

## 1 細胞解析のための光応答性細胞培養表面の創成

Photoresponsive cell culture surfaces for single-cell analysis

研究分野  
Department分子システム創成化学  
Synthetic Chemistry for Molecular Systems研究者  
Researcher山口哲志 S. Yamaguchi  
山平真也 S. Yamahiraキーワード  
Keyword1 細胞アレイ、細胞ソーティング、細胞間相互作用  
Single-cell array, Cell sorting, Cell-cell communication応用分野  
Application1 細胞解析、再生医療、細胞治療、がん免疫療法  
Single-cell analysis, Regenerative medicine, Cell therapy, Cancer immunotherapy

研究開発段階

基礎

実用化準備

応用化

## 背景

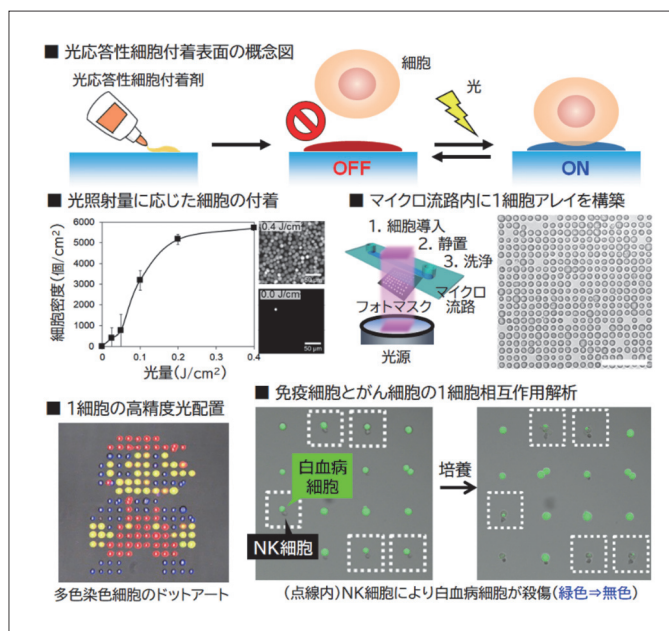
細胞の不均一性に注目が集まり、個々の細胞の特徴や性質を大規模に調べる技術が必要とされています。そこで、細胞を1つずつ並べて集積し、その単一細胞の表現型を網羅的に観察して解析する技術が盛んに研究されています。さらに、特徴的な表現型に応じて細胞を選別・回収し、遺伝子発現を調べることによって、その表現型に関連する鍵遺伝子を同定する技術が必要とされています。

## 概要・特徴

●細胞自身の接着性に関わらず、どんな細胞の付着も、自在に光制御できる基板表面を開発しました。  
●複数種類の細胞を光配置して、その相互作用を1細胞解析する技術を開発しました。

## 技術内容

●光照射に応じて細胞が付着しなくなる表面、逆に付着するようになる表面、光の波長や照射量で付着力が変わる表面の開発に成功してきました。  
●1枚のスライドガラス上に、接着性のない免疫細胞を数万個並べ、その運動性や細胞内分子局在変化を1細胞定量解析することに成功しました。  
●複数種類の細胞を1細胞レベルの精度で、自由自在に光配置できる基板表面を開発しました。  
●免疫細胞とがん細胞の1細胞のペアを並べて、免疫細胞のがん細胞傷害性を大規模に1細胞観察し、その傷害性や殺傷メカニズムを画像解析データの機械学習によって自動分類することに成功しました。



## 社会への影響・期待される効果

従来の技術と異なり、培養基材の表面に化学修飾するだけで、どんな細胞の付着も光制御できます。そのため、これまで大規模に観察するのが難しかった細胞の表現型を初めて1細胞解析できるようになり、細胞集団の中に隠れて識別できなかった少数のレアな細胞を見つけて、調べることができます。その結果、未知の生命システムの発見や、創薬や早期診断のための新しい標的遺伝子の同定、再生医療や細胞治療に用いる治療用細胞の品質管理や選別に貢献すると期待されます。今回焦点をあてた1細胞解析以外にも、固相表面への細胞の付着を自在に光制御できる本技術は、細胞を使ったセンサーの構築や細胞のマニピュレーション、オルガノイド作製など、幅広い応用が考えられます。

## 【論文 Paper】

- [1] Angew. Chem. Int. Ed. 51 (2012) 128  
[2] Lab Chip 17 (2017) 1933  
[3] Biomater. Sci. 7 (2020) 4514

- [4] J. Am. Chem. Soc. 122 (2022) 13154  
[5] J. Am. Chem. Soc. 122 (2022) 17980

## 【特許 Patent】

- [1] 特許第6901714号  
[2] 特許第7205910号  
[3] 特許第7236126号

タンパク質や細胞を遠隔操作する  
嵩高いケーシング技術の創成

Sterically bulky caging for remote-control of proteins and cells

研究分野  
Department分子システム創成化学  
Synthetic Chemistry for Molecular Systems研究者  
Researcher山口哲志  
S. Yamaguchiキーワード  
Keywordケーシング、光分解性保護基、タンパク質、細胞  
Caging, Photolabile protection, Proteins, Cells応用分野  
Applicationドラッグデリバリー、バイオ医薬、細胞治療、再生医療  
Drug delivery, Biopharmaceuticals, Cell therapy, Regenerative medicine

