85**, 5692-5698.
- [2] Negishi, R., Hosokawa, M., Nakamura, S., Kanbara, H., Kanetomo, M., Kikuhara, Y., Tanaka, T., Matsunaga, T. and Yoshino, T., *Biosensors & bioelectronics*, 2015, **67**, 438-442.
- [3] Yoshino, T., Takai, K., Negishi, R., Saeki, T., Kanbara, H., Kikuhara, Y., Matsunaga, T. and Tanaka, T., *Analytica chimica acta*, 2017, **969**, 1-7.
- [4] Yagi, S., Koh, Y., Akamatsu, H., Kanai, K., Hayata, A., Tokudome, N., Akamatsu, K., Endo, K., Nakamura, S., Higuchi, M., Kanbara, H., Nakanishi, M., Ueda, H. and Yamamoto, N., *PloS one*, 2017, **12**, e0179744.
- [5] Yoshino, T., Tanaka, T., Nakamura, S., Negishi, R., Hosokawa, M. and Matsunaga, T., *Analytical chemistry*, 2016, **88**, 7230-7237.
- [6] Negishi, R., Takai, K., Tanaka, T., Matsunaga, T. and Yoshino, T., *Analytical chemistry*, 2018, **90**, 9734-9741.
- [7] Negishi, R., Iwata, R., Tanaka, T., Kisailus, D., Maeda, Y., Matsunaga, T., Yoshino, T., *Analyst*, 2018, doi: 10.1039/c8an01456f.

根岸 諒 (ねぎし りょう)

東京農工大学 大学院グローバルイノベーション研究院 特任助教

2017年3月 東京農工大学大学院 工学府 生命工学専攻

博士後期課程修了 博士(工学)

2017年4月 東京農工大学大学院 工学研究院 生命機能科学部

門 産学官連携研究員

2018年4月 現職



◆ 海外の研究室から ◆

トロント大学 Institute of Biomaterials and Biomedical Engineering

太田 誠一

トロント大学はカナダの中心都市であるトロントのダウンタウン地区に位置しています。メインキャンパスであるセントジョージ キャンパスは、市街地の中心にありながら歴史を感じる建物と自然に囲まれており、市民の憩いの場としても親しまれています。私が所属した Institute of Biomaterials and Biomedical Engineering (IBBME) は医学や工学など様々なバックグラウンドを持った研究者が集まる分野横断型のセンターで、近隣にある Sick Kids Hospital や Princess Margaret Cancer Centre などの大型病院と連携しながら、活発に研究が行われています。

私は、日本学術振興会 特別研究員(PD)の海外渡航制度を利用して、2014年から1年半、トロント大学 IBBME の Warren Chan 教授の研究室でポスドクとして研究を行いました。Chan 先生はナノ粒子の生体内でのデリバリー機構を精力的に研究されており、量子ドットを使ったバイオイメージングを世界で初めて報告したことで知られています。私は学生時代から医療用ナノ粒子の研究に取り組んでおり、Chan 先生の論文をずっと興味深く拝見していたので、面識もなかったのですが飛び込みでメールしてみたところ、幸運にも採用して頂くことができました。Chan 研究室は3名のポスドクと20名程度の学生で構成されており、移民の国カナダらしく、様々な人種のメンバーが在籍しています。それぞれの専門分野も多様で、臨床医から基礎生物学者まで様々なバックグラウンドの研究者が一同に介して、「ナノ粒子と生体との相互作用を明らかにする」という共通の目的に向かって切磋琢磨しながら研究を行っています。



Chan 研究室のメンバー（下から2列目一番右が Chan 先生、その左隣が筆者）

Chan 研究室で私が取り組んだテーマは「特定の刺激で形が変化するナノ粒子を作って、細胞との相互作用を制御することができるか」というものでした。ナノ粒子のサイズや形状が体内動態や細胞による取り込み挙動に大きな影響を与えることが近年明らかになりつつあります。これらを任意のタイミングで動的に変化させることで、ナノ粒子の生体中での振る舞いを自由にコントロールしたい、というのが研究開始当初のアイデアでした。どうすれば粒子の形を変えられるか色々悩んだ結果、当時研究室で DNA を修飾したナノ粒子をビルディングブロックとして用いて紐状や衛星状の粒子集合体を作製する技術が開発中でしたので、これを使って特定の DNA 配列に応答してコンフォメーションが変化するナノ粒子集合体を設計することにしました。試行錯誤の中、粒子を合成しては TEM で観察する、という毎日を繰り返した結果、設計通りに形が変わった粒子集合体を TEM で見つけた際には、言いようのない喜びを感じたことを今でも鮮明に覚えています。その後、狙い通りにがん細胞への標的能などを粒子形状によってスイッチさせることができ、成果を論文にまとめることができました。

