

ソフトインターフェースの  
分子科学

超高速バイオアセンブラ

文部科学省  
科学研究費補助金

新学術領域研究

ナノメディシン分子科学

融合マテリアル  
分子制御による材料創成と機能開拓

文部科学省科学研究費補助金

# 新学術領域研究 合同公開シンポジウム

2012年7月10日(火) 13:15-17:00

東京大学 小柴ホール

## ご挨拶

本格的に夏を迎え、暑い日が続いております。

さて、この度、同時期に研究期間を迎えております文部科学省科学研究費補助金「新学術領域研究（研究領域提案型）」の相互の連携をはかり、これらの分野のより一層の発展を期すために関連する4つの新学術領域研究の合同公開シンポジウムを開催する運びとなりました。

これらの新学術領域研究は、それぞれ独創的、先進的な学術分野の創成と確立を目的として、多くの研究者が研究班を組織して高度な連携のもとに学術研究を推進しています。個々の研究成果の向上はもとより、ここでの研究組織が将来この学術分野を牽引していくとともに、我が国の学術基盤、産業基盤を支える人材の育成も視野に入れております。既存の概念を超える新しい学術の創成は、想像もしない革新的技術の創発をもたらす事があります。

新学術領域研究における重要なキーワードは協調と連携です。研究領域内のみならず、それを越えた協調、連携はさらなる飛躍的な学術分野の広がりや深さを増すと考えております。今回、4つ新学術領域研究の協力のもと新しい試みとして、これらの合同公開シンポジウムを開催できます事は至上の喜びであるとともに、新しい連携を思考する良い機会と捉えております。ここでは「生体を構成する細胞とこれを取り巻く環境の理解と制御」をトピックスとして取り上げ、各新学術領域より話題提供をいただく事といたしました。また、米国 Clemson University の長富次郎先生に特別講演をお願いいたしました。これを契機として、ますます連携が深まり新しい創造の可能性が生まれる事を確信しております。

4つの新学術領域研究を代表して  
ナノメディシン分子科学  
研究領域代表者 石原 一彦

平成 24 年 7 月 10 日

### 文部科学省科学研究費補助金 新学術領域研究（研究領域提案型）

- ソフトインターフェースの分子科学（研究領域代表者 前田 瑞夫）
- 融合マテリアル：分子制御による材料創成と機能開拓（研究領域代表者 加藤 隆史）
- 超高速バイオアセンブラ（研究領域代表者 新井 健生）
- ナノメディシン分子科学（研究領域代表者 石原 一彦）

## ■ プログラム/スケジュール

- 13:15 – 13:30 開会挨拶 石原 一彦 (東京大学)
- 13:30 – 14:30 特別講演 Jiro Nagatomi, Ph.D.  
(Clemson University)  
**“A Novel Mechanism for Cellular Mechanotransduction of Hydrostatic Pressure”**
- 14:30 – 15:00 ソフトインターフェースの分子科学 長崎 幸夫 (筑波大学)  
**「ハイブリッドバイオインターフェースの設計と機能」**
- 15:00 – 15:30 融合マテリアル: 分子制御による材料創成と機能開拓 大槻 主税 (名古屋大学)  
**「融合マテリアルの概念を用いるバイオマテリアルの創成」**
- 15:30 – 15:45 休 憩
- 15:45 – 16:15 超高速バイオアセンブラ 大和 雅之 (東京女子医科大学)  
**「次世代再生医療のための超高速バイオアセンブラ」**
- 16:15 – 16:45 ナノメディシン分子科学 石原 一彦 (東京大学)  
**「細胞内輸送を実現するナノバイオマテリアル」**
- 16:45 – 17:00 閉会挨拶 樋口 秀男 (東京大学)

# 講 演 要 旨

# A NOVEL MECHANISM FOR CELLULAR MECHANOTRANSDUCTION OF HYDROSTATIC PRESSURE

Jiro NAGATOMI, Ph.D.

Department of Bioengineering, Clemson University  
Clemson, South Carolina 29634-0905 USA

Although pressure is experienced throughout the body and regulated in various organ systems, conventionally it is thought that pressure changes cannot be sensed by cells. Recent data from various laboratories, however, suggest otherwise. Overall, the objective of this project was to test the hypothesis that cells sense hydrostatic pressure via activation of membrane-bound ion channels, and that cells respond by releasing ATP. In order to test this hypothesis, multiple in vitro studies were performed in which rat bladder urothelial cells were subjected to controlled hydrostatic pressure while monitoring their response to the stimulus.