## 研究開発段階

基礎

実用化準備

応用化

## 背景

タンパク質や細胞の機能を刺激応答性に変換する技術は、治療用のタンパク質や細胞を局所的に活性化でき、副作用無く、安全に投与できるようにします。生体分子に光分解性の保護基を修飾して一時的に不活性化する技術を「ケーシング」と呼びます。ケーシングされた分子は、光照射によって保護基が外れ、活性化されるため、その機能が光制御できます。これまでに様々な生体分子がケーシングされてきましたが、サイズの大きなタンパク質などを簡便かつ効果的にケーシングする技術が無く、新しい方法が求められてきました。

## 概要・特徴

- 遺伝子操作を用いずに、どんなタンパク質も化学的に光応答性に変換できる「嵩高いケーシング法」を開発しました。
- 嵩高い光溶解性の分子集合体で表面を覆うことで、細胞をケーシングする技術を開発しました。

## 技術内容

● ビオチン分子を修飾したケーシング試薬を開発し、この試薬で化学修飾することで、任意のタンパク質を光応答性に変換する「嵩高いケーシング法」を確立しました。

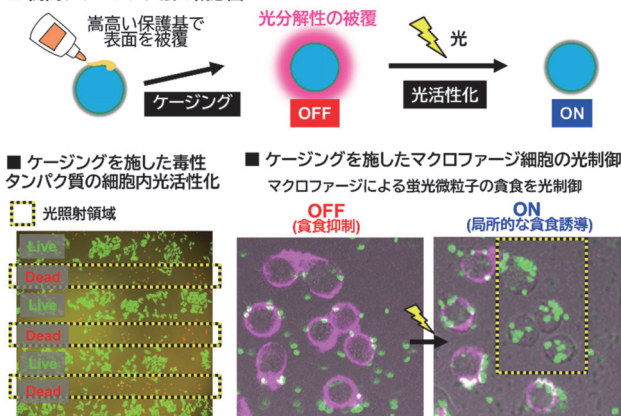
● 細胞内で核酸を分解する酵素や細胞表層の受容体に作用するタンパク質などを、細胞内外で光活性化することに成功しました。

● 立体障害の大きな光分解性の分子複合体でタンパク質表面を全体的に被覆する「嵩高いケーシング法」のコンセプトを細胞にも応用し、細胞のケーシングに世界で初めて成功しました。

## 社会への影響・期待される効果

従来の技術と異なり、試薬を混ぜるだけで、どんなタンパク質やどんな細胞も簡単に光応答性に変換することができます。そのため、望みの場所、タイミングでの活性化を介して、生命現象におけるタンパク質や細胞の時空間的な役割を明らかにできます。また、ケーシングを施した治療用のタンパク質や細胞を投与し、光線力学的療法と同様に、内視鏡などを用いて患部でのみ光活性化することで、活性の強いタンパク質や細胞を副作用なく治療に使用できるようになります。現在、この嵩高いケーシング法を用いて、タンパク質やプラスミド、細胞を光応答性に変換してきましたが、開発した試薬の分解性を他の刺激で分解するように変えることで、様々な刺激応答性に変換できるようになると期待されます。

## ■ 嵩高いケーシング法の概念図



## 【論文 Paper】

- [1] Chem. Commun. 46 (2010) 2244
- [2] Chem. Commun. 49 (2013) 3013
- [3] Adv. Health. Mater 5 (2016) 1002
- [4] Bioconj. Chem. 32 (2021) 1535
- [5] Chem. Eur. J. 28 (2022) e202103941
- [6] ChemBioChem 23 (2022) e202200476

## 特許 Patent】

- [1] 特願2015-179135号

## 超高感度ナノポアウイルスセンサー

Ultra-sensitive nanopore virus sensor

研究分野  
Departmentバイオナノテクノロジー  
Bio-Nanotechnology研究者  
Researcher

谷口正輝 M. Taniguchi 筒井真楠 M. Tsutsui 田中裕行 H. Tanaka 小本祐貴 Y. Komoto

キーワード  
Keywordウイルス、ナノポア  
virus, nanopore応用分野  
Applicationウイルスセンサー  
virus sensor

## 研究開発段階

基礎

実用化準備

応用化

## 背景

従来、インフルエンザの型判定は、イムノクロマト検査キットに現れるマーカーの有無を、熟練者が目視で判断する形式で行われており、ウイルス数が少ない感染初期の段階では判定が難しいだけでなく、その的中率は個人の能力にも依存していました。

