

**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 24 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	スーパー分子プローブを用いた次世代生体分子イメージング
研究機関・ 部局・職名	九州大学・稲盛フロンティア研究センター・教授
氏名	山東 信介

1. 当該年度の研究目的

本研究では、生命現象の理解と疾病の早期診断の実現に向け、分子レベルで生体を解析する次世代生体分子イメージング技術(超高精度/高感度 MRI)の確立を目指している。特に、MRI 技術(正確にはそれぞれの試薬で NMR と MRI/MRS を区別すべきであるが、混乱を避けるため MRI に統一して記載)の重要な克服課題である高精度・高感度解析を実現する画期的分子試薬開発を進める。

本年度は、昨年度までに設計・合成・精製の完了した生体分子を対象とする[課題 I]高精度解析のための多重共鳴分子造影剤、及び、[課題 II]高感度解析のための核偏極分子造影剤の物性解析を進め、得られた情報を元に分子試薬の最適化を行う。特に、細胞破碎液中や血液中など疑似生体条件下における機能解析を順次実施し、生体応用に向けた評価と改善点の確認・改良を進める。また、実際の生体応用に向けては、分子試薬の体内動態、局在制御も大きなポイントの1つである。[追加課題 III]そこで機能性材料を利用した分子試薬動態制御系の構築も平行して実施する。

2. 研究の実施状況

本年度計画した研究を順調に実施し、各テーマに関して下記に例する良い成果を得ている。

課題 1. 高精度な生体分子解析を実現する多重共鳴分子造影剤

- 精神疾患に関連する代謝活性を解析する分子試薬の開発に成功し、組織破碎液中での薬剤スクリーニングが可能であることを示した(*J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 12398-12401)。

課題 2. 高感度な生体分子解析を実現する核偏極分子造影剤

- 世界最長の高感度化寿命を持つ ^{15}N -分子試薬プラットフォームを開発した。この分子試薬骨格は、偏極によって数千倍の感度向上を実現し、高感度を数十分維持できることを実証した。
- 上記により見出した分子試薬プラットフォームを用い、活性酸素種、金属イオン、また、疾患関連酵素など、生理活性、疾患関連生体分子に応答する分子試薬を開発した(論文投稿中)。
- 様々な分子試薬に応用可能な超高感度化 ^{13}C ユニットの探索した。次亜塩素酸(HOCl)は炎症などの病態に関与する活性化学種であるが、この次亜塩素酸に応答する高感度分子試薬の開発に成功した(*Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 10114-10117.)。
- 疾患(癌、肝硬変)に関連する代謝反応解析に向けた超高感度分子試薬の開発を実施し、精製酵素レベルでの実証に成功した。

課題 3. 分子試薬体内動態を実現する機能性材料

- 分子試薬の体内動態制御に向け、細胞を認識する「核酸アプタマー」を取得する系の構築を完了した。また、核酸アプタマーの生体材料への固定化法を確立した。(本手法を用いて実現した生体分子細胞表層イメージング:*J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 9561-9564.)。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

