

令和 4 年 5 月 26 日現在

機関番号：14401

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2017～2021

課題番号：17H06409

研究課題名(和文)時空間解析法による化学コミュニケーション理解と生物活性リガンドの高次機能評価

研究課題名(英文) Understanding of chemical communications and higher-order functional evaluation of bioactive ligands by spatiotemporal analysis

研究代表者

菊地 和也(Kikuchi, Kazuya)

大阪大学・工学研究科・教授

研究者番号：70292951

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 71,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、化学プローブを用いたイメージングによる時空間解析技術の開発と、生物活性リガンドの機能評価に取り組んだ。成果の一つとして、骨組織に送達可能なpH応答性の蛍光プローブを開発し、破骨細胞、骨細胞の活性を生きたマウスで検出することや、これらの細胞に作用する薬剤の活性評価に応用した。また、小分子-蛋白質ハイブリッドプローブを開発し、DNAメチル化や蛋白質分解などの重要なプロセスを生細胞内で可視化できる系を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発した化学プローブを利用したこれらの技術は生理活性リガンドが生きた細胞、個体においていつ、どこで対象分子や細胞に作用するのかを直接イメージング解析できる新たな評価法として期待できる。破骨細胞、骨細胞の活性法は骨粗鬆症や関節リウマチの発症に、またDNAメチル化や蛋白質分解はがんの病態と関連しているため、本評価法によってこれらの疾患の治療薬のスクリーニングや作用機序解析に貢献できることが考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we developed chemical imaging probes for spatiotemporal analysis of the function of biomolecules and bioactive ligands in living cells and animals. We developed pH-responsive fluorescent probes that can be delivered to bone tissue for detecting osteoclast and osteocyte activity in living mice. We also evaluated the drug action on these cell activities. In addition, we developed small molecule-protein hybrid probes for visualization of important processes such as DNA methylation, endogenous membrane protein expression, and protein degradation in living cells.

研究分野：ケミカルバイオロジー

キーワード：化学プローブ in vivoイメージング 破骨細胞 DNAメチル化 蛋白質分解

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生体内では多くの細胞がシグナル分子をやりとりし、コミュニケーションを取って組織、細胞集団の機能維持を果たしている。また、化学リガンドによりその作用を制御することは、作用機序の理解や新たな薬剤の開発にもつながる。このような化学コミュニケーションの理解において、細胞内外に作用する分子の働きを、その場で解明することが求められている。この目的達成には生きた状態における生体分子の空間的な局在性とその時間的な変化、量的・質的な変化を解析する手法が有効である。われわれは“生きた状態”、すなわち“細胞内で酵素や受容体等が活性やネットワークを保持した状態”における生体分子の空間的な局在性とその時間的な変化、量的・質的な変化を解析する手法を創り出し、直接細胞に応用することに成功してきた。近年の例として、われわれは骨組織における破骨細胞活性を生きたマウスにおいて検出できる蛍光プローブの開発に成功し、このプローブを用いて破骨細胞の活性を直接可視化してきた (*Nat. Chem. Biol.* 2016)。

2. 研究の目的

本研究では、化学プローブにより生体分子を時間と空間を制御して可視化する技術を開発し、生物活性リガンドの機能評価に用いることを目的とする。測定したい対象分子との反応に着目して化学プローブをデザインする発想を基に、時間を特定して標的蛋白質に蛍光団を導入する原理や対象分子を可視化する化学プローブを合成し、分子認識や化学反応を分光情報(蛍光特性変化等)へ変換できるツールを開発し生物応用していく。具体的には、以下の2つを目的として研究を進める。

(1) 破骨細胞機能の *in vivo* イメージング

骨の溶解時に形成される低 pH 環境に着目し *in vivo* イメージングを可能とする赤色光化学プローブをデザイン・合成する。また、開発した *in vivo* 破骨細胞活性イメージングプローブを用い、破骨細胞活性に影響を及ぼす分子スクリーニングへと応用し、骨粗鬆症に有効な機能分子を探索する。また、これまでに骨粗鬆症候補として破骨細胞活性阻害が報告されてきた生理活性リガンドについて、その阻害メカニズムを詳細に解析する。

(2) 合成小分子と蛋白質を駆使した生細胞イメージング技術の開発

これまでに開発してきた標的蛋白質をラベル化する手法 (*Acc. Chem. Res.* 2014, *Nat. Chem. Biol.* 2016) を応用し、標的分子の生細胞イメージング技術を開発する。特に、エピジェネティクスに関連する DNA メチル化の状態や、膜蛋白質である GPCR の発現、活性化状態を生細胞イメージングによって解析する技術を開発し、生理活性リガンドの作用を時空間的に評価する方法を構築する。