## 概要・特徴

極薄窒化シリコン膜中に開けられたナノ細孔(ナノポア)を通るイオン電流を計測するナノポア法を用いて、インフルエンザウイルスを1個レベルで検出しました。

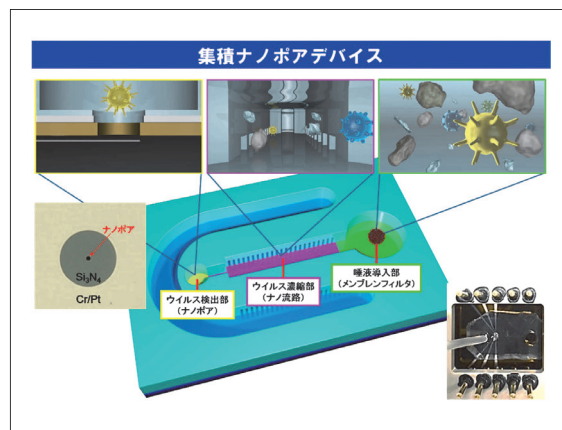
## 技術内容

我々は、ナノポアセンシングの単一粒子検出能という究極の感度を用いて、インフルエンザウイルスの検出を行いました。さらにそのシグナル解析では、従来利用されてきた波形の高さや幅だけではなく、シグナルの立ち上がり角度や尖り具合(尖度)などの特徴量を利用しました。この高次元解析を、AI技術を用いることにより、人間の目ではもはや判別不可能なシグナルのわずかな違いも判別できるようになり、今回の成果へと繋がりました。

インフルエンザウイルス粒子1個で72%,20個以上の検出で95%以上の精度で型判定が可能であることを実証しました。これにより、検査者の能力に依存しない、感染初期でのインフルエンザウイルス型判定の実現が期待されます。

## 社会への影響・期待される効果

本研究成果により、判定する人の能力に依存しない、感染初期でのインフルエンザの型判定が可能になり、患者の負担軽減やウイルス感染の拡大抑止が期待されます。また、本手法はインフルエンザのみならず、あらゆるウイルス種への応用が可能な原理を有しており、従来の1種類のウイルス同定のみに限定されている現状の検査キットの性能を大きく超える、多項目ウイルス検査の実現が期待されます。



## 【論文 Paper】

- [1] Sci. Rep. 7 (2017) 17371.
- [2] ACS Nano, 10 (2016) 803.
- [3] Appl. Phys. Lett., 104 (2014) 163112.
- [4] Sci. Rep. 3 (2013) 01855.
- [5] Appl. Phys. Lett., 103 (2013) 013108.
- [6] "Scientific Reports" on Friday, November 2. (2018.).

## 【特許 Patent】

- [1] 特願2012-017325
- [2] 特願2012-286115
- [3] 特願2013-047373

## 1 分子量子シーケンサー

Single molecule DNA sequencer

研究分野  
Departmentバイオナノテクノロジー  
Bio-Nanotechnology研究者  
Researcher

谷口正輝 M. Taniguchi 筒井真楠 M. Tsutsui 田中裕行 H. Tanaka 小本祐貴 Y. Komoto

キーワード  
KeywordマイクロRNA、がん診断、1分子技術  
microRNA, cancer diagnosis, single molecular technologies応用分野  
Application次々世代DNAシーケンサー  
next generation DNA sequencer

研究開発段階

基礎

実用化準備

応用化

## 背景

これまで、マイクロRNAによるがん診断は、乳がんや肺がんなどの早期診断を可能にすることが知られていました。マイクロRNAによるがん診断を行うためには、数種類のマイクロRNAの塩基配列とその量比を同時に決定する定量解析が必要ですが、これまでの解析方法では定量解析が不可能でした。

## 概要・特徴

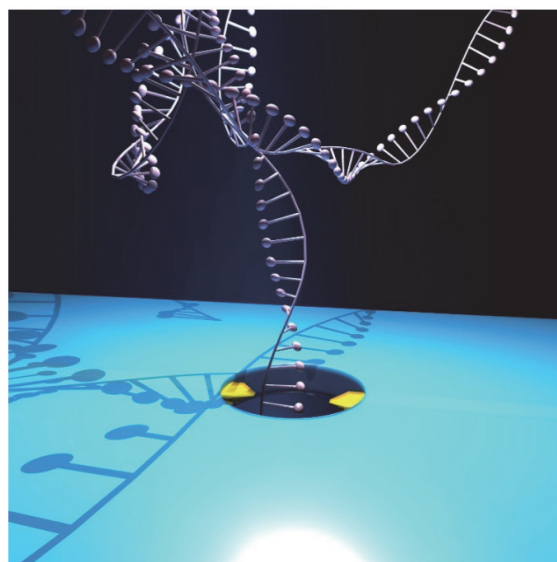
1分子レベルでマイクロRNAの塩基配列、化学修飾、量比を同時に決定する1分子定量解析法を世界で初めて開発しました。

## 技術内容

1分子量子シーケンシング法は、1塩基分子の電気抵抗の違いをトンネル電流で読み出す方法であり、DNAやマイクロRNAの塩基配列、ペプチドのアミノ酸配列、および化学修飾された塩基分子とアミノ酸分子を直接解読できる方法です。さらに、特定の塩基配列・アミノ酸配列や化学修飾塩基分子・アミノ酸をマーカーにすることで、計測分子数を決定できます。今回、当研究グループは、1分子量子シーケンシング法により、がんの診断マーカーであるマイクロRNAの塩基配列、化学修飾、および量比を同時に決定する1分子定量解析に成功しました。これにより、マイクロRNAを利用した乳がんや肺がんなどの早期診断が期待されます。