<p>雑誌論文</p> <p>計 4 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 4 件</p> <p>Takeshi Tokunaga, Kohei Kuwahata, Shinsuke Sando "Systematic Exploration of Lipophilic Tags That Allow Efficient Anchoring of Aptamers to Live Cell Surfaces" <i>Chemistry Letters</i> 2013, 42, 127-129.</p> <p>Tomohiro Doura, Ryunosuke Hata, Hiroshi Nonaka, Kazuhiro Ichikawa, and Shinsuke Sando "Design of a ¹³C Magnetic Resonance Probe Using a Deuterated Methoxy Group as a Long-Lived Hyperpolarization Unit" <i>Angewandte Chemie International Edition</i> 2012, 51, 10114-10117.</p> <p>Ryosuke Ueki, Koya Yamaguchi, Hiroshi Nonaka, and Shinsuke Sando "¹H-NMR Probe for In Situ Monitoring of Dopamine Metabolism and Its Application to Inhibitor Screening" <i>Journal of the American Chemical Society</i> 2012, 134, 12398-12401.</p> <p>Takeshi Tokunaga, Shigeyuki Namiki, Katsuhiro Yamada, Takahiro Imaishi, Hiroshi Nonaka, Kenzo Hirose, and Shinsuke Sando "Cell Surface-Anchored Fluorescent Aptamer Sensor Enables Imaging of Chemical Transmitter Dynamics" <i>Journal of the American Chemical Society</i> 2012, 134, 9561-9564.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表</p> <p>計 35 件</p>	<p>専門家向け 計 35 件</p> <p><u>招待講演・依頼講演(山東信介)</u></p> <p>山東信介、"細胞表層核酸アプタマーによる細胞機能の拡張"、 (2013.3.22-3.25, 滋賀)、日本化学会第93春期年会 特別企画「細胞機能を機動させる分子「核酸」の分野横断的最先端研究」</p> <p>山東信介、"超高感度生体分子センサー"、(2013.3.2, 京都)、第1回ナノ・バイオシンポジウム、(同志社大学)</p> <p>山東信介、"Cell Function Analysis and Control by Cell Surface-Anchored Aptamers"、 (2012.10.26, Fukuoka Japan)、5th Japan-Korea Joint Symposium on Biomicrosensing Technology、(九州工業大学)</p> <p>山東信介、"機能性核酸アプタマーを利用した生体バイオセンサーの開発"、 (2012.10.15, 東京)、第2回 CSJフェスタ 新化学技術推進協会奨励研究講演会 ～将来の化学産業を切り拓く先進技術～</p> <p>山東信介、"長寿命DNP-NMR分子プローブの設計"、 (2012.7.31-8.1, 大阪)、大阪大学蛋白研セミナー「磁気共鳴の先端計測技術と生体系への展開」</p> <p>山東信介、"機能性核酸アプタマーを利用した情報シグナル分子の蛍光イメージング"、 (2012.7.3-7.5, 札幌)、第28回 日本DDS学会</p> <p>山東信介、"In Situ Biomolecular Analysis"、 (2012.5.18-5.20, Pohang, Korea)、Asian 3 Roundtable on Nucleic Acids</p>

一般学会発表

徳永 武士、桑畑耕平、山東信介、"アプタマーによる細胞機能解析と制御(1) 細胞間接着制御とその応用"、(2013.3.22-3.25, 滋賀)、日本化学会第 93 春期年会

星加里奈、土谷享、山東信介、"アプタマーによる細胞機能解析と制御(3)細胞認識モチーフの設計"、(2013.3.22-3.25, 滋賀)、日本化学会第 93 春期年会

植木亮介、野中洋、山東信介、"多重共鳴核磁気共鳴プローブ分子による酵素阻害剤スクリーニング"、(2013.3.22-3.25, 滋賀)、日本化学会第 93 春期年会

西原達哉、野中洋、浦野泰照、山東 信介、"高感度生体分子センシングを可能にする超偏極核磁気共鳴分子プローブ (1): 疾病関連酵素の解析を指向した超偏極基質の開発"、(2013.3.22-3.25, 滋賀)、日本化学会第 93 春期年会

野中洋、秦龍之介、亀山裕、山東信介、"高感度生体分子センシングを可能にする超偏極核磁気共鳴分子プローブ (2): 超偏極状態の分子特性の解析と長寿命化への挑戦"、(2013.3.22-3.25, 滋賀)、日本化学会第 93 春期年会

野中 洋、徳永 武士、並木 繁行、山田 雄大、今石 高寛、 廣瀬 謙造、山東 信介、"核酸アプタマーセンサーによる細胞間情報伝達物質のリアルタイム蛍光イメージング"、(2012.12.14-12.16, 福岡)、第 85 回日本生化学会

Takeshi Tokunaga, Shigeyuki Namiki, Katsuhiro Yamada, Takahiro Imaishi, Hiroshi Nonaka, Kenzo Hirose, Shinsuke Sando, "Cell Surface-Anchored Functional Nucleic Acids toward Cell Function Analysis and Control"、(2012.11.15-11.17, Aichi Japan)、第39回 国際核酸化学シンポジウム

Ryunosuke Hata, Hiroshi Nonaka, Shinsuke Sando, "Design of hyperpolarized magnetic resonance agent using a long-lived hyperpolarization unit"、(2012.10.26, Fukuoka Japan)、The Fifth Japan-Korea Joint Symposium on Bio-microsensing Technology、(九州工業大学)