First, using a custom-made pressure chamber, rat bladder urothelial cells were exposed to sustained hydrostatic pressure (5–20 cmH<sub>2</sub>O) for up to 30 min. When compared to the control, the supernatant culture media of urothelial cells exposed to hydrostatic pressure (10-15 cmH<sub>2</sub>O) exhibited a significant increase in ATP. In the absence of extracellular calcium, ATP release due to hydrostatic pressure was attenuated. Pharmacologically blocking TRP channels, stretch-activated channels (SACs), and the epithelial sodium channel (ENaC) all abolished the hydrostatic pressure-evoked ATP release. These results provided evidence for the first time that cultured urothelial cells are sensitive to physiologically relevant levels of hydrostatic pressure and that one or multiple mechanosensitive ion channels play a role in the mechanotransduction of hydrostatic pressure. These findings support the view that not only tissue stretch or tension, but also pressure is an important parameter for the sensing of bladder fullness.

Second, urothelial cells loaded with a fluorescence dye, calcein-AM were exposed to hydrostatic pressure up to 20 cmH<sub>2</sub>O while fluorescence intensity was measured in real-time. Urothelial cells exposed to hydrostatic pressure exhibited a sharp decrease in fluorescence intensity, indicative of a cell volume increase. These observations were confirmed by confocal imaging of primary urothelial cells, which displayed a 7.7% volume increase when exposed to 20 cmH<sub>2</sub>O. Exposing the cells to Na-free solution and blocking of epithelial sodium channels (ENaCs) during pressure application resulted in a significantly lower change in cell volume. These results provided part of a novel mechanism involving cell swelling for mechanotransduction of hydrostatic pressure and an explanation for the previously reported ENaC-dependent, pressure-evoked ATP release by urothelial cells. Finally, urothelial cells were exposed to hydrostatic pressure while monitoring the kinetics of ATP release. Urothelial cells exposed to pressure (10 cmH<sub>2</sub>O) exhibited a sharp increase in

ATP release that slowly decreased over time, while remaining elevated compared to baseline levels. This response was inhibited by blocking TRPV4 and ENaC. When urothelial cells were exposed to a hypotonic stimulus, a sharp increase in ATP was exhibited followed by an immediate decrease to baseline levels. This increase in ATP was inhibited when blocking TRPV4, but was still present, albeit attenuated compared to the unblocked cells, when blocking ENaC. These results suggest that both ENaC and TRPV4 activation are necessary for ATP release during exposure to hydrostatic pressure. In addition, the osmotic shock results suggest that ENaC is upstream of the cell swelling response, while TRPV4 activation occurs between cell swelling and the ATP release.

In summary, the results of the present study have provided a potential mechanism for cells to sense hydrostatic pressure changes, which may be an integral part of mechanosensory function of the bladder and other organs.

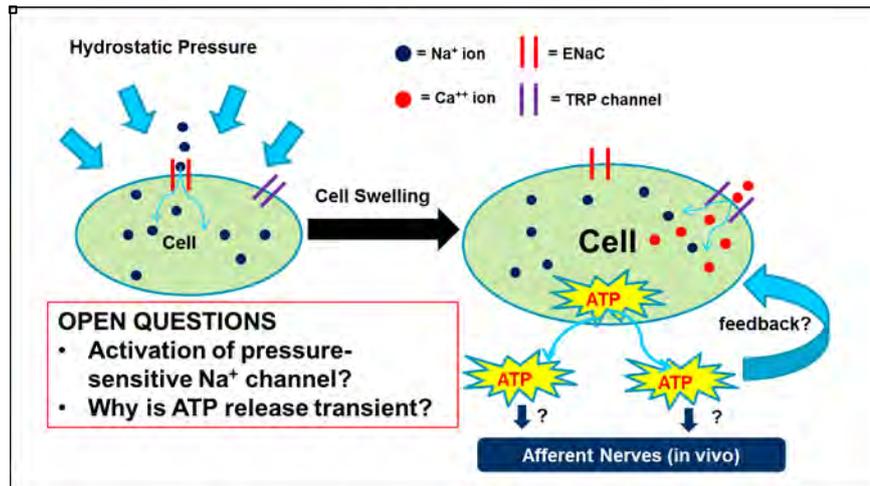


Figure 1. Schematic representation of the hypothesized mechanism for cellular mechanotransduction of hydrostatic pressure

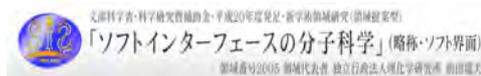
### Biosketch

Jiro Nagatomi is an associate professor of bioengineering and the director of Cell Mechanics and Mechanobiology Laboratory at Clemson University (South Carolina). He completed his B.S. followed by a Ph.D. in Biomedical Engineering with Rena Bizios at Rensselaer Polytechnic Institute (New York). His doctoral thesis was on an in-vitro investigation of the effects of hydrostatic pressure on bone cell functions. He worked as a post-doctoral research associate under Michael Sacks at the University of Pittsburgh (Pennsylvania) in the field of soft tissue biomechanics before assuming his current faculty position at Clemson University. His research group is interested in ion channels involved in cellular mechanotransduction of hydrostatic pressure and development of various biomaterials for soft tissue applications.