## 社会への影響・期待される効果

本研究成果により、マイクロRNAによる乳がんや肺がんなどの早期診断が期待されます。また、本1分子量子シーケンシング法は、マイクロRNAをそのまま1分子レベルで定量解析でき、マイクロRNAをDNAに逆転写してDNAを増幅する操作が不要となるため、低コストかつ迅速ながん診断が期待されます。



## 【論文 Paper】

[1] "Scientific Reports" (online) on September 29, 2021. "Single-molecule RNAsequencing for simultaneous detection of m6A and 5mC"

## 化学発光タンパク質を利用したオンサイト検出法の開発

Development on-site investigation system by chemiluminescent proteins

研究分野  
Department生体分子機能科学  
Biomolecular Science and Engineering研究者  
Researcher永井健治  
T. Nagaiキーワード  
Keyword化学発光タンパク質、オンサイト診断、スマートフォン  
chemiluminescent protein, on-site diagnosis, smart devices応用分野  
Application医療、環境調査  
clinical use, environmental investigation

研究開発段階

基礎

実用化準備

応用化

## 背景

我々の研究室では、肉眼でみえるほど明るく、多色な化学発光タンパク質を開発してきました[1]。  
この明るさを利用して、様々な検出技術への応用を展開しています。

## 概要・特徴

化学発光タンパク質とスマートフォンを組み合わせ、血液成分を高感度・迅速・オンサイトで検出可能なシステムを開発しました。

## 技術内容

化学発光タンパク質を利用したバイオセンサー①②を開発しました[2][3]。対象となる分子の濃度を発光波長の変化、つまり色の変化により計測します。これらのセンサーは非常に明るい発光を示すため、その色変化をスマートフォンなどのカメラを用いて検出することができます。

極微量の血液から高感度に検査対象を測定することが可能です。

- ①ビリルビンバイオセンサー「BABI」新生児黄疸の原因分子であるビリルビンを検出します(図1右上)。
- ②トロンビンバイオセンサー「Thrombastor」血栓症の原因となりうる血液凝固因子トロンビンの活性を検出します(図1右下)。

## 社会への影響・期待される効果

化学発光タンパク質を利用したセンサーは特別な装置を用意する必要がなく、その場で簡便に、迅速にシグナルを得ることができるため、オンサイト検出の実現に適したツールです。

スマートフォンなどの汎用的な機器を用いた検査方法を確立することで、誰もが気軽に健康診断ができる社会が実現されます。また、通信機能と組み合わせることで、検査結果を医療機関へ送り診断を仰ぐ、といった在宅医療の新しい形が期待されます。

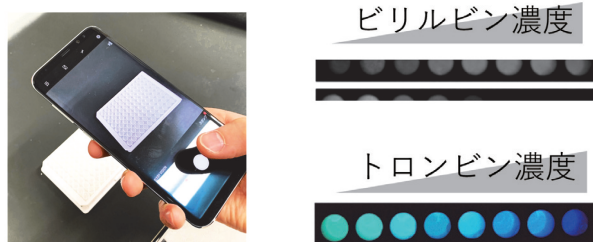


図1. 化学発光タンパク質を利用したバイオセンサーによる血中成分の検出。右上. BABIによるビリルビンの検出。ビリルビンの濃度に応じて、血液を通した発光色が青から橙に変化する。スマートフォン搭載のカメラで撮影し、色成分を解析することで濃度が計算できる。右下. Thrombastorによるトロンビンの検出。トロンビンの濃度に応じて、発光色が緑から青に変化する。

## 【論文 Paper】

- [1] Nat. commun., 7, 13718, 2016
- [2] ACS Sensors, 6, 889-895, 2021.
- [3] Anal. Chem., 93, 13520-13526, 2021.

## 【特許 Patent】

- [1] 特願2017-013463「生体物質の検出方法、それに用いる化学発光指示薬」
- [2] 特願2018-565519「デバイス、及びそれを用いた判定システム」

## 蛍光タンパク質を用いた生理機能破壊ツールの開発

Fluorescence protein based inactivation tool for physiological function

研究分野  
Department生体分子機能科学  
Biomolecular Science and Engineering研究者  
Researcher永井健治  
T. Nagaiキーワード  
Keyword蛍光タンパク質、生理機能操作、光増感色素  
Fluorescent protein, Biomanipulation Photosensitizer応用分野  
Applicationオプトジェネティクス、バイオイメーシング、顕微鏡  
Optogenetics, Bioimaging, Microscopy

## 研究開発段階

基礎

実用化準備

応用化

## 背景

光増感色素は、光照射により活性酸素を産生し近傍の分子の機能を破壊することのできる分子です。当研究室では遺伝子工学技術を利用して光増感能を持つ蛍光タンパク質を開発し、細胞機能操作へ応用展開しています。

## 概要・特徴

光照射により活性酸素を産生する光増感蛍光タンパク質を開発し、生きている細胞内での光照射による自在な生理機能破壊への応用展開を進めています。

## 技術内容

- クラゲ由来の赤色蛍光タンパク質を遺伝子改変して、橙色光照射により活性酸素を産生する単量体型光増感赤色蛍光タンパク質SuperNova Red (SNR) を開発しました[1]。
- SNRに対してさらにアミノ酸変異を導入して、青色光照射により活性酸素を産生する波長変異体の単量体型光増感緑色蛍光タンパク質SuperNovaGreen (SNG) を開発しました[2]。
- 光照射によりSNR、SNGを融合させたタンパク質の機能の破壊や、シグナル配列の融合によりこれらをミトコンドリア局在させた細胞への細胞死の誘導に成功しました。
- 照射する光の波長を切り替えることによって、SNRとSNGによる蛋白質機能破壊、細胞死誘導を異なるタイミングで起こすことに成功しました[2]。