研究を進める中で感じた日本との違いの一つは、装置です。海外の研究室は高額な装置が自前でたくさんあるというのが渡航前のイメージだったのですが、行ってみるとむしろ逆で、大きい研究室でもそこまで多くの装置があるわけではなく、その分共通設備が充実していて複数のラボが共有して使える仕組みになっていました。大型の装置には専属の管理者が常駐しており、何かトラブルがあったときもすぐに対応してくれます。僕が毎日のように格闘していた TEM もその一つで、管理者のダグラスさんには操作方法だけでなく、試料作りや研究内容についてまで色々相談に乗ってもらい、本当に感謝しています。また、研究室メンバーのアクティブさにも、非常に感銘を受けました。自分のメインテーマに加え、何か面白そうなことが見つかるとうちに興味がある人を集めて自主的にチームを作り、Chan 先生のところへ提案しに行く、という光景が頻繁に見られ、勿論却下されることもあります。その中から新しいプロジェクトが生まれ、実際に論文になっていくのを目の当たりにすることが出来たのは、非常に良い経験でした。またメンバー同士のディスカッションも活発で、彼らとの議論が研究を進める上で大きな助けとなったのは、言うまでもありません。

帰国してから早3年が経過し、当時のメンバーも多くが世界各国の大学や研究機関、企業に羽ばたき、活躍しています。先日、アメリカで Assistant Professor になった元同僚達が ACS でシンポ



ACS のシンポジウムでの1枚（左から2番目が筆者）

ジウムを主催し、元メンバー達が多数集まりました。私も講演者として参加して久々に皆と再会し、現在の生活や取り組んでいる研究内容などを報告し合い、旧交を温めました。さらに、今まで会ったことがなかった OB・OG や、Chan 先生の指導教官だった Nie 先生までもが一同に介し、“Academic family”の親交を深めることができました。このような人と人とのつながりは、海外でのポストクで得ることが出来た大きな財産だと思っています。

最後に少し、トロントでの生活についてもご紹介させていただきます。トロントはニューヨークのさらに北側に位置し、ナイアガラの滝が世界的に有名です。ナイアガラの滝はちょうどアメリカとカナダの国境にあり、アメリカ側から見られる「アメリカ滝」とカナダ側から見られる「カナダ滝」があるのですが、迫力はカナダ滝の方が圧倒的に凄いです。ナイアガラの滝を見に行かれる際は、是非カナダ側から見られることをお勧めいたします。また、トロントの気温はかなり低く、冬はマイナス 30 度まで達することも珍しくありません。トロントの冬で発見したのはフードの重要性で、日本ではただのコートの飾りくらいにしか思っていなかったのですが、これを被るだけで頭の体感温度がかなり変わり、トロントの冬を生き延びるためには必需品です。私が渡航した時はちょうど冬で、知り合いも誰もおらず、特に調べもせずに家も決まっていなかった状態で渡加したのですが、貧弱な冬装備で極寒の中家を探し回っている内に早速 40℃近い高熱を出してしまい、家もなかなか決まらずお金が早々に尽きそうになってしまって、自分の浅はかさを心から後悔しました。これから海外での研究を考えている方がいらっしゃいましたら、十分に下調べをして、少なくとも家の目星ぐらいはつけた状態で出発することを強くお勧めいたします。またトロントの市街地は、「ネイバーフッド」と呼ばれる、各国からの移民が形成する移民街が多数存在していることでも有名です。世界各国から集まった移民達がチャイナタウン、リトルイタリー、グリークタウンなど国ごとのネイバーフッドを形成しており、一つの街にいながらまるで世界旅行をしているように各国の本場の料理を食べたりすることが出来ます。Chan 研究室ではそれぞれの国の出身者がネイバーフッドの中でお勧めのレストランを紹介して皆で食べに行く、という企画を頻繁に行っていて、滞在中にほぼ全てのネイバーフッドを制覇したかと思います。その結果、私の体重は渡航前より 10 kg 以上増え、文字通り「一回り大きくなって」日本に帰ってきました。本稿を執筆しながら、見た目だけでなく中身も多少は成長して帰ってきたと思って頂けるよう、これから頑張っていかなければならないと、改めて思っている次第です。

