

課題番号	LR019
------	-------

**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 25 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	バイオ固体材料の生体ガス分子応答による細胞機能制御
研究機関・ 部局・職名	東京工業大学・大学院生命理工学研究科・教授
氏名	上野 隆史

1. 当該年度の研究目的

昨年度までに作成した機能化多角体結晶を細胞外マトリックスとして利用し、一酸化炭素 (CO) の癌化シグナル分子としての作用機構の解明により、新たな制御法を達成する。
具体的には、前年度までに確立した針状蛋白質集合体からの CO の放出制御により、細胞への CO によるシグナル制御機構の詳細な解明を達成する。

2. 研究の実施状況

一酸化炭素 (CO) は低濃度で細胞の機能制御分子として働くことが近年明らかとなっており、細胞内へ CO を輸送するための分子 (Carbon Monoxide Releasing Molecule: CORM) の開発が急速に展開されている。しかしながら、未だに、低い細胞透過性や高い細胞毒性に加え、CO 放出量、速度の制御を達成する化合物は報告されていない。さらに、CO の細胞制御メカニズムに不明な点が多いことから、効果的な CORM の分子設計は困難である。そこで、我々が独自に開発した細胞膜貫通性の針状蛋白質を CORM として用い、分子機構の解明を行った。蛋白質に CO 放出性錯体を結合した複合体を作成し、その CO 放出能、細胞内への取り込み能を評価したところ、従来の CORM に比べ CO 放出の半減期が 9 倍増加し、HEK293 細胞への取り込み量は 60 倍もの増加を示した。この化合物を用いて CO 放出による転写因子 NF-κB の活性変化を評価したところ、CO は NF-κB の活性化の後期で、その効果が劇的に増加することがわかった。この結果は、NF-κB を短時間で活性化する一酸化窒素 (NO) と CO 分子が相補的に機能することを示唆しており、従来の CORM では不可能であった新たな知見を見出した。さらに、CORM 含有多角体結晶の開発から、かご型蛋白質と CORM の複合体作成にも成功し (図 1)、より詳細なメカニズム解明を実現した。蛋白質により、生体に近い状態で CO を細胞内へ放出することは、ガン等を CO ガスで制御す