## 社会への影響・期待される効果

光増感蛍光タンパク質は遺伝子でコードされているため、機能破壊の標的となるタンパク質との融合タンパク質として発現させてやれば様々なタンパク質分子の機能破壊に応用することができます。最近ではこの技術を発展させることによって、光照射によりマウスの記憶を消去する実験にも成功しており[2]、医薬研究等への貢献が期待されます。

## 【論文 Paper】

- [1] Takemoto K. et al. Sci. Rep., 3, 2629, 2013  
 [2] Riani Y. D. et al., BMC Biol., 16, 50, 2018  
 [3] Goto A. et al., Science, 374, 857, 2021

## 【特許 Patent】

- [1] 特願2010-22603「光増感蛍光タンパク質」

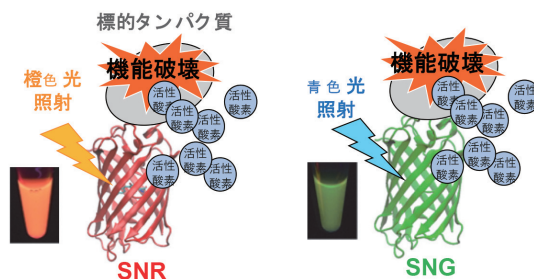


図1. SuperNova タンパク質機能破壊の概念図

HeLa細胞 共培養

緑色: SuperNova Green 発現細胞  
 マゼンタ: SuperNova Red 発現細胞

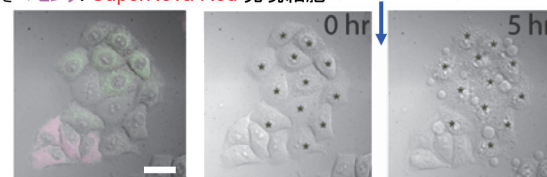


図2. SNG/SNR 発現HeLa細胞共培養系に対する青色光照射によるSNG発現細胞特異的な細胞死誘導。

## ヒト嗅覚システムを再現した匂いセンサーの開発

Development of odor sensor mimicking human olfactory system

研究分野  
Department生体分子反応科学  
Biomolecular Science and Reaction研究者  
Researcher黒田俊一 立松健司  
S. Kuroda K. Tatematsuキーワード  
Keyword匂いの数値化、ヒト嗅覚受容体、嗅覚受容体アンタゴニスト  
smelldigitization, human olfactory receptor, odorant-receptor antagonist応用分野  
ApplicationAI調香師、消臭剤、仮想現実  
AI perfumer, deodorizer, virtual reality

研究開発段階

基礎

実用化準備

応用化

## 背景

食品、香粧品等の広範な製品開発において匂いの官能試験は非常に重要ですが、試験士の資質に大きく依存するため、再現性やスループット性が低く、しかも他者との情報共有が困難でした。一方、化学系匂いセンサーは特定の匂いしか検出できず、官能試験との連携は不可能でした。

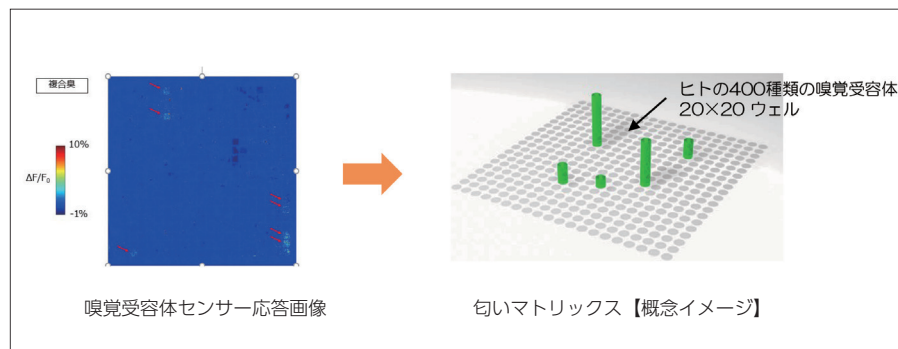
## 概要・特徴

ヒト嗅覚受容体全て（約400種類）を用いた嗅覚受容体センサーを作製し、ヒトの感じる匂い全てを定量することに成功しました。

## 技術内容

人間の視覚や聴覚の情報はデジタル化され「情報の正確な記録と再現」が可能となっており、映像作品や音楽として商業的に活用されています。一方で、嗅覚情報は「匂いの基準」となるものが存在せず、匂いを正確に表現することが困難でした。

私たちはヒトの約400種類の嗅覚受容体を発現する細胞からなる嗅覚受容体センサーを開発しました(特許技術、図左)。この匂いセンサーはヒトの嗅覚受容体を網羅的に発現させたものであり、ヒトが匂いを感じる仕組みをアレイ上で再現したものです。各嗅覚受容体の応答は細胞内カルシウムイオンの濃度変化を蛍光強度に変換し、約400種類の嗅覚受容体の応答を一括測定することができます。これにより、約400種類の嗅覚受容体の応答をまとめた匂いの基準「匂いマトリックス」の作成、すなわち嗅覚情報のデジタル化が実現されます(図右)。