謝辞

本稿を執筆する機会を与えて下さった九州大学 神谷典穂先生、海外渡航の機会を与えて下さった東京大学 伊藤大知先生に感謝申し上げます。また、ラボの一員として研究室に受け入れて頂き、一年半に渡りご指導頂いた Warren Chan 先生及びラボメンバーにこの場を借りて御礼申し上げます。

太田 誠一 (おおた せいいち)

東京大学 大学院医学系研究科 疾患生命工学センター 助教

2013年3月 東京大学 大学院工学系研究科 化学システム工学専攻
博士課程修了 博士(工学)

2013年4月 東京大学 大学院医学系研究科 疾患生命工学センター
日本学術振興会特別研究員 PD

この間、

2014年3月～2015年9月

トロント大学 IBBME 博士研究員

2016年4月 現職



◆ 学会活動報告 ◆

第 6 回 バイオ関連化学シンポジウム若手フォーラム —第 33 回 生体機能関連化学部会若手フォーラム・第 6 回 バイオテクノロジー部会若手フォーラム—

日本化学会バイオテクノロジー部会
2018 年度若手フォーラム世話人 古谷俊介
(産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門)

日本化学会バイオテクノロジー部会若手の会・生体機能関連化学部会若手の会が主催した第 6 回バイオ関連化学シンポジウム若手フォーラムが、2018 年 9 月 8 日 (土) に大阪大学吹田キャンパス工学研究科 (招待講演、ポスター発表) 及び Kitchen BISHYOKU (懇親会) で開催されました。このフォーラムは若手中心で運営しており、若手教員やポスドク研究員、特に学生にとって自由な議論を通して交流及び勉強の場になることを願い、非公式の勉強会という位置付で企画・開催しているものです。本年は、養島維文先生 (代表、大阪大学大学院工学研究科)、大洞光司先生 (大阪大学大学院工学研究科)、齋藤真人先生 (大阪大学大学院工学研究科)、多幾山敬先生 (塩野義製薬株式会社)、及び、本稿の筆者である古谷俊介 (産業技術総合研究所) の 5 名が世話人として運営させていただきました。

当該フォーラムは、招待講演とポスター発表から構成され、今回の招待講演者は下記に示すように、一細胞分析、生体分子の機能解明・計測・制御、及びタンパク質の構造解析などの幅広い領域からの相互刺激を期待して、各分野において顕著な成果をあげられている先生方にご講演いただきました。

招待講演者 (*50 音順)

1. 「超高感度 CE-MS を用いた一細胞メタボローム・プロテオーム分析」
川井 隆之 先生 (理化学研究所)
2. 「生体内 CO の擬ノックダウン法による機能解明」
北岸 宏亮 先生 (同志社大学理工学部)
3. 「蛍光を持つ非天然アミノ酸を利用した膜電位依存性ホスファターゼ (VSP) の構造変化の検出」
坂田 宗平 先生 (大阪医科大学)
4. 「細菌薬剤排出システムの機能と制御」
西野 邦彦 先生 (大阪大学産業科学研究所)
5. 「SACLA の先端 XFEL 技術を用いたタンパク質構造研究」
溝端 栄一 先生 (大阪大学工学研究科)

各講演では、基礎から応用まで幅広くご講演いただき、会場からも活発な議論が飛び交いました。また、講演者の先生方から、学術的な成果だけでなく研究の面白さや魅力を学生に向けて非常にわかりやすく伝えていただけたのが印象的でした。また、ポスター発表も 59 件のぼり、終了時間ギリギリまで活発な議論が行われておりました。

本年度は、104 名の事前参加登録に加え、5 名の当日参加の申し込みもいただき、最終的には一般 33 名、学生 76 名の計 109 名と多くの方にご参加いただきました。本会の運営と開催に関しまして、ご支援いただきました日本化学会バイオテクノロジー部会、生体機能関連化学部会、ホスト-ゲスト・超分子化学研究会、公益財団法人サントリー生命科学財団の関係者の方々に心より御礼申し上げます。また、ご協力いただきました世話人の先生方、ならびに日本化学会保倉光邦様に厚く御礼申し上げます。加えて、翌日からのバイオ関連化学シンポジウムにおいて、学生ポスター賞の運営も若手の会において行いました。この場を借りて、運営に携わられた先生方、及び審査員をお引き受け下さいました先生方に厚く御礼申し上げます。