## ソフトインターフェースの分子科学

領域代表：前田 瑞夫（理化学研究所）

研究期間：平成20年度—24年度



### 【本領域の目的】

タンパク質・核酸・多糖類などの生体高分子、液晶や両親媒性分子、コロイドなど、大きな内部自由度を特徴とする有機物質は、ソフトマターと総称されます。これらソフトマターが形成する界面は、外部からの刺激によって構造や性質が大きく変化するソフトな特性をもちます。この動的な界面をソフトインターフェース（ソフト界面）と定義しました。ソフト界面は溶媒やイオンや基質が介在する3次的に厚みのある境界領域であって、その性質は単なる2次元界面ともバルクとも異なっています。すなわち、溶媒やイオンやゲスト分子との相互作用を通じて動的に構造や性質を変化させるという点、さらにこの動的変化が意味のある「仕事」となること、つまり「分子鎖」が仕事をする領域であるという点がその特徴です。ソフト界面は生物機能の多様性を支える源になっているばかりでなく、医療を支えるバイオマテリアルやバイオデバイスなどの性能を支配する重要な因子であります。しかし、その分子レベルの研究はほとんど進んでおらず、しばしば従来の知識では理解できない不思議な現象がみられます。たとえばバイオマテリアルやバイオチップにおいて界面の重要性は広く認識されているものの、生体高分子、高分子電解質、イオン種、水分子などが複雑に関与するため、未解明の問題が数多く存在します。しかし近年、ソフト界面の精密設計・制御やその特性解析・物性評価について独創性の高い研究が急速に進んできました。このようにソフト界面の理解・構築と機能創出に関して分野を超えて学際的研究を進めることを目的としています。

### 【本領域の内容】

生体分子、高分子などのソフトマターの界面は、外部からの刺激によって構造や性質が大きく変化するソフトな特性がその大きな特徴であり、この動的な界面をソフトインターフェースと定義する。ソフトインターフェースは、生物機能の多様性を支える源になっているばかりでなく、医療を支えるバイオマターやバイオデバイスなどの性能を支配する重要な因子と位置づけられる。しかし、その分子レベルの研究はほとんどなされておらず、しばしば従来の知識では理解できない現象がみられる。本領域「ソフトインターフェースの分子科学(略称:ソフト界面)」では、精密な分子設計や構造制御によるソフト界面の創成と、計測法の開発やモデリングに基づくソフト界面の特性解析を行い、界面が関与する新奇現象・物性を解明しつつ分子認識デバイスなどソフト界面の特性を活かした新たな機能材料の開発を進める。これらの研究によりソフトインターフェースの分子科学を創出していく。

### 【期待される成果】

本領域研究では、精密なソフト界面の創成とその特性解析を行い、界面が関与する不思議な現象・物性を解明しつつ、ソフト界面の特性を活かした機能材料の開発を進めることにより、新たな融合学術領域を創成することを目的としています。ソフト界面に関わる先導的研究や若手研究者による挑戦的研究を糾合して本領域を組織することにより、ソフト界面が示す不思議な現象が次々に解明され、その特性を活かした新機能材料が創出されることを期待しています。皆様のご支援とご指導をお願いいたします。

### 【ホームページ】

<http://www.riken.jp/soft-kaimen/index.html>

# ハイブリッドバイオインターフェースの設計と機能

筑波大学 物質・フロンティア医科学・WPI-MANA サテライト  
長崎 幸夫

基材表面に固定するバイオ分子の機能を失活させる事無く適正に配向させることは広く検討されており、たとえばオリゴヒスチジンを導入したタンパク質をニッケル錯体と複合化することによる His-Tag 法や抗体をフラグメント化することによってむき出しになる SH 基を利用した金表面固定化法など様々な角度から提案されている。しかしながら His-Tag 法を利用した固定化法ではタンパク質の固定量や配向は確かに上がるものの、同時にバックグラウンドとしての非特異吸着が増加するため、必ずしも特異的な認識能を検出するには向いていない。ピオチン-アビジン系を利用した固定化法に関しても複数のタンパク質で固定するため、それらによる非特異吸着が増加することが避けられないのが現状である。

バックグラウンドを低下させるためには固定した抗体や DNA 等の生体分子の周りの表面を、通常ブロッキング剤と言われる物質で覆うことによって夾雑物の非特異吸着を抑えることが行われるが、このような動物由来物質を大量にブロッキング剤として利用する現状は、①非特異吸着抑制効果が十分でなく、かつ生体分子の特異的認識能も低下させ、期待する機能が十分に達成されないばかりでなく、②動物由来物質を材料にするため BSE などの供給源からの感染という危険性をはらみ、さらには③倫理的な問題も避けられないという点で大きな問題を含んでいる。また、ロット間による材料の性能のばらつきや保存安定性など、問題点をあげればきりが無いのが現状である。