3. 研究の方法

(1) 破骨細胞機能の *in vivo* イメージング

赤色領域に蛍光を示すローダミン色素を母骨格として、pH 応答性を付与したローダミン色素の合成を行った。色素に骨組織送達能を有するビスホスフォネート基を導入することで目的の蛍光プローブの合成を完了した。pH 応答性ならびに応答速度は各 pH における吸収、蛍光スペクトルを測定することで調べた。また、骨のモデルであるヒドロキシアパタイト上にプローブを吸着し、pH の異なる緩衝液中に浸した後に蛍光顕微鏡による観察を行うことで、イメージングによる評価も行った。プローブは破骨細胞のプロトンポンプを GFP でラベルしたマウスに投与し、二光子励起顕微鏡を用いて頭頂骨から観察し、骨髓腔の骨表面を観察した。

加えて、骨細胞活性を検出するプローブの開発にも取り組んだ。骨組織内部には骨芽細胞から分化した骨細胞が広く分布しており、骨細管とよばれる管で他の骨小腔や骨表面とつながり、細胞間のコミュニケーションを介して骨組織の維持に寄与していると考えられている。骨細胞は周辺の骨を溶解、吸収することがこれまでの研究から示唆されているが、本現象は生きた動物で観察されておらず、未だ議論の余地が残されていた。そこでより骨組織深部にプローブを送達できる蛍光プローブの設計・合成を行った。pH 応答性を上記と同様の手法で評価し、マウスに投与後、二光子励起顕微鏡によりイメージングを行った。

(2) 合成小分子と蛋白質を駆使した生細胞イメージング技術の開発

これまでに開発した PYP タグによる蛋白質ラベル化技術を用い、合成小分子と蛋白質によるハイブリッドプローブを作製し、標的分子を生細胞イメージングすることに取り組んだ。エピジェネティックな遺伝子発現制御に関連するメチル化 DNA を標的とし、メチル化 DNA に結合する蛋白質と DNA 結合色素を PYP タグにより連結し、ハイブリッドプローブを作製した。蛋白質のラベル化、メチル化 DNA の蛍光検出を分光測定により確認した。続いて MBD-PYP タグの融合蛋白質を発現させた細胞にプローブを加え、生細胞におけるイメージングを行った。また、本コンセプトを利用し、内在性膜蛋白質、蛋白質分解を生細胞イメージングする技術の開発に取り組んだ。

4. 研究成果

(1) 破骨細胞機能の *in vivo* イメージング

新たな蛍光色素としてローダミンのスピロラクタム体に着目した。ラクタムのスピロ環化が pH により変化することを利用して、低 pH で蛍光性の開環体となる色素群を合成、評価した。その結果、ラクタムの窒素上にトリフルオロエチル基を導入した色素が破骨細胞活性検出に適した pH 応答性と共に迅速な応答速度が見られることが示された。この色素にビスホスフォネート基を導入し、赤色蛍光を示す pH 応答性蛍光プローブ、“Red-pHocas”を合成した (Figure 1)。Red-pHocas を用いて、マウス体内における骨組織の低 pH 領域の検出・追跡を行った。二光子励起顕微鏡によるイメージング結果から、骨組織表面の一部からプローブ由来の蛍光シグナルが見られたため、低 pH 環境を選択的に可視化できていることが示された。さらに、破骨細胞プロトンポンプとのマルチカラーイメージングを行ったところ、プロトンポンプの局在変化に伴い、酸性領域が広がっていく様子を捉えることに成功した (Figure 1)。このことから、プロトンポンプの局在変化と破骨細胞の骨溶解活性との間に相関があることが示された。骨溶解に関わる分子複合体の機能を *in vivo* において初めて明らかにすることができた。また、プロトンポンプの機能を阻害する薬剤、パフィロマイシン A1 を投与したところ、投与後徐々に蛍光が減衰していく様子を観察することができ、開発した化学プローブを用いて時空間を制御して薬剤の効果を *in vivo* において定量的に評価できる系を構築できた (ACS Cent. Sci. 2019.)