## 社会への影響・期待される効果

これまで匂いのデジタル化そのものが困難であったため、当技術の市場展開が匂い関連製品にパラダイムシフトを起こす可能性があります。具体的には、遠隔地への匂い情報の転送と再構成（匂いが伝わるテレビや映画）、嗅覚受容体応答情報の医療への応用（アロマセラピーの発展型等）が想定されます。

## 【論文 Paper】

- [1] Sensors (Basel) 23 (2023) 6164
- [2] Biosci. Biotechnol. Biochem. 86 (2022) 1562–1569
- [3] 生産と技術 72 (2020) 78–80
- [4] Aroma Research 20 (2019) 38–39

## 【特許 Patent】

- [1] 特許出願2019-536790

## 遺伝子の迅速検査技術

Development of rapid, accurate, and cost effective technology for gene analysis

研究分野  
Department精密制御化学  
Regulatory Bioorganic Chemistry研究者  
Researcher中谷和彦  
K. Nakataniキーワード  
Keyword遺伝子、ウイルス、診断  
genome, virus, diagnosis応用分野  
Application遺伝子検査キット  
diagnosis kit for genetic analysis

## 研究開発段階

基礎

実用化準備

応用化

## 背景

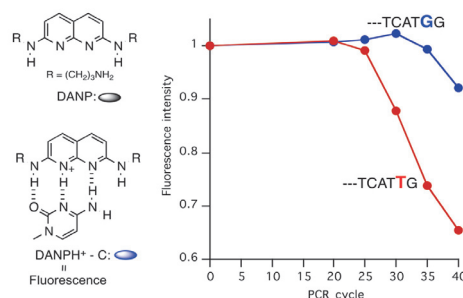
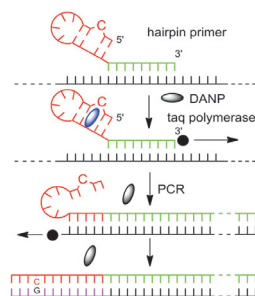
実用的な迅速且つ高精度なウイルス検出を目指し、簡便な遺伝子検出法の開発を行います。

## 概要・特徴

DNAのシトシンバルジに特異的に結合し蛍光を発する低分子リガンド(DANP)を化学修飾したプライマーを用い、特徴的な蛍光強度変化から遺伝子検査を行うヘアピンプライマーPCR法を開発しました。

- 遺伝子を迅速、簡便、安価に検査、検出する技術
- 基本はポリメラーゼ連鎖反応(PCR)を用いる
- ウイルスの迅速な確定検査技術としての実用化を検討中

## ヘアピンプライマーPCR法



## 技術内容

PCRのプライマー3'側にシトシンバルジをもつプライマーを使います。低分子リガンドDANPはシトシンバルジに結合すると蛍光を発します。PCR前はプライマーが大量に有るため、DANPの結合により蛍光強度が高い。PCRが進行するとプライマーのヘアピン構造が解消し、DANPが結合することができず蛍光強度が低下します。PCR前と後の蛍光強度により、PCRの進行(プライマーの消費)度合い、即ち、検査する遺伝子の量や存在の有無が判ります。

## 社会への影響・期待される効果

- コスト従来比1/10
- 従来技術に比べて圧倒的な簡便性
- ウイルス増殖を待つ必要の無い、初期感染時期での検査が可能

## 【論文 Paper】

- [1] Secondary Structure-Inducible Ligand Fluorescence Coupled with PCR, Takei, F.; Igarashi, M.; Hagihara, M.; Oka, Y.; Soya, Y.; Nakatani, K. Angew. Chem. Int. Ed. 2009, 48, 7822-7824.
- [2] Competitive Allele-specific Hairpin Primer PCR for Extremely High Allele Discrimination. Takei, F.; Igarashi, M.; Oka, Y.; Koga, Y.; Nakatani, K. ChemBioChem 2012, 13, 1409-1412.

## 【特許 Patent】

- [1] 特開2008-125425
- [2] 特願2010-054658号
- [3] 特願2012-51551号

## 核酸標的低分子創薬基盤技術開発

Development of research tools and molecules accelerating research toward small-molecule drugs targeting nucleic acids

研究分野  
Department精密制御化学  
Regulatory Bioorganic Chemistry研究者  
Researcher中谷和彦  
K. Nakataniキーワード  
Keyword低分子、核酸、DNA、RNA、創薬  
small molecule, nucleic acids, DNA, RNA, drug development応用分野  
Application創薬リード創出、スクリーニング技術  
drug lead development, screening technology