このような中で人工物質を利用したバイオ表面設計が急務であり、さらには高感度化のためにタンパク質、DNA や細胞といった特異的認識物質を、その機能を損なうことなく人工材料と融合させる方法論を構築し、生体由来物質の高度集積化と効率的な分子増幅を通じて、「必要な時に、必要な場所で、必要な検出」を高感度かつ高特異的に行うことが重要である。我々はこのような観点で、表面に最適な高分子を設計し、生体分子との共固定法を開発してきた。以下に最近の知見をまとめる。

抗体を固定化したラテックス表面に PEG 化を行う際、6 個のアミノ基を有する N6-PEG と一つのもの(N1-PEG)を比較し、N6-PEG が極めて効率的に PEG 高密度化が可能であることを確認した。これは、一部のアミノ基がプロトン化状態にある N6-PEG では表面との静電引力が働くため、高効率的に反応するものと考察している。以上の結果は、静電相互作用と多点相互作用を巧みに利用することで、高性能な抗体/PEG 共固定化表面の構築が可能であることを示しており、これが本ラテックス粒子の高性能化につながったものと考察できる。

金表面に固定した抗体の反応性を検討した。Fab'を固定した表面を一時間放置すると 90%以上の活性が消失するのに対し、抗体の周りに高密度 PEG を作製すると反応性低下が 30%程度に押さえられる。RI による解析の結果、抗体が外れていることはなく、蛍光たんぱくおよび原子間力顕微鏡解析により、抗体固定化表面は次第にその抗体が次第に偏平化していくのに対し、PEG 密生層を周りに固定した場合には全く変化がないことが確認された。このように表面の抗体の直接観察はこれまで殆ど例がない。

謝辞

本研究は当研究室の吉本敬太郎講師(現東大准教授)、原 暁非博士(現英国グラスゴー大学)、Dolca Fabregat 研究員(Biokit)、西尾元彦君(現ヤクルト)らによって行われた。ここに深く感謝いたします。

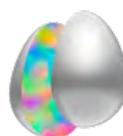
参考論文

1. Xiaofei Yuan, Dolca Fabregat, Keitaro Yoshimoto and Yukio Nagasaki: Development of a high-performance immunolatex based on "soft landing" antibody immobilization mechanism, Colloid and Surface B: Biointerface, in press(10.1016/j.colsurfb.2011.09.040)
2. Yoshimoto Keitaro, Nishio Motohiko, Sugasawa Hiroaki, Nagasaki Yukio: Direct Observation of Adsorption-Induced Inactivation of Antibody Fragments Surrounded by Mixed-PEG Layer on a Gold Surface, Journal of the American Chemical Society, 132(23).7982-7989.(2010)
3. Xiaofei Yuan, Dolca Fabregat, Keitaro Yoshimoto and Yukio Nagasaki, High PEGylation Efficiency of Pentaethylenehexamine-end Poly(ethyleneglycol) (mPEG-N6) for Active-ester Surface, Colloid and Surface B: Biointerface, 92, 25-29 (2012) DOI: 10.1016/j.colsurfb.2011.11.013
4. Yuan Xiaofei, Fabregat Dolca, Yoshimoto Keitaro, Nagasaki Yukio: Efficient Inhibition of Interfacial Nonspecific Interaction to Create Practically Utilizable High Ferritin-Response Immunolatex, Analytical Chemistry, 81 10097-10105 (2009).

## 融合マテリアル：分子制御による材料創成と機能開拓

領域代表：加藤 隆史（東京大学）

研究期間：平成22年度—26年度



**FUSION MATERIALS**  
Creative Development of Materials and  
Exploration of Their Function through  
Molecular Control

### 【本領域の目的】

人類の生活を豊かにしている様々な材料の合成には多大な資源とエネルギーが使われています。本領域は、新時代における省エネルギー・省資源・低環境負荷型の新しい材料構築のための学問の創成を目的としています。融合マテリアルの学問領域を開拓することによって、自然と調和して永続的に発展可能かつ人類のための「材料調和社会」の実現を目指しています。融合マテリアルでは、有機分子や無機物質を、巧みに組み合わせることにより新しい材料を創成するアプローチを行います。そのための手本とするのは、生物が自然界において行っているものづくりの姿です。生物が、歯・骨・真珠・甲殻などの硬い組織をつくるプロセスであるバイオミネラルゼーションでは、生体有機分子が無機結晶の生成を精密に制御する「分子制御」によって、温和な条件で人工材料をものご優れた精緻な構造の材料が作り上げられています。このようなプロセスや構造を深く理解し、生物がつくる材料に匹敵し、環境負荷が低い自然調和性に優れた材料の構築を目指します。さらに、我が国が世界をリードする最新の超分子化学・分子集合体化学・高分子化学により作られる最先端の素材を機能性無機物質と融合させることにより、生物が作り出すものを超える新材料の創成を進めます。

