

戦略的国際科学技術協力推進事業
日本－フランス研究交流
研究課題「ハイスループットスクリーニングのための
タンパク質チップのロボット化に関する研究」

研究終了報告書

研究交流期間 平成20年2月～平成23年3月

研究代表者：竹内 昌治 (印)
(東京大学生産技術研究所、准教授)

1. 研究・交流の目的

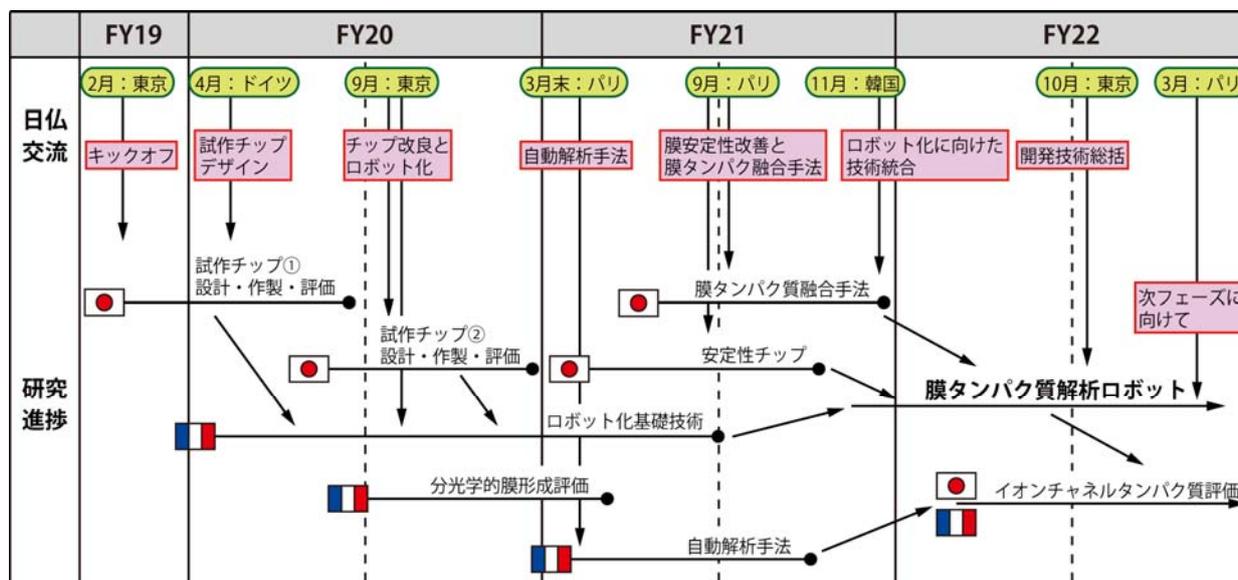
本研究交流では、創薬の重要なターゲットである膜タンパク質の機能を高速・高感度で計測処理する多チャンネル解析ロボットの実現を目的とした。

細胞膜に存在する膜タンパク質は、細胞への刺激の受容、信号の伝達、イオンや他の化学物質の輸送といった多くの重要な役割を担っている。一方で様々な疾患に関係しており、薬剤標的の半数以上が膜タンパク質とされる。しかしながら、細胞膜に組み込まれた状態でのみ活性を保つ膜タンパク質は機能・構造の解明が難しく、特にその機能を高速・高感度・高精度で解析する技術の開発が必要とされている。

そこで本研究交流においては、日本側の微細加工技術（MEMS 技術）を利用した人工細胞膜形成技術とフランス側の計測・解析技術を融合・発展させ、マイクロチップ上に人工細胞膜と膜タンパク質を再構成し、その機能を一括解析できる「膜タンパク質解析ロボット」の開発を目的とした。新薬開発リスク・コストを低減し創薬プロセスを加速できる薬剤高速スクリーニングデバイスの開発や、膜タンパク質を利用した超高感度センサーへの応用、細胞の刺激応答、信号伝達や物質輸送機構など生命現象に関わる基礎研究分野への展開を将来的目標として研究交流を行った。

2. 研究・交流の方法

本研究交流の経過概略は下記表の通りである。交流については相互訪問の開催時期・場所と主要な議題を、研究進捗については小テーマ毎の研究期間と主導国とを時系列に記述している。