## 研究開発段階

基礎

実用化準備

応用化

## 背景

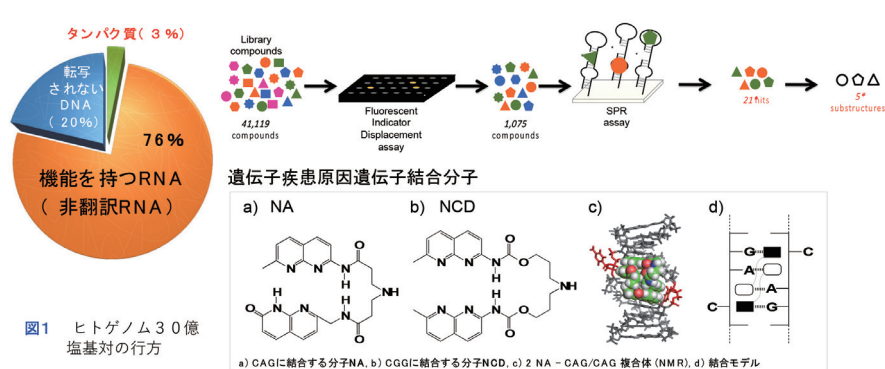
ヒトゲノムの3/4を占める非翻訳RNAなど、機能を有する核酸を標的とした低分子創薬に大きな期待が寄せられています。欧米の研究速度に負けない、創薬研究の加速を支援します。

## 概要・特徴

- 標的を標識せずに、化合物ライブラリーを混ぜるだけの簡便な「蛍光ディスプレイメントアッセイ」。
- 既に創薬企業2社が採用。
- 表面プラズモン共鳴 (SPR) を使った、標的DNA・RNA結合分子の探索技術
- 世界で唯一無二のハンチントン病 (CAGリピート)、脆弱X症候群 (CGGリピート) 結合分子開発実績

## 技術内容

- 1) HTS対応蛍光ディスプレイメントアッセイ
- 2) 疾病関連DNA、RNA結合分子探索・開発技術
- 3) 創薬候補低分子に結合するRNAの探索



## 社会への影響・期待される効果

- 核酸を標的とした低分子創薬開発
- 企業における核酸標的低分子創薬の加速、参入障壁低減

## 【論文 Paper】

- [1] Scanning of guanine-guanine mismatches in DNA by synthetic ligands using surface plasmon resonance assay, Nakatani, K.; Sando, S.; Saito, I. Nat. Biotechnol. 2001, 19, 51-55.
- [2] Small-molecule ligand induces nucleotide flipping in (CAG)<sub>n</sub> trinucleotide repeats, Nakatani, K.; Hagihara, S.; Goto, Y.; Kobori, A.; Hagihara, M.; Hayashi, G.; Kyo, M.; Nomura, M.; Mishima, M.; Kojima, C. Nature Chemical Biology 2005, 1, 39-43.

## 【特許 Patent】

- [1] PCT/IB2017/054932 (平成29年8月12日) 他

## 多剤耐性菌感染症を克服するための創薬研究

Drug Discovery to Overcome Multidrug-Resistant Bacterial Infections

研究分野  
Department生体分子制御科学  
Biomolecular Science and Regulation研究者  
Researcher

|                     |                     |
|---------------------|---------------------|
| 西野邦彦<br>K. Nishino  | 山崎聖司<br>S. Yamasaki |
| 西野美都子<br>M. Nishino | 田口厚志<br>A. Taguchi  |

キーワード  
Keyword多剤耐性、化学療法、細菌感染症  
multidrug resistance, chemotherapy, bacterial infection応用分野  
Application感染症治療  
treatment of infection

## 研究開発段階

基礎

実用化準備

応用化

## 背景

世界中で抗菌薬で治療することができない薬剤耐性菌による感染症が問題となっている。薬剤排出ポンプは抗菌薬を細菌の中から外へ排出することで、細菌多剤耐性化に関係しています。

## 概要・特徴

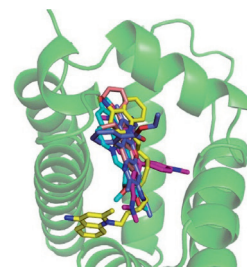
私たちの研究室では、抗菌薬を効かせなくする病原細菌について、薬剤排出ポンプの機能と制御機構に着目し、細菌の適応能力を明らかにした上で、新たな感染症治療戦略の開発に取り組んでいます。

## 技術内容

ポストゲノム解析を駆使して、これまでに細菌ゲノムに潜む数多くの薬剤排出ポンプと、その制御ネットワークを同定してきました。これらの同定された因子は、多剤耐性を克服する新たな薬のターゲットとして期待されています。さらには、病原性発現と多剤耐性の両方に関与する制御因子の構造を明らかにしました。薬剤排出ポンプや制御因子に対する阻害剤を用いることによって病原性を軽減させながら、細菌の多剤耐性化を抑制する新たな感染症治療が可能になります。