### 【本領域の内容】

本領域では、分子が材料合成プロセスを精密に制御する「分子制御」により、従来の有機・高分子やセラミックスなどを超える、有機と無機、ソフトとハード、動的と静的がそれぞれ融合したマテリアルを構築します。この目的のために3つの研究項目を設け、それらが共同して「融合マテリアル学」を創成する体制を取っています。「分子による材料の形成プロセスおよび組織化・構造制御」（分子制御）を各班の基盤となる技術として共有し、その制御技術の基礎を追究する分子制御班（研究項目 A01）、その発展技術としての構造構築班（研究項目 A02）および機能開拓班（研究項目 A03）を設けています。A01においては、光応答性基板を利用した結晶制御技術、多形と形状を制御した酸化チタン材料の合成法などが開発されています。A02においては、温度応答型人工骨のための基盤技術、液晶やDNAを利用した微粒子の配列制御方法などが、A03においては、融合構造および融合機能を持つ電池材料・発光材料・光エネルギー変換材料・ゲル材料などが得られています。また、研究項目内・間での連携を積極的に進め、バイオミネラルを触媒とした精密高分子合成、磁場応答オンデマンド放出機能を有するハイブリッドリポソームなど、多くの共同研究が進んでいます。これらの研究とともに、融合マテリアルのコンセプトを理解した人材の育成にも積極的に取り組み、若手スクールなどを通して若手研究者の異分野融合と人的交流を推進しています。

### 【期待される成果】

本領域では、有機化学、高分子化学、無機化学、物理学、生物学、工学の諸分野の学問的融合を進めます。それにより革新的な機能性材料を、地球上にありふれた素材を用いて温和な条件下で合成する分子制御プロセスを創成します。これらの成果は、材料科学の学問的な発展につながるだけでなく、環境調和性の高い新材料による環境・エネルギー・医療分野の基盤技術を与え、社会に大きく波及すると期待されます。

### 【ホームページ】

<http://www.fusion-materials.org/>

# 融合マテリアルの概念を用いるバイオマテリアルの創成

名古屋大学 大学院工学研究科  
大槻 主税

骨や歯といったバイオミネラルは、しなやかで高強度な構造を持ちながら、周囲の環境に  
 応答して、分解と再構築が繰り返される機能を持つ環境応答材料である。骨や歯が持つ巧み  
 な無機/有機融合構造を規範にして、バイオミメティックな融合マテリアルの構築 (図1)  
 が可能となれば、優れた機能性材料の設計指針となる。本研究では、骨類似構造のバイオミ  
 メティック構築を目指し、有機高分子のテンプレート上に無機結晶のリン酸カルシウムを階  
 層的に複合化するプロセスの開拓に取り組んでいる。このプロセスは、従来の  
 骨修復用バイオマテリアルでは達成できていない機械的特性や生体に対して  
 動的機能を持つバイオマテリアルの創成に繋がる。

まず、リン酸カルシウム生成のテンプレ  
 ートになる反応場として、リン酸イオン  
 を含有するポリアクリルアミドゲル  
 を用い、カルシウムイオンを含有する水  
 溶液と接触させるプロセスで、水和ゲル  
 中でのリン酸カルシウムの形態制御を  
 試みた。その結果、粒状のヒドロキシア

パタイト (HAp) 結晶が生成する条件とともに、球状や微  
 細な繊維状でリン酸八カルシウム (OCP) が得られる条件  
 を明らかにした。さらに、それらの知見に基づいて、反応  
 場となる水和ゲルの両端からカルシウムイオンとリン酸イ  
 オンをそれぞれ拡散させるプロセスを提案し、水和ゲルマ  
 トリックス中に配向した繊維状 HAp を形成することに成  
 功した (図2)。

これらの成果は、高分子の三次元テンプレートに、生体  
 活性セラミックスである HAp を、高温での熱処理なしに  
 特異な形状で複合化できることを示している。この技術を  
 発展させ、骨組織親和性の高い高分子をテンプレートに用  
 い、骨形成を促進する因子を導入することで、高機能な骨  
 修復用バイオマテリアルを開発できるといえる。

参考文献:T. Yokoi, M. Kawashita, K. Kikuta, C. Ohtsuki, *Mater. Sci. Eng., C*, **30**, 154-159 (2010).