Yutaka Kameyama, Hiroshi Nonaka, Shinsuke Sando, "Development of Ca²⁺ indicator for in vivo imaging"、(2012.10.26, Fukuoka Japan)、The Fifth Japan-Korea Joint Symposium on Bio-microsensing Technology、(九州工業大学)

秦龍ノ介、野中洋、山東信介、"個体応用を指向した超高感度核磁気共鳴分子プローブ:プラットフォーム構造の提案"、(2012.9.14, 福岡)、日本バイオマテリアル学会 第 2 回九州地区講演会

徳永武士、並木繁行、山田雄大、今石高寛、野中洋、廣瀬謙造、山東信介、"細胞表層固定化核酸アプタマーを用いた細胞機能解析"、(2012.9.14, 福岡)、日本バイオマテリアル学会 第 2 回九州地区講演会

安 琪、土谷 享、杉原 文徳、山東 信介、"活性酸素種の生体イメージングを目指した¹⁹F NMR分子プローブ"、(2012.9.6-9.8, 北海道)、第6回 バイオ関連化学シンポジウム、(日本化学会)

徳永武士、並木繁行、山田雄大、今石高寛、野中洋、廣瀬謙造、山東信介、"細胞表層固定化核酸アプタマーを用いた細胞機能解析"、(2012.9.6-9.8, 北海道)、第6回 バイオ関連化学シンポジウム、(日本化学会)

秦龍ノ介、野中洋、山東信介、"個体応用を指向した超高感度核磁気共鳴分子プローブ:プラットフォーム構造の提案"、(2012.9.6-9.8, 北海道)、第6回 バイオ関連化学シンポジウム、(日本化学会)

西原達哉、野中洋、山東信介、"マウス乳酸脱水素酵素を利用した核磁気共鳴レポータータンパク質"、(2012.9.6-9.8, 北海道)、第6回 バイオ関連化学シンポジウム、(日本化学会)

	<p>安 琪、土谷 享、杉原 文徳、山東 信介、"活性酸素種の生体イメージングを目指した¹⁹F NMR分子プローブ"、(2012.9.5, 北海道)、生体機能関連化学部会 第27回 若手フォーラム</p> <p>徳永武士、並木繁行、山田雄大、今石高寛、野中洋、廣瀬謙造、山東信介、"細胞表層固定化核酸アプタマーを用いた細胞機能解析"、(2012. 9.5, 北海道)、生体機能関連化学部会 第27回 若手フォーラム</p> <p>秦龍ノ介、野中洋、山東信介、"個体応用を指向した超高感度核磁気共鳴分子プローブ:プラットフォーム構造の提案"、(2012. 9.5, 北海道)、生体機能関連化学部会 第27回 若手フォーラム</p> <p>西原達哉、野中洋、山東信介、"マウス乳酸脱水素酵素を利用した核磁気共鳴レポータータンパク質"、(2012. 9.5, 北海道)、生体機能関連化学部会 第27回 若手フォーラム</p> <p>Yutaka Kameyama, Hiroshi Nonaka, Tatsuya Naganuma, Kazuhiro Ichikawa, Shinsuke Sando, "Development of Ca²⁺ indicator for hyperpolarized ¹³C MRI", (2012.8.19-8.24, Philadelphia, USA), 244th American Chemical Society National Meeting</p> <p>Tatsuya Nishihara, Hiroshi Nonaka, Tatsuya Naganuma, Kazuhiro Ichikawa, Shinsuke Sando, "Mouse lactate dehydrogenase X: A new magnetic resonance reporter protein using hyperpolarized pyruvic acid derivative. ", (2012.8.19-8.24, Philadelphia, USA), 244th American Chemical Society National Meeting</p> <p>Hiroshi Nonaka, Ryunosuke Hata, Tatsuya Naganuma, Kazuhiro Ichikawa, Shinsuke Sando, "Exploration of molecular structures having a long hyperpolarization lifetime and its application for highly sensitive magnetic resonance probe", (2012. 8.19-8.24, Philadelphia, USA), 244th American Chemical Society National Meeting</p> <p>Qi An, Tomohiro Doura, Fuminori Sugihara, Shinsuke Sando, "Design of Chemical Shift Switching 19F MRI probe for Imaging of Reactive Oxygen Species", (2012. 8.19-8.24, Philadelphia, USA), 244th American Chemical Society National Meeting</p> <p>Shinsuke Sando, "Fluorescence Imaging of Extracellular Chemical Transmitter Dynamics Using Synthetic Aptamer Sensor", □(2012. 8.5-8.9, Canada, Montreal), 20th International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids</p> <p>秦龍ノ介、堂浦智裕、野中洋、山東信介、"個体応用を指向した超偏極 NMR プローブの分子設計"、(2012.7.27-7.28, 福岡)、日本化学会生体機能関連化学部会若手の会 第24回サマースクール</p> <p>亀山裕、野中洋、市川和洋、山東信介、"個体でのカルシウムイオン解析を目指した超偏極プローブ分子の開発"、(2012. .7.27-7.28, 福岡)、日本化学会生体機能関連化学部会若手の会 第24回サマースクール</p> <p>西原達哉、野中洋、山東信介、"マウス乳酸脱水素酵素を利用した新規核磁気共鳴レポーターアッセイ"、(2012. .7.27-7.28, 福岡)、日本化学会生体機能関連化学部会若手の会 第24回サマースクール</p> <p>Hiroshi Nonaka, Takeshi Tokunaga, Shigeyuki Namiki, Katsuhiko Yamada, Takahiro Imaishi, Kenzo Hirose, Shinsuke Sando, "Realtime imaging of chemical transmitter dynamics on cell surface using fluorescent aptamer sensor", (2012.6.4-6.6, Okinawa, Japan), The Second Asian Chemical Biology Conference、(生命化学研究会)</p> <p>一般向け 計0件</p>
--	--