## 社会への影響・期待される効果

- 世界中で問題となっている多剤耐性菌感染症の克服
- 感染症新規治療戦略の確立



薬剤排出ポンプ制御因子による抗菌薬認識

## 【論文 Paper】

- [1] Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci. 100 (2024) 57-67. Changes in the expression of mexB, mexY, and oprD in clinical Pseudomonas aeruginosa isolates.
- [2] Front. Microbiol. 14 (2023) 954304. Investigating multidrug efflux pumps associated with fatty acid salt resistance in Escherichia coli.
- [3] J. Biol. Chem. 299 (2023) 104892. Functional and structural characterization of Streptococcus pneumoniae pyruvate kinase involved in fosfomycin resistance.
- [4] Antimicrob. Agents Chemother. 66 (2022) e00672-22. Spatial Characteristics of the Efflux Pump MexB Determine Inhibitor Binding.
- [5] Front. Microbiol. 13 (2022) 839718. Identification of Bacterial Drug-Resistant Cells by the Convolutional Neural Network in Transmission Electron Microscope Images.
- [6] Antimicrob. Agents Chemother. 66 (2022) e02392-21. Proximal Binding Pocket Arg717 Substitutions in Escherichia coli AcrB Cause Clinically Relevant Divergencies in Resistance Profiles.
- [7] Front. Microbiol. 11 (2020) 581571. Identification of Genetic Variants via Bacterial Respiration Gas Analysis.
- [8] Commun. Biol. 2 (2019) 340. Phylogenetic and Functional Characterisation of the H. influenzae multidrug efflux pump AcrB.
- [9] Nature Commun. 9 (2018) 124. Multiple Entry Pathways within the Efflux Transporter AcrB Contribute to Multidrug Recognition.
- [10] Nature Commun. 4 (2013) 2078. The Crystal Structure of Multidrug-Resistance Regulator RamR with Multiple Drugs.
- [11] Nature 500 (2013) 102-106. Structural Basis for the Inhibition of Bacterial Multidrug Exporters.
- [12] Nature 480 (2011) 565-569. Structures of the Multidrug Exporter AcrB Reveal a Proximal Multisite Drug-Binding Pocket.
- [13] Mol. Microbiol. 59 (2006) 126-141. Virulence and Drug Resistance Roles of Multidrug Efflux Systems of Salmonella enterica Serovar Typhimurium.
- [14] Science 307 (2005) 864. Bacterial Multidrug Exporters: Insights into Acquisition of MDR.

脂溶性生理活性物質の輸送体の同定と  
輸送体を標的とした創薬

Discovery of a drug that is targeting a novel lipid mediator transporter

研究分野  
Department生体分子制御科学  
Biomolecular Science and Regulation研究者  
Researcher西 毅  
T. Nishiキーワード  
Keyword免疫抑制剤、リンパ球、輸送体、阻害剤、脂質メディエーター  
immunosuppressant drug, lymphocyte, transporter, inhibitor, lipid mediators応用分野  
Application自己免疫疾患治療、がん転移抑制、感染症治療  
treatment of autoimmune diseases, suppression of tumor cells metastasis, treatment of infection

研究開発段階

基礎

実用化準備

応用化

## 背景

脂溶性の生理活性物質（脂質メディエーター、ステロイドホルモン、ビタミン等）の細胞内外での輸送機構が様々な細胞機能に必須であることがわかってきました。

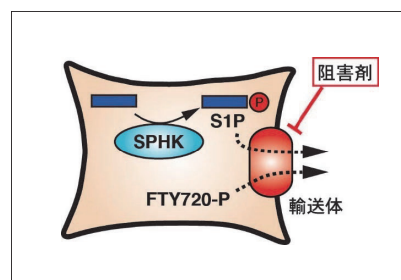
## 概要・特徴

我々は生理活性脂質であるスフィンゴシン 1 リン酸 (S1P) をモデルとして、細胞外への放出輸送体 SPNS2 や MFSD2B を同定し、これら輸送体の活性を測定する細胞系を開発しました。S1P 輸送体の阻害剤はこれまでに無い新しい作用機序で副作用の少ない免疫抑制剤や抗がん剤のターゲットとして有効であると考えられます。

S1P を細胞内に蓄積する細胞を構築し、そこに輸送体を発現させることで輸送活性を測定できる系を確立しており、この系を用いて阻害剤のスクリーニングが可能です。またこの系は、新しい輸送体や異なる生理活性脂質の輸送系の探索にも応用可能です。

## 技術内容

S1P はヒトでは免疫細胞の血管移行に中心的な役割を果たします。そのため S1P 受容体は免疫抑制剤の開発の標的となり、FTY720 などの薬が開発されました。しかし、受容体の多様性などから依然として副作用が存在し、S1P 受容体の欠損マウスは胎生致死となります。我々は S1P の細胞外への供給に関わる輸送体を同定し、この輸送体の欠損マウスでは他に顕著な異常を示すことなく、血液中へのリンパ球の移行のみが特異的に抑制されることを見いだしました。このことからこの輸送体の阻害剤がこれまでに無い新しい作用機序で副作用の少ない免疫抑制剤や阻害剤のターゲットになります。測定系が確立しており阻害剤の探索はすぐにでも開始できます。



## 社会への影響・期待される効果

- 副作用の少ない免疫抑制剤の実現
- トランスポーターオリエンティッドな新しい作用機序を持つ創薬の実現

## 【論文 Paper】

- [1] Science 323, 524-527 (2009)
- [2] J Biol Chem. 286, 1758-1766 (2011)
- [3] PLoS ONE 7(6): e38941 (2012)
- [4] J Lipid Res 57: 2088-2094 (2017)
- [5] Sci.Rep. 8 (1), 1-11(2018)

## 【特許 Patent】

- [1] 特許第5373346号スフィンゴシン 1-リン酸の新規トランスポーター分子