

課題番号	LR016
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成23年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	ペプチドアレイを用いたアレルギー疾患病態モニタリングシステムの開発
研究機関・ 部局・職名	名古屋大学・大学院工学研究科・准教授
氏名	大河内 美奈

1. 当該年度の研究目的

本研究では、ペプチドアレイの臨床分野への利用を目指し、近年、生活環境の変化などにより問題となっている食物アレルギーに着目し、アレルゲンエピトープ解析を行うアレルギー検査法の開発について進めている。抗原タンパク質のアミノ酸配列に基づいたペプチドの合成およびペプチドアレイの作製により、患者個々において詳細なエピトープ情報を解析することが可能である。前年度までに、患者血清 10 μlを用いたペプチドアレイの短時間解析プロトコルの標準化を行った。本年度は、ペプチドアレイを用いたアレルギー病態および治療経過の把握を目的とし、実際にミルクアレルギー患者の治療に伴う症状変化により患者を層別化し、ペプチドアレイを用いた IgE 抗体および IgG4 抗体エピトープの同時検出を行った。

2. 研究の実施状況

ミルクアレルギーの主要抗原 6 種類のタンパク質のアミノ酸配列に基づいたペプチドアレイを作製した。医療機関と連携を進め、ミルクアレルギー患者血清をご提供いただき、ペプチドアレイを用いた IgE 抗体およびアレルギー陰性化に関与することが示唆される IgG4 抗体エピトープの解析を行った。個々の患者においてアレルギー反応を惹起する上で重要となる配列を明らかにすることができた(図 1)。また、取得した抗体認識エピトープ情報を詳細に解析することで、患者群に特徴的な認識配列および抗体結合パターンの変化が明らかとなった。これより、ペプチドアレイを用いた臨床サンプルの解析の有用性が示唆された。

次に、ペプチドアレイを用いた解析により得られるエピトープ情報を細胞レベルで検証するため、2つのエピトープペプチドを1スポット上に合成するスキームを構築した。ペプチドアレイ上でのアレルギー反応に伴う脱顆粒応答を検出することが可能となった。

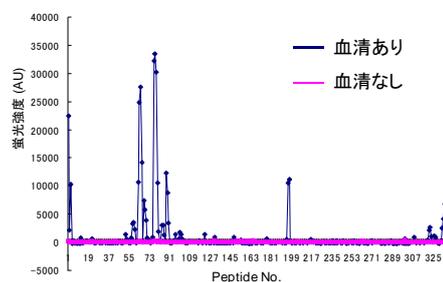


図 1 ペプチドアレイを用いた解析例

様式19 別紙1
3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 8 件</p>	<p>(掲載済みー査読有り) 計 7 件</p> <ol style="list-style-type: none"> (1) K. Kanie, R. Kato, Y. Zhao, Y. Narita, M. Okochi, H. Honda: Amino acid sequence preferences to control cell-specific organization of endothelial cells, smooth muscle cells, and fibroblasts, <i>Journal of Peptide Science</i>, 2011,17(6), 479-486 (2) T. Takeshita, M. Okochi, R. Kato, C. Kaga, Y. Tomita, S. Nagaoka, H. Honda : Screening of peptides with a high affinity to bile acids using peptide arrays and a computational analysis., <i>Journal of Bioscience and Bioengineering</i>. 2011,112(1), 92-97, doi:10.1016/j.jbiosc.2011.03.002 (3) M. Shikita, N. Inagaki, M. Okochi, H. Honda, K. Sato : Droplet introduction into a pen-shaped portable reaction system by gravity and interfacial forces, <i>Micro & Nano Letters</i>, 2011,6(4), 253-256, doi: 10.1049/mnl.2011.0051 (4) M. Shikita, N. Inagaku, M. Okochi, H. Honda, K. Sato: Fabrication of a pen-shaped portable biochemical reaction system based on magnetic bead manipulation, <i>Journal of Micromechanics and Microengineering</i>, 2011,21, 067006(7pp), doi:10.1088/0960-1317/21/6/067006 (5) M. Okochi, Y. Sakai, Y. Isaji, H. Nagasaki, Y. Hamada, H. Honda: Personalized assessment of oxidative cellular damages associated with diabetes using the erythrocytes adhesion assay, <i>Journal of Bioscience and Bioengineering</i>,2011, 112(6), 635-637, doi:10.1016/j.jbiosc.2011.08.003 (6) T. Ochiai, T. Sugita, R. Kato, M. Okochi, H. Honda : Screening of an α-Amylase inhibitor peptide by photolinker-peptide array, <i>Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry</i>, 2012,76(4), 819-824, doi: 10.1271/bbb.110963 (7) 片山真、杉田智哉、加藤竜司、大河内美奈、松島充代子、川部勤、高瀬智和、吉田安子、川瀬三雄、本多裕之：ミルクタンパク質全網羅ペプチドアレイを用いた IgG 結合ペプチドの探索, <i>化学工学論文集</i>, 2011, 37(6), 546-550, doi: 10.1252/kakoronbunshu.37.546 <p>(掲載済みー査読無し) 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> (1) 大河内美奈：ペプチドアレイを用いたアレルギー疾患モニタリングシステムの開発、<i>化学工学</i>、2012、76 (4)、219-221, ISSN : 0375-9253 CODEN : KKGKA4 <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 9 件</p>	<p>専門家向け 計 7 件</p> <ol style="list-style-type: none"> (1) 大河内美奈、手島 翠、古池真司、本多裕之：磁性液滴搬送システムによる一細胞遺伝子発現解析、新潟、2011.9.9-11、電気化学会 (2) 大河内美奈、本多裕之：磁性液滴搬送システムを用いた細胞機能解析、新潟、2011.9.9-11、電気化学会 (3) 大河内美奈、浅井裕司、杉田智哉、本多裕之:乳酸菌 <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG の付着・菌叢化に関与するペプチドの探索、つくば、2011.9.12-14、日本化学会バイオ関連部会 (4) 大河内美奈、本多裕之：ペプチドアレイを用いた昨日分子の探索と食物アレルギー解析への展開、東京、2011.9.26、日本生物工学会シンポジウム (5) 大河内美奈、片山 真、岡崎宜恭、浅井裕司、本多裕之：ミルクペプチドによる食物アレルギーの臨床解析と機能性ペプチドの探索、東京、2012-3.15-17、化学工学会 (6) 大河内美奈、松村 拓、本多裕之：磁気細胞アレイによる間質細胞共存下でのがん細胞挙動および遺伝子発現解析、浜松、2012.3.29-31、電気化学会 (7) 大河内美奈、久保山正志、本多裕之：金属コロイド凝集反応を用いたバイオマーカー特異的ペプチドプローブの設計、浜松、2012.3.29-31、電気化学会 <p>一般向け 計 2 件</p> <ol style="list-style-type: none"> (1) 大河内美奈：3次元細胞挙動評価モデルを用いた抗がん剤効果予測システムの開発、横浜 2011.10.6、BioJapan2011 ビジネスパートナリングプレゼンテーション (2) 大河内美奈、本多裕之、アレルギーペプチド探索用ペプチドアレイの作成と実用化、名古屋、2012.1.31、名古屋大学予防早期医療創成ワークショップ
<p>図書 計1件</p>	<p>大河内美奈 第18章4節7項「微生物を利用したバイオセンサ」を分担執筆 <i>電気化学便覧</i>第6版 丸善株式会社、2011年</p>