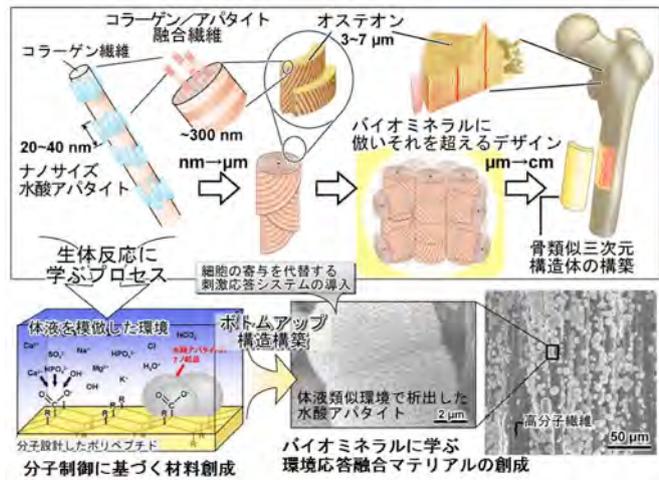


図1. 骨の構造を模倣する材料合成のモデル

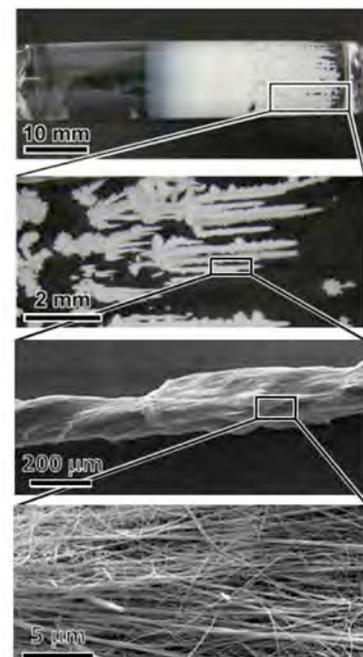


図2. ゲル中において生成した繊維状ヒドロキシアパタイト

# 超高速バイオアセンブラ

領域代表：新井 健生（大阪大学）  
研究期間：平成23年度—27年度



## 【本領域の目的】

マイクロ・ナノロボティクスを基盤として、in vitro 環境で機能する3次元細胞システムを構築する「バイオアセンブラ」の超高速計測操作手法と組織機能発現の原理を解明する。

生体から取り出した細胞の物理的特性を超高速で計測し、細胞システム構築に有用な活性細胞を分離する「細胞特性計測制御」、複雑な形状の3次元細胞システムを成型し組み立てる「3次元細胞システム構築」、作製された3次元細胞システムの増殖・分化誘導・形態形成制御と移植応答を解明し、in vitro での機能解明と比較検証を行い再生医療への応用を図る「3次元細胞システム機能解明」の3つの研究項目を有機的に連携させ、医工学的に有用な形態と働きを持つ人工的な3次元細胞システムを創生する。

## 【本領域の内容】

「in vitro 環境における3次元細胞システム」を構築し、「医療応用に適した3次元組織」を創生し、さらに、それらが組織として働く「機能を解明」することによって、「再生医療の基盤技術を大幅に底上げ」する。そのために、以下の開発と解明を行う。

生体から取り出した細胞を増殖させ、この中から組織構築に有用な活性細胞を超高速に分離する技術を確認する。細胞が持つ多面的な特性を理解し、この特性に着目してマイクロ・ナノロボティクスを適用した世界最速の計測分離手法を提案する。

組織として機能するための3次元細胞システム構造を解明し、複合組織系の構築から始め、最終的には酸素要求性の高い組織形成を視野に入れて、マイクロ・ナノロボティクスを適用した画期的な3次元細胞システム構築技術を提案する。

in vitro 環境場で3次元細胞システムを構築する過程で、多細胞系が増殖・分化・形態形成を始めるために必要な動的環境場の特徴を解明し、3次元細胞システムが組織として機能する仕組みを解明する。上記3つをサイクルさせて、再生医療に有用な人工3次元細胞システムの創生と、そのための画期的マイクロ・ナノロボティクス応用計測制御技術を確認する。