次回のバイオ関連化学シンポジウム若手フォーラムは東北大学で開催する予定です。来年度も皆様のご支援ご協力を賜れますよう、どうぞよろしくお願い申し上げます。



若手フォーラムでの講演風景



ポスター発表の様子



若手フォーラムでの集合写真

The 18th European Congress on Biotechnology (ECB 2018)

北海道大学大学院工学研究院
環境循環システム部門
准教授 中島 一紀

2018年7月1～4日の日程で、スイス・ジュネーブにて The 18th European Congress on Biotechnology (ECB 2018)が開催されました。私は学会初日の7月1日まで生物工学会夏のセミナー（北見）に実行委員として参加していたため、その翌日に千歳から、羽田、デュッセルドルフ経由でジュネーブに向かいました。それまで夏のセミナーの準備・運営に追われていたため、ECB2018の準備を十分にできずに飛行機に飛び乗った感があり、羽田行きの便の中で海外保険を申し込み、ジュネーブはドイツ語で「Genf」と書くことを知らずにトランジットの際に搭乗口に迷ってしまうという状態でした。何はともあれ、ジュネーブの空港に着陸する際にはレマン湖とその周囲の山々の雄大な景色が出迎えてくれ、アルプスの麓の街に来たということを実感しました。

ECBはThe European Federation of Biotechnology (EFB)が主催で2年に1度開催されているバイオテクノロジーに関する学会であり、私は初めての参加でした。ECBのセッションは、酵素工学、細胞工学、微生物工学、アグリバイオ、バイオ医薬品、バイオエネルギー、バイオチップ・センサー、環境バイオ、ナノバイオ材料、と非常に多岐に渡っていましたが、参加人数という点からはさほど大きなカンファレンスではないようです。ECBはAFOB (Asian Federation of Biotechnology)とも連携が強く、学会初日にはEFBとAFOBのジョイントでApplied Biocatalysisに関するセッションが開催されていました。

ヨーロッパの学会に参加したのはこれが2度目だったのですが、進化分子工学やRational designアプローチによる酵素の機能強化や改変に関する研究や、バイオ燃料・バイオ化成品生産などのホワイトバイオに関する研究は相変わらず発表件数が多く、基調講演や依頼講演では抗体工学、細胞工学、DDSを含むレッドバイオに関する講演が多かったように思います。招待講演の中で圧巻だったのが、AFOBのvice presidentでもあるKAISTのTai Hyun Park教授のプレゼンで、脂質と膜タンパクのin vitro再構成の様子が動画を使って紹介されており、まるでNHKスペシャルの解説ビデオを見ているような感覚に陥りました。

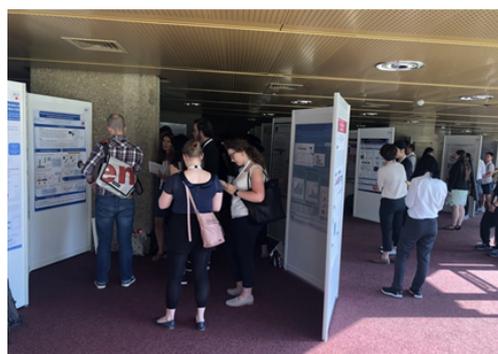
私が発表した環境系のセッションでは、生物機能を用いた環境修復（バイオレメディエーション）に関する発表が多かったように思います。私は「バイオセメントによる土壌固化」という生物工学からはほど遠い内容で発表をしたのですが、奇遇にも私の研究と近い内容の発表が2件あり、その研究者達とニッチな？研究内容についてのディスカッション・情報交

換ができました。

余談ですが、学会に参加した時はちょうどサッカーワールドカップ 2018 の決勝トーナメントが行われていた時期で、驚いたことにスイスの試合がある日には学会会場のホールに小さなパブリックビューイングが設営されていました。日本開催の学会ではまず考えられないことです。

その時期、ジュネーブは 21 時くらいまでは明るかったので、セッション後に一緒に参加した学生と街に散歩に出かけてみました。その途中、何気なく立ち寄った路地沿いの（高級ではない）レストランで夕食をとることにしたのですが、ビールとグラスワインをそれぞれ 1 杯ずつ注文し、前菜、魚料理、肉料理、各 1 皿を 2 人でシェアして、なんと 140 ユーロ（約 1 万 7 千円）もかかりました。ジュネーブは観光都市で物価が高いことは事前に聞いていたものの、予想以上の出費でしたが、ジュネーブはその町の名前から分かる通りフランス語圏であり、料理も当然フレンチです。何を食べても非常に美味しく、海外の高級フレンチレストランで食事をしたと割り切り、大満足で帰りました。