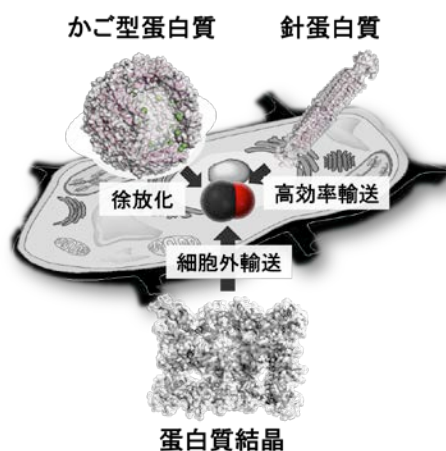


図 1. 蛋白質を用いた細胞への CO ガス輸送方法

様式19 別紙1

る医療材料作成につながる成果であり、複雑な構造をもつ薬の合成に比べ、安価に入手可能なガス利用は医薬合成コストの低減に威力を発揮すると考えられる。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文</p> <p>計 5 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 5 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. H. Tabe, S. Abe, T. Hikage, S. Kitagawa and T. Ueno Porous Protein Crystals as Catalytic Vessels for Organometallic Complexes <i>Chem. Asian J.</i>, 9, 1373-1378 (2014). (Selected as a Cover Picture) 2. T. Ueno Porous Protein Crystals as Reaction Vessels <i>Chem. Euro. J.</i>, 19, 9096-9102 (2013). □□ (Selected as a Concept article) 3. T. Ueno, H. Tabe, and Y. Tanaka Artificial Metalloenzymes Constructed From Hierarchically-Assembled Proteins <i>Chem. Asian J.</i>, 8, 1646-1660 (2013). □□ 4. 上野隆史 「人工金属酵素」 <i>Bull. Jpn. Soc. Coord. Chem.</i>, 62, 44-47 (2013). 5. 上野隆史 「人工金属酵素」 高分子, 63, 172-173 (2013). <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 14 件</p>	<p>専門家向け 計 13 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 上野隆史 「細胞化学を指向した生体配位材料」 新学術領域研究会「メゾスコピックアーキテクチャーの化学」 2013年5月1日(東京大学) 2. 上野隆史 「ナノ材料としてのタンパク質集合体」 ナノ学会 11 回大会 特別企画講演「金属と分子集合体から創出されるナノ物質と機能」 2013年6月8日(東工大) 3. 上野隆史 「メゾスケール分子機械の組み立て法-細胞制御を目指した配位シナジー-」 新学術領域研究会「配位シナジー:柔軟な構造・電子状態による高次機能創発」2013年8月1日(つくば) 4. 上野隆史 「分子機械-生命の構造制御と機能-」 さががけ「構造制御と機能」第一回懇話会 2013年9月25日(市ヶ谷) 5. 上野隆史 「細胞を化学する蛋白質材料」 BioJapan2013 2013年10月9日(横浜) 6. 上野隆史 「蛋白質集合体の分子操作」 東京工業大学生命理工学研究科 生体分子ワークショップ 2013年11月12日(東工大) 7. 上野隆史 「細胞反応を目指した超分子蛋白質の配位設計」 配位プログラミング合同会議(滋賀) 2013年12月20日 8. 上野隆史 「人工金属酵素の超分子的機能化」 超分子研究会_バイオ超分子マテリアルの新展開 2014年1月16日(東工大)

様式19 別紙1

	<p>9. 上野隆史 「生体機能による協同的配位設計」 配位シナジー：柔軟な構造・電子状態による高次機能創発 2014年3月27日（名古屋大）</p> <p>10. Takafumi Ueno Expanding Coordination Chemistry from Protein to Protein Assembly Japan-China Joint Coordination Chemistry Symposium for Young Scientists on Advanced Coordination Materials, Okazaki June, 13-15, 2013 (General Secretary)</p> <p>11. Takafumi Ueno Solid Artificial Metalloenzymes by Post-Engineering of Porous Protein Crystals International Conference of Bioinorganic Chemistry, Grenoble July, 26, 2013</p> <p>12. Takafumi Ueno DESIGN OF ARTIFICIAL METALLOENZYMES FROM PROTEIN TO PROTEIN ASSEMBLY ACC15, Singapore, August, 20, 2013</p> <p>13. Takafumi Ueno Coordination Chemistry in Protein Assemblies NZ-Japan Symposium on Supramolecular Nanomaterials, Queenstown, New Zealand, December, 16, 2013</p> <p>一般向け 計1件</p> <p>1. 「たんぱく質が教えてくれるものづくり」 2013年8月30日 東京工業大学 田町キャンパスイノベーションセンター(4階 410号室)一般向け公開講演会 参加者 64名</p>
<p>図書 計5件</p>	<p>1. T. Ueno Chapter 7. Coordination Chemistry in Self-assembly Proteins <i>Metal-Molecular Assembly for Functional Materials (SpringerBriefs in Molecular Science)</i>, Yutaka Matsuo, et al Eds, 70p, Springer, 2013. ISBN: 978-4431543695</p> <p>2. Y. Matsuo, and T. Ueno, et al. Eds, <i>Metal-Molecular Assembly for Functional Materials (SpringerBriefs in Molecular Science)</i>, 70p, Springer, 2013. ISBN: 978-4431543695</p> <p>3. S. Abe, and T. Ueno Chapter 7. Catalytic Reactions Promoted in Protein Assembly Cages <i>Coordination Chemistry in Protein Cages-Principles, Design and Applications</i>, T. Ueno, and Y.Watanabe Eds, 387 p, Wiley, 2013. ISBN: 978-1-118-07857-0</p> <p>4. T. Ueno, and Y. Watanabe, Eds. <i>Coordination Chemistry in Protein Cages-Principles, Design and Applications</i>, 387 p, Wiley. 2013. ISBN: 978-1-118-07857-0</p> <p>5. S Abe, and T. Ueno Coordination of Organometallic Palladium Complexes in Apoferritin R.H. Kretsinger, V. N. Uversky, E. A. Permyakov, Eds, <i>Encyclopedia of Metalloproteins</i>, 2574p, Springer, 2013. ISBN 978-1-4614-1532-9</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計2件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計2件</p> <p>1. 発明者：上野隆史、田部博康、藤田健太 権利者：国立大学法人東京工業大学 発明の名称：多角体一標的分子複合体の製造方法、多角体一標的分子複合体、タンパク質及び核酸 出願日：平成26年 2月26日 出願番号：特願2014-35149</p>