様式19 別紙1

図書 計1件	山東信介・秦龍之介、「実験医学増刊:疾患克服をめざしたケミカルバイオロジー」、2012年、第4-4章 p. 187-192 (6ページ)
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.inamori-frontier.kyushu-u.ac.jp/soft_material/
国民との科学・技術対話の実施状況	九州大学百周年記念事業「九大百年祭り」研究公開「君も『みらい博士』になろう、小・中・高校生・一般、約200名、2012.5.13、九州大学 稲盛財団記念館 金光学園中学高等学校(岡山県)見学会、中学・高校生、約40名、2012.8.3、九州大学 稲盛財団記念館 可也幼稚園(福岡県)見学会・実験、幼稚園生、約85名、2012.11.14、九州大学 稲盛財団記念館
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	
その他	<u>シンポジウム・講演会企画</u> 第85回日本生化学会大会 シンポジウム企画「疾患克服を目指したケミカルバイオロジー」、(2012.12.14, 福岡)、研究代表者がオーガナイザー

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されません

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	119,000,000	50,000,000	49,000,000	20,000,000	0
間接経費	35,700,000	15,000,000	14,700,000	6,000,000	0
合計	154,700,000	65,000,000	63,700,000	26,000,000	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	32,303,309	49,000,000	0	81,303,309	54,110,579	27,192,730	0
間接経費	84,117	14,700,000	0	14,784,117	11,831,515	2,952,602	0
合計	32,387,426	63,700,000	0	96,087,426	65,942,094	30,145,332	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	45,604,674	実験試薬や液体ヘリウム等の消耗品、実験装置
旅費	2,271,585	情報収集、研究成果発表等
謝金・人件費等	5,491,347	学術研究員・テクニカルスタッフ人件費
その他	742,973	英文校正、学会等参加費、学内分析設備利用料等
直接経費計	54,110,579	
間接経費計	11,831,515	
合計	65,942,094	

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
分子フロー評価装置	日本レドックス(株)製 JXI-400Z型	1	29,988,000	29,988,000	平成24年5月31日	九州大学 稲盛フロンティア研究センター
微量高速遠心機	(株)トミー精工製 MX307	1	1,024,590	1,024,590	平成24年6月29日	九州大学 稲盛フロンティア研究センター
安全キャビネットBSC	サーモフィッシャーサイエンス社製	1	735,000	735,000	平成24年7月30日	九州大学 稲盛フロンティア研究センター
フローサイトメーター	独国メルク社製 guava easyCyte8	1	4,990,000	4,990,000	平成25年2月22日	九州大学 稲盛フロンティア研究センター