次回の ECB 2020 はオランダ南部のマーストリヒトで開催されるようです。この街はデバイーヒュッケルの式で有名なデバイの出身地のようで、私も機会があればぜひ参加したいと思います。



(写真) 左上から時計回りに、学会会場の外観、ポスターセッションの様子、レマン湖の大噴水、フレンチレストランのオードブル

◆ 研究会・国際会議から ◆

The 12th SPSJ International Polymer Conference (IPC2018)

北九州工業高等専門学校 生産デザイン工学科 物質化学コース
高原 茉莉

本会議は、高分子学会（日本）が2年おきに開催する規模の大きな国際会議です。前回は福岡で開催され、本年度 IPC2018 は平和記念公園近くの広島国際展示場で2018年12月4日から7日までの4日間に渡って開催されました。本会議を知るきっかけとなったのは、日頃から大変お世話になっている櫻井和朗教授（北九州市立大学）のご紹介です。櫻井和朗教授は本学会の国際セッションのオーガナイザーでもあります。

まず IPC2018 初日は著名な先生方による基調講演（写真 1）から始まり、有機レドックス高分子に関する“Redox-active Polymers as an Organic Charge-Transport and Energy-Storage Material”（西出宏之教授）、グリーンケミストリーに関する“Strategy for differentiation of polymers toward up-stream and toward down-stream”（瀬戸山亨教授）の講演後、Welcome reception で参加者との交流を深めました。私が高分子学会に入ってから年月は浅いですが、この国際会議で同世代の研究者と出会えたことは、まず非常に有難く、貴重な経験です。

翌日は開会式（写真 2）の後、接着性高分子に関する“A Macromolecular Approach to Anti-fouling, Fouling Resistant Surfaces”（C. K. Ober 教授）、超分子化学に関する“Multifunctional Supramolecular Platforms with Stimuli-Responsive Surfaces”（C. Kim 教授）という後半の基調講演がなされました（写真 3, 4）。その後、口頭発表（294件）、ポスター発表（353件）が7つの

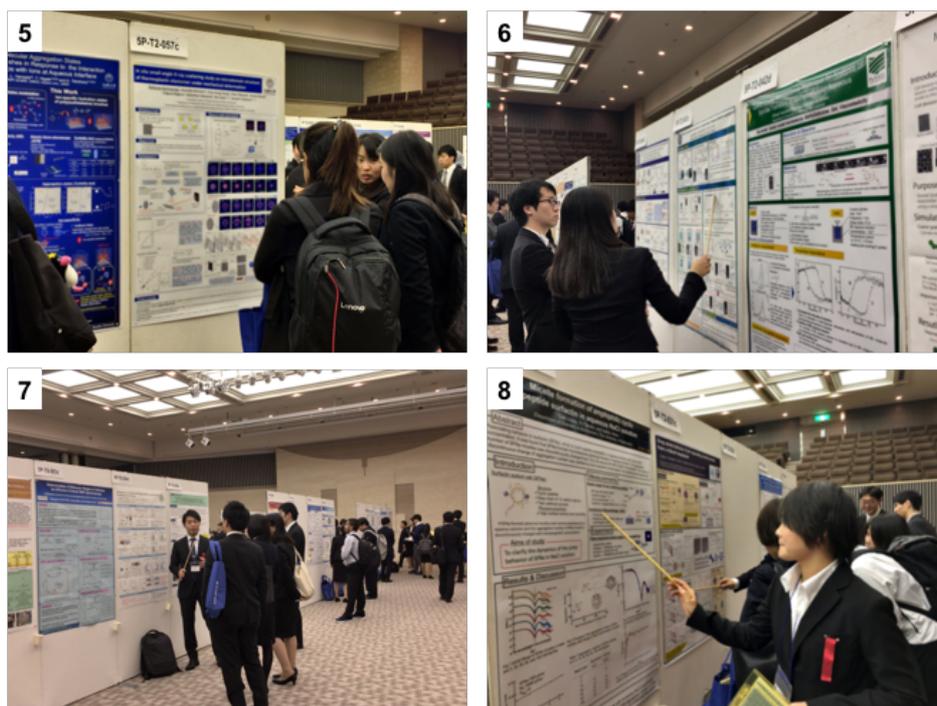


セッションで最終日まで3日間、開催されました。私自身は、専攻研究に近い T-7: Biomedical Polymers and Nanomedicines のセッションを中心に聴講しました。国際的に権威のある論文誌に掲載されるような、薬物送達キャリア (リポソーム、高分子ミセル) の分子設計及び *in vivo* の成果を知ることができました。また、私自身は博士課程まで生物工学的な観点から生体高分子を扱っていたので、高分子分野の先生方からの観点も新鮮で、違う学会からの研究手法を学ぶ機会にもなりました。