日本-フランス間の研究交流は、相互訪問・国際電話・電子メールにより行った。特に直接訪問による研究会合は半期毎を基本として開催し、各テーマの研究進捗や問題点、次回会合までの達成目標などについて集中的なディスカッションを行い、計画遂行のためのマイルストーンとした。

共同研究は当初のロードマップに従い、日本側が「人工細胞膜チップ」と「膜タンパク質融合手法」の開発を、フランス側が「ロボット化」と「自動計測化」の基礎技術開発を主導する形で並行して行った。この間、試作チップの共有や実験結果などの情報交換を頻繁に行うことで研究テーマ毎の目標達成を加速させ、最終年度においてこれらを統合することで本研究計画の最終目標である「膜タンパク質解析ロボット」の開発に成功した。

3. 研究・交流実施体制

3. 1 日本側

氏名	所属	役職	学位	役割
(リーダー) 竹内昌治	東京大学 生産技術研究所	准教授	博士 (工学)	BioMEMS
(研究者) 津田行子	東京大学 生産技術研究所	特任助教	博士 (工学)	細胞工学・ 生体材料工学
大崎寿久	神奈川科学技術 アカデミー	博士研究員	博士 (工学)	材料科学・脂質膜
吉澤聡子	東京大学 生産技術研究所	客員研究員	博士 (工学)	分子生物学
尾上弘晃	東京大学 生産技術研究所	助教	博士 (情報理工)	MEMS (微細加工技術)
川野竜司	神奈川科学技術 アカデミー	博士研究員	博士 (工学)	電気化学・脂質膜
佐々木啓孝	神奈川科学技術 アカデミー	博士研究員	博士 (理学)	脂質生物物理学

3. 2 相手国側

氏名	所属	役職	学位	役割
(リーダー) Le Pioufle, Bruno	ENS Cachan	Prof.	PhD	Electric. Eng.
(研究者) Buckle, Malcolm	CNRS	Res. Dir.	PhD	Biology
Auclair, Christian	ENS Cachan	Prof.	PhD	Biology
Zyss, Joseph	ENS Cachan	Prof.	PhD	Optics
Pansu, Robert	CNRS	Res. Dir.	PhD	Chemistry
Francais, Olivier	CNAM	Ass. Prof.	PhD	Electric. Eng.
Larzabal, Pascal	ENS Cachan	Prof.	PhD	Electric. Eng.
Griscom, Laurent	CNRS	Res. Eng.	PhD	Chemistry
Lefevre, Jean-Pierre	IUT Cachan	Res. Eng.	PhD	Chemistry

4. 研究成果

4. 1 研究成果の自己評価

- 計画以上の成果がでた 計画通りの成果がでた
 計画とは異なるが有益な成果がでた 計画ほどの成果はでなかった
 いずれでもない

4. 2 研究成果の自己評価の根拠 (箇条書き、40行以内)

○「膜タンパク質解析ロボット」の開発 (日仏共同)

分注ロボットを利用した液滴滴下操作により、人工細胞膜と膜タンパク質をマイクロチップ上に再現性良く再構成できるロボットシステムを開発した (成功率 90%)。また、本システムを利用してイオンチャネル膜タンパク質の多チャンネル同時シグナル電流計測

に成功した。

○ロボット開発に至るまでの個別の研究成果

- ・「人工細胞膜のアレイ化技術（日主導）」：マイクロチップの設計および膜形成手法・条件を検討することで再現性の高い人工細胞膜アレイ形成に成功した。
- ・「人工細胞膜の安定性向上（日主導）」：マイクロチップにおける人工細胞膜の面積と安定性との関係を明らかにした。
- ・「膜タンパク質融合技術（日主導）」：誘電泳動現象を利用し、人工細胞膜に膜タンパク質を融合する技術・デバイスの開発に成功した。
- ・「システム自動化のための基礎実験（仏主導）」：分注ロボットによる液滴滴下操作によってマイクロチップ上に人工細胞膜を形成できることを証明した。
- ・「シグナル自動解析手法（仏主導）」：イオンチャネル型の膜タンパク質のシグナル電流の自動解析プログラムの基盤技術開発を行った。
- ・「分光学的な脂質二重膜形成評価（仏主導）」：脂質二重膜形成に伴う光学的性質の変化を捕え、膜形成の成否を評価する技術の開発に成功した。