【ホームページ】 <http://bio-asm.jp/>



## 再生医療本格化のための医歯薬理工融合による次世代組織工学

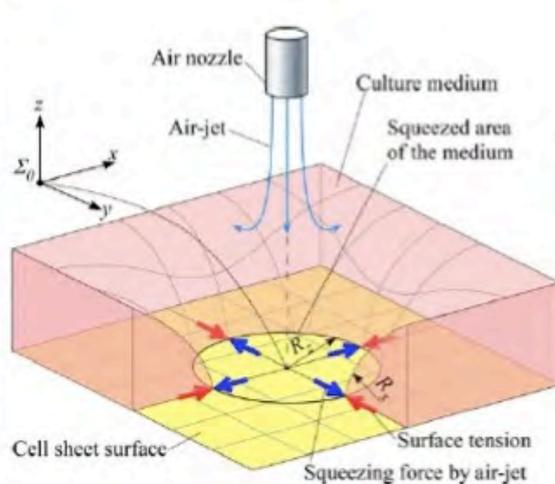
東京女子医科大学 先端生命医科学研究所  
大和 雅之

班長を拝命しているA03班では、A01班、A02班が開発した諸技術を活用して作製した再構成3次元組織の機能を、培養系および実験動物への移植により定量的な評価を行うとともに、増殖・分化誘導・形態形成制御と移植応答を解明し、in vitroでの機能解明と比較検証を行い再生医療への応用を図る。具体的には、肝臓などの軟組織と骨などの硬組織をターゲットとし、パターン化共細胞培養表面による共細胞培養シート作製とこれを積層化した3次元組織構造体の作製を行い、共焦点レーザー走査顕微鏡、ライブセルイメージング装置、免疫組織学的な検討により再構成3次元組織と生体組織の類似性や機能発現を定量的に評価し、免疫不全マウス等への移植による生体内での再構成成熟化過程、血管導入過程を明らかにする。

さらに、これまで困難であった肝臓・骨形成環境における物理化学的プロセスの計測、細胞が集団として協調することで初めて発現する複雑な生理機能の発現メカニズムについても解明する。これらの技術を開発し医療応用への促進を目指す。

また、本プロジェクトでは、我々の研究所で従来から培ってきた医歯薬理工融合をさらに積極的に発展させ、次世代組織工学技術の開発を強力に推進している。特に、精密機械、ロボティクス等のバックグラウンドを有する若手研究者に研究グループへの参加を積極的に促してきた。これらの新体制のもと、細胞シート積層デバイス、細胞シート移植デバイス（左図）、マイクロ共培養用マイクロパターン化温度応答性表面作製に用いるコンピュータ制御マイクロコンタクトプリンティングデバイス、細胞シート粘弾性非侵襲計測システム、細胞シート表面濡れ性非侵襲計測システム（右図）など様々な開発が進行中である。

講演では、これらの新規デバイスの開発の進捗状況と、細胞シート工学による再生医療の臨床応用の現状をあわせて報告する。



参考文献：

- 1) Haraguchi Y et al, *Nat Protoc*, 7, 850-8 (2012).
- 2) Obokata H et al, *Nat Protoc*, 6, 1053-9 (2011).
- 3) Uchida R et al, *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc 2010*, 827-30 (2010).

## ナノメディシン分子科学

領域代表：石原 一彦（東京大学）

研究期間：平成23年度—27年度



### 【本領域の目的】

ナノメディシン分子科学とは、生体を構成し生命活動を司る細胞環境における分子反応に関わるものです。細胞環境でタンパク質や核酸が関わる反応は、生命機能に極めて重要であることは周知の事実です。しかしながら、細胞環境は、通常の化学反応環境と比べて、全く異なることが知られています。ナノメディシン分子科学では、このように未開拓であった特殊な細胞環境における分子反応を定量的に理解・考察するために、分子反応パラメーターを導出します。すなわち、細胞にフォーカスし、細胞環境下での分子反応論の確立、細胞内、細胞膜近傍の特殊環境の理解、バイオ分子の特異的反応様式の理解を基本とする学術領域と定義します。これにより、分子反応場となる細胞系を通して、組織、生体全体へと高次元に連携する生体システムを、各次元で、異分野に属する研究者が共通する言葉で理解・考察できるようにします。これには大きく2つの目的があります。一つは、“ナノメディシン分子科学”の創成により、細胞環境での分子反応パラメーターを基盤として、生命反応の理解、病態理解の科学的根拠、医薬品や医療デバイス創製のための設計に結実し、超高齢社会に対応する、安全・安心、高効率医療の発展に大きな貢献をします。二つ目は、バイオ・医療産業の爆発的発展を誘引する工学的基礎情報提供と、将来的にこれを支え、より発展させることができる人材育成を行います。

### 【本領域の内容】

研究項目 A01「ナノメディシンの分子科学」では細胞内での分子反応環境、分子反応時間、化学反応に関するパラメーターの測定原理を考案し、その決定と検証をします。研究項目 A02「ナノメディシンのための分子科学」では、細胞内への物質輸送や探針による直接観察より、分子拡散係数や分子間親和性などのパラメーターの導出と考察をします。研究項目 A03「ナノメディシンを用いた分子科学」では、細胞環境での分子反応パラメーターに基づく病態の一義的な理解をすすめる、治療分子の構造や治療デバイスの設計法を考察します。また、対象を細胞レベルから組織レベル・生体レベルまで拡張し、疾病原因の特定と分子反応に基づく治療法、治療デバイスの考案を行います。これまで未遭遇の知識の思いがけない結合を誘起し、シームレスな融合によりナノメディシン分子科学を作り上げます。また、分子科学を基盤に工学センスを加味し、医療技術の向上と産業創成で新しい価値を作り出す研究戦略の実現を進めます。