様式19 別紙1

産業財産権 出願・取得状 況 計0件	(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件
Webページ (URL)	http://www.nubio.nagoya-u.ac.jp/proc/index.htm
国民との科 学・技術対話 の実施状況	<p>(1) テクノ・フェア名大2011 ミニシンポジウム、2011年9月2日、名古屋大学(豊田講堂)、政府・自治体関係者、中部地区の経済界及び企業の研究開発担当者等、約1,100名、工学研究科内で本プログラムに採択された先生方5名とミニ講演会を開催した。</p> <p>(2) 名大若手女性研究者サイエンスフォーラム2011・女子中高生理系進学推進セミナー2011、2011年11月26日、名古屋大学(ES会議室)、中部地区の女子中高生・保護者、学内女性研究者、約110名、特別講演およびポスターセッションによる若手女性研究者の支援・交流および女子中高生への理系進学への推進。</p> <p>(3) 実験講習会、2011年8月10日、名古屋大学(工学部1号館)、津高校希望者、10名、酵素インベクターゼによるショ糖の加水分解と分離に関する実験を行った。</p>
新聞・一般雑 誌等掲載 計1件	中部経済新聞、2012年1月10日、研究現場発「ペプチドアレイを利用した解析～機能性分子探索やアレルギー検査法構築」
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	113,000,000	70,974,000	0	42,026,000	0
間接経費	33,900,000	21,292,200	0	12,607,800	0
合計	146,900,000	92,266,200	0	54,633,800	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	69,380,482	0	59,349	69,439,831	54,803,055	14,636,776	0
間接経費	21,292,200	0	0	21,292,200	17,075,245	4,216,955	0
合計	90,672,682	0	59,349	90,732,031	71,878,300	18,853,731	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	53,209,861	スキャナータイプ画像解析装置等の装置と消耗品等
旅費	543,200	研究発表、情報収集旅費等
謝金・人件費等	662,862	研究支援者給与
その他	387,132	英文校正料、学会参加・論文掲載料等
直接経費計	54,803,055	
間接経費計	17,075,245	
合計	71,878,300	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
スキャナータイプ画 像解析装置	GEヘルスケア製 TyphoonFLA9500BGR	1	13,235,250	13,235,250	2012/3/7	名古屋大学
マルチモードマイク ロプレートリーダー	DSファーマ製 POWERSCAN4BT- H41EPT	1	8,457,750	8,457,750	2012/1/23	名古屋大学
PC制御画像認識 付桌上型ロボット	武蔵エンジニアリ ング(株)製	1	6,279,000	6,279,000	2012/2/7	名古屋大学
リアルタイムPCRシ ステムアップグレー 紫外可視分光光度 計	ライフテクノロ ジージャパン 島津製作所製 UV-2600	1	2,457,000	2,457,000	2011/9/6	名古屋大学
液滴作成用カスタム メイドマイクロ化学テッ	Fluigent MFCS4C-1000	1	2,173,500	2,173,500	2012/3/26	名古屋大学
超低温フリーザ	三洋電機(株)製 MDF-U500VX	1	2,090,760	2,090,760	2012/3/7	名古屋大学
分光蛍光光度計	島津製作所製 RF-5300PC	1	1,776,600	1,776,600	2011/11/8	名古屋大学
		1	1,481,550	1,481,550	2012/2/21	名古屋大学