○日仏協力による相乗効果

- ・両国が保有する微細加工技術（日）、計測・解析技術（仏）を融合することで、単独では実現困難であったと考えられる「膜タンパク質解析ロボット」が実現できた。両国の多分野の研究者が参加することで早期の問題解決が可能となり、結果として最終目標の達成が可能となった。

○今後の展開と波及効果

- ・「創薬における薬剤高速スクリーニングデバイス」：薬剤による副作用などを臨床前段階でスクリーニングするデバイスとしての展開を考えている。
- ・「膜タンパク質を利用した超高感度センサー」：膜タンパク質は一分子を認識できる超高感度のセンサーでもあることから、これを利用したセンサー開発を考えている。
- ・「膜タンパク質機能の基礎研究への寄与」：細胞単位では困難な単一膜タンパク質の機能解析に対する開発システムの利用が考えられる。

○外部発表まとめ

- ・投稿論文：国際誌 6 報（共著 5 報（査読付き国際会議予稿 1 報含む）、日本単独 1 報）
- ・学会発表：国際学会 10 件（共著 2 件、日本単独 8 件）、国内学会 7 件（共著 4 件、日本単独 3 件）
- ・今後の投稿予定論文：国際誌 3 件程度

4. 3 研究成果の補足

特に補足すべき点はない。

5. 交流成果

5. 1 交流成果の自己評価

- 計画以上の交流成果がでた 計画通りの交流成果がでた
- 計画ほどの交流が行われなかったが成果はでた
- 計画ほど交流成果がでなかった
- いずれでもない

5. 2 交流成果の自己評価の根拠（箇条書き、20 行以内）

○研究交流につながる人材育成

- ・両国のリーダー間のみだけでなく、研究メンバー間全体での交流が広く行われた。本研

究交流を端緒として、今後も研究メンバー間での継続的な共同研究の展開が期待できる。

- ・研究パートナーとして、相手国研究機関（フランス国立科学研究センター：CNRS）の選択を考慮するようになったとの意見が研究メンバーから挙がっている。現在所属の研究機関からの異動後の継続的な共同研究可能性についても言及があった。

○今後の共同研究の継続

- ・本研究交流が終了となる 3 月上旬、フランス側研究機関において今後の共同研究の継続を話し合う会合を行っている。本研究の具体的な展開として、上述の研究テーマの中から特に「創薬における薬剤高速スクリーニングデバイス」開発を目標として掲げ、引き続き試作チップ供与や情報交換などの連携を行うことで一致している。

○相互研究交流の増加

- ・日本-フランス研究交流ワークショップ（東大生産技術研究所・CNRS 主催）への参加を機に、フランス国内の研究者・機関からの問い合わせ・共同研究模索が増加した。
- ・日本側リーダーや研究メンバーが所属する研究機関に対して、フランス側から博士研究員ポストへの応募・問い合わせがされるようになった。

5. 3 交流成果の補足

特に補足すべき点はない。

6. 主な論文発表・特許出願

論文 or 特許	・論文の場合： 著者名、タイトル、掲載誌名、巻、号、ページ、発行年 ・特許の場合： 知的財産権の種類、発明等の名称、出願国、出願日、出願番号、出願人、発明者等	特記 事項
論文	T. Osaki, H. Suzuki, B. Le Pioufle, S. Takeuchi, Multichannel Simultaneous Measurements of Single-Molecule Translocation in alpha-Hemolysin Nanopore Array, Analytical Chemistry, vol. 81, no. 24, pp. 9866-9870, 2009.	
論文	R. Kawano, T. Osaki, H. Sasaki, S. Takeuchi, A Polymer-Based Nanopore-Integrated Microfluidic Device for Generating Stable Bilayer Lipid Membranes, Small, vol. 6, no. 19, pp. 2100-2104, 2010.	
論文	B. Hajj, S. de Reguardati, L. Hugonin, B. Le Pioufle, T. Osaki, H. Suzuki, S. Takeuchi, H. Mojzisova, D. Chauvat, J. Zyss, Electro-Optical Imaging Microscopy of Dye-Doped Artificial Lipidic Membranes, Biophysical Journal, vol. 97, no. 11, pp. 2913-2921, 2009.	