### 【期待される成果】

新学術領域の創成により期待される研究成果と波及効果を示します。細胞内分子反応の理解と考察により、正確な分子反応パラメーターが得られます。また、難治疾患治療のための革新的化学療法の開拓やコンピューター創薬の効率化、医療デバイス創製の促進、iPS 細胞などの細胞ソースの製造の安定化が実現されます。その波及効果として、細胞環境での分子科学の飛躍的な発展、QOL の向上を目指す低侵襲治療・診断の実現、先端医療を創出する新しい工学の確立、医療・医薬品産業の成長促進と国際的競争力の回復、および新しい学術領域を担う研究者の育成などが挙げられます。

### 【ホームページ】

<http://www.tmd.ac.jp/nanomedicine>

# 細胞内輸送を実現するナノバイオマテリアル

東京大学 大学院工学系研究科  
石原 一彦

本研究では、細胞を対象とした細胞外からの物質輸送、細胞内での移動を、細胞内の特殊環境を考慮しながら追跡し、その速度定数を明確にする細胞内分子輸送プローブを創製する。さらに、このプローブを利用して未解明な点の多い、細胞膜からの分子の取り込み過程を、細胞膜への分配、細胞膜中での拡散、細胞膜から細胞質内への脱離に分けて定量的に考察する。これにより、細胞内の特異的な部位に、選択的にバイオ分子を輸送し、遺伝子発現や酵素反応に由来する細胞機能発現について分子科学的に理解をするとともに、疾病に対する有効なバイオ分子治療、細胞を基礎とする先進医療技術、さらには組織再生医療への高機能・高信頼細胞ソースの提供などの関連する基盤を開拓することを目指している。

まず、2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(MPC)を一成分として含むポリマーを利用することで、細胞反応や組織反応を完全に阻止し、ナノ粒子に結合したバイオ分子の機能を活かせる表面構造を創製する(図1)。MPC ユニット組成の増加により水溶性かつ両親媒性とすることができ、この水溶性 MPC ポリマーを利用することで、ポリマーナノ粒子を創製している。さらに、ナノ粒子表面にタンパク質を温和な条件で結合させるために、新たな反応性 MPC ポリマーを合成し、これにより酵素や抗体を固定化することに成功している。これらの MPC ポリマーナノ粒子についての基礎知見と、その細胞応答を解析することで、細胞機能評価、解明するデバイス構築する。

調製したナノ粒子を細胞に接触させたところ、表面に結合するバイオ分子の特性に依存して細胞内への取り込みを生じた。すなわち、細胞膜に影響しないオクタグリシン(G8)では全く細胞膜に取り込まれないが、細胞膜透過性ペプチドのオクタアルギニン(R8)では、速やかに細胞内に取り込まれる事が明らかとなった(図2)。オクタペプチドの細胞膜透過性を支配する因子として、アミノ酸の化学構造だけでなく、その配列も考慮しなければならないことを示している。これより、PMBN/PLA/QD は細胞による非特異的な取り込みを抑制でき表面バイオ分子の動態を追跡可能であるため、細胞内への物質輸送を考える際に有効な表面バイオ分子の情報を得ることが可能な物質移行評価デバイスであるといえる。

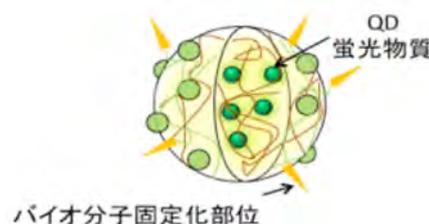


図1. ナノ粒子の構造

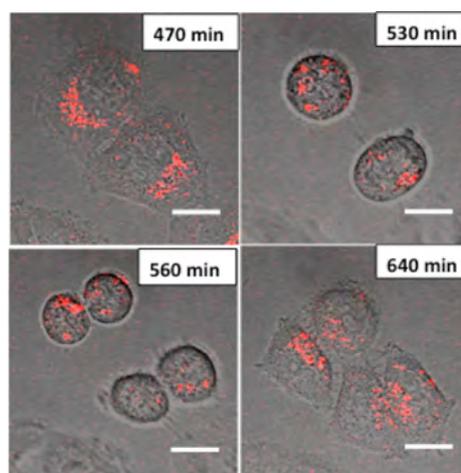
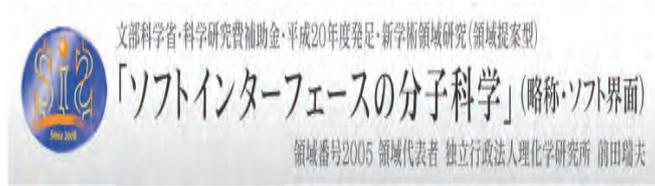


図2. HeLa 細胞内に取り込まれた R8/PMBN/PLA/QD の長時間観察結果

参考文献: K.Ishihara, Y.Goto, R.Matsuno, *MRS Proceedings*, 1357, mrss11-1357-II06-07 (2011)



## 文部科学省 科学研究費補助金 新学術領域研究