様式19 別紙1

	<p>2. 発明者：上野隆史、稲葉 央、深井俊宏、有坂文雄、金丸周司 権利者：国立大学法人東京工業大学 発明の名称：標的タンパク質の細胞内導入剤及び標的タンパク質の細胞内導入方法 出願日：平成26年 2月28日 出願番号：特願2014-39644</p>
Webページ (URL)	<p>上野研究室ホームページ http://www.ueno.bio.titech.ac.jp/</p>
国民との科 学・技術対話 の実施状況	<p>「たんぱく質が教えてくれるものづくり」2013年8月30日 東京工業大学 田町キャンパスイノベーションセンター(4階 410号室)一般向け公開講演会 参加者 64名</p>
新聞・一般雑 誌等掲載 計0件	
その他	

4. その他特記事項

1. *Chem. Asian J.*の表紙図案に選定 (*Chem. Asian J.*, 9, 1373-1378 (2014).)
2. Guest Editor, *Israel Journal of Chemistry* for Special issue on the topic of “Artificial metalloenzyme”.
3. 国際会議主催 1: IMS Asian International Symposium “Japan-China Joint Coordination Chemistry Symposium for Young Scientists on Advanced Coordination Materials” (平成25年6月13-16日、於分子研) General secretary
4. 国際会議主催 2: The 2nd International Symposium of Biotechnology and Bioscience (平成26年1月29日、於東工大) Organizing Committee

実施状況報告書(平成25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す

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	114,000,000	88,700,000	25,300,000	0	0
間接経費	34,200,000	26,610,000	7,590,000	0	0
合計	148,200,000	115,310,000	32,890,000	0	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	2,888	25,300,000	3,026	25,305,914	25,305,914	0	0
間接経費	0	7,590,000	0	7,590,000	7,590,000	0	0
合計	2,888	32,890,000	3,026	32,895,914	32,895,914	0	0

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	17,636,271	高速冷却遠心機、ラボ用オートクレーブ、GloMax-Multi+LuminecenceSystem withInstinct withShaking1セット,超音波ホモジナイザー,紫外可視分光光度計1式(据付・調整含む),イノーバ スタックブルインキュベーター シェーカー44R
旅費	2,275,735	研究成果発表旅費(名古屋、シンガポール、岡崎、フランス、金沢、オーストラリア、ニュージーランド、京都)等
謝金・人件費等	2,289,273	技術員人件費等
その他	3,104,635	学会参加費、英文校正、WEBサイト作成、宅配便代、修理
直接経費計	25,305,914	
間接経費計	7,590,000	
合計	32,895,914	

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
高速冷却遠心機	日立工機株式会社製・himac	1	1,470,000	1,470,000	2013/5/17	東京工業大学
ラボ用オートクレーブ	トミー精工株式会社製・LSX-500	1	517,125	517,125	2013/4/17	東京工業大学
GloMax-Multi+LuminecenceSystem withInstinct withShaking	プロメガ株式会社製	1	2,619,750	2,619,750	2013/6/27	東京工業大学
超音波ホモジナイザー	ブランソン社製・mode1250-Advanced	1	714,000	714,000	2013/11/28	東京工業大学

紫外可視分光光度計1式(据付・調整含む)	島津製作所製	1	1,299,900	1,299,900	2014/2/24	東京工業大学
イノーバ スタッカブルインキュベーターシェーカー44R	独エツペンドルフ社製	1	2,955,750	2,955,750	2014/2/21	東京工業大学