ポスターセッションでは海外からの参加者だけでなく、日本人学生も含め、非常に高いレベルで英語ディスカッションがされていました (写真 5-8)。日本人は英語ができないと言われていますが、最近は学会においても英語表記のスライドや発表が推奨されているため、学生も英語レベルが高くなっており、自分も頑張らなければ、と思う次第です。

次回の IPC は 2020 年と予想されますが、ちょうど PacificChem2020 (ホノルル) と東京オリンピックと同年度です。その前の国際会議として、宣伝になってしまいますが、2019 年度は第 258 回アメリカ化学会 (ACS) 秋季大会 (サンディエゴ、2019 年 8 月 25 日-29 日) にて、櫻井和朗教授が Division of Colloid and Surface Chemistry で 30 分講演のセッションのオーガナイザーをされます。一人あたり 30 分も国際学会で持ち時間を頂けるため、研究背景から研究手法まで詳細に同分野の研究者に情報共有できます。実際、2018 年は第 256 回 ACS 秋季大会 (ボストン) にて、同セッションにて私自身も口頭発表をし、論文作成において非常に有益なアドバイスを頂きました。参加条件がアメリカ化学会所属ですが、ACS 会議は自分の研究成果を世界中の研究者に発信、宣伝できる有益な機会です。ACS は IPC と並んで私がオススメする国際会議の一つです。

最後になりますが、IPC2018 における写真撮影に関して許可を快くくださった高分子学会事務局の平坂様、ACS 会議からお世話になっております櫻井和朗教授に感謝いたします。



◆編集後記◆

本号より2号分、九州大学の神谷がニューズレターの編集を担当させていただきます。どうぞ宜しくお願い致します。まず、年末年始・年度末にかかるご多忙の折、小職からの原稿依頼をご快諾・ご寄稿頂きました執筆者の先生方に、心より御礼申し上げます。

「巻頭言」には、早稲田大学の竹山春子先生に示唆に富んだご寄稿を頂きました。平成が終わり、年号が変わる今年、これからの社会で求められる「バイオ」について、それぞれに少し立ち止まって、考えるための種が散りばめられています。「先端研究ウォッチング」には、東京工業大学の上田 宏先生にご寄稿頂きました。タンパク質工学と酵素科学、蛍光タンパク質の発光特性を巧みに融合した数々の分子センサーについて、その発見の歴史的経緯から最新の研究成果まで非常に分かり易く解説頂きました。「若手研究者からのメッセージ」には、最先端の研究に真摯に向き合っておられる東京大学 山口哲志先生、東北大学 伊野浩介先生、東京農工大学 根岸 諒先生より、想いの籠もった熱い原稿を頂戴しました。「海外の研究室から」には、東京大学の太田誠一先生にトロント大学での充実の日々をご紹介頂きました。これから海外で研鑽を積もうという若手の気持ちを温かく後押しする、貴重な情報とご経験を共有頂いています。「学会活動報告」には、バイオテクノロジー部会若手会のお世話を頂いている産業技術総合研究所の古谷先生に、若手フォーラムの活況をご紹介頂きました。最後に、「研究会・国際会議から」には、北海道大学の中島一紀先生、北九州高専の高原茉莉先生に、最近参加された国際会議の詳細をご寄稿頂きました。

今回、先生方からお送り頂いた原稿を1編に纏める作業に携わりながら、貴重なスナップショットをアルバムに収めていくような感覚に陥りました。News Letter は、現役世代には血の通った学術資料、次世代にはその時々々の思想やビジョン、時代背景を切り抜いた歴史的アーカイブとして読み継がれていくものなのだということを、改めて感じた次第です。

次号 Vol.23, No.1 は 8月1日の発行を予定しております。

NEWS LETTER Vol. 22, No.2 (2019年 2月1日発行)

事務局：〒101-8307 東京都千代田区神田駿河台1-5, 日本化学会バイオテクノロジー部会
Office of Secretary: The Chemical Society of Japan, 1-5, Kanda-Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101-8307,
Japan