また、骨細胞の骨溶解活性を調べるために、pH 応答性プローブを骨細胞の存在する骨組織深部まで送達させる分子の設計を行った。これまで骨組織送達に用いていた alendronate を含むプローブは、骨細胞が存在する骨組織内部まで送達されず、骨細胞による骨溶解を検出することはできなかった。そこで、骨への親和性が下がることで骨表面より内部への浸透が可能になると考え、親和性のより低い risedronate を pH 応答性 BODIPY 色素に導入したプローブ、pHocas-RIS を設計した。このプローブをマウスに投与し、骨組織内部を観察したところ、いくつかの骨小腔の輪郭に沿って円盤状の蛍光シグナルが得られた (Figure 2)。この結果は骨組織内部までプローブが送達され、骨細胞が存在する骨小腔における低 pH 環境をはじめて可視化できたものと考えられる (Angew. Chem. Int. Ed. 2020)。今回観察された蛍光シグナルは定常状態の骨小腔における pH を可視化したものであり、骨溶解が促進するといわれる授乳期のマウスを用いて今後検証を行う予定である。

また、これらのイメージング系を用いた生理活性リガンドの時空間的な評価を進めた。緑色蛍光プローブを用いたイメージング系により、破骨細胞の代謝系に作用し骨吸収活性を抑える薬剤や抗リウマチ薬の効果を時空間的に解析した (JBMR Plus 2018, Ann. Rheum. Dis. 2018.)

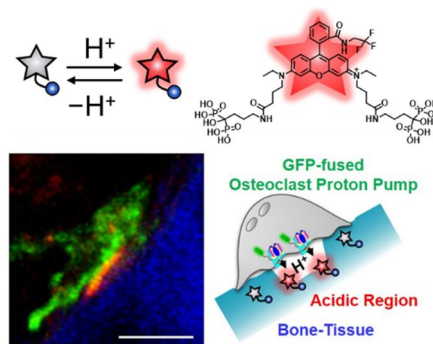


Figure 1. 赤色 pH 応答性プローブを用いた破骨細胞プロトンポンプ局在と活性の *in vivo* イメージング

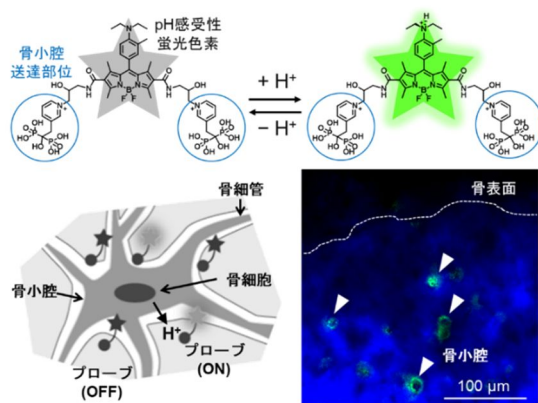


Figure 2. 骨深部送達可能な pH 応答性蛍光プローブによる骨小腔の *in vivo* イメージング

(2) 合成小分子と蛋白質を駆使した生細胞イメージング技術の開発

これまでに開発した PYP タグによる蛋白質ラベル化技術を用い、合成小分子と蛋白質によるハイブリッドプローブを作製し、標的分子を生細胞イメージングすることに取り組んだ。エピジェネティックな遺伝子発現制御に関連するメチル化 DNA を標的とするため、メチル化 DNA に結合する蛋白質 (MBD) と DNA 結合色素であるオキサゾールイエロー (YO) を PYP タグにより連結し、ハイブリッドプローブを作製した。メチル化 DNA に結合する時に YO が DNA に近接、結合することで蛍光が上昇する様子が観察された。さらに、MBD-PYP タグの融合蛋白質を発現させた細胞に、プローブを加えることで、メチル化 DNA の生細胞イメージングに成功し、その動態を追跡することが可能となった (J. Am. Chem. Soc. 2018)

同様のハイブリッドプローブの概念を応用し、内在性膜蛋白質のイメージング技術の開発に取り組んだ。内在性蛋白質を特異的に認識する Nanobody (ラクダ科動物由来抗体断片) を用い、小分子・蛋白質ハイブリッドプローブを設計した。蛍光スイッチユニットとして、細胞膜に結合

する環境応答性蛍光色素である Nile Red を選択し、PYP タグリガンドと連結したプローブを設計・合成した。内在性膜蛋白質である上皮成長因子受容体 (EGFR) のイメージングを行ったところ、EGFR 高発現の細胞特異的に蛍光シグナルが検出されたことから、内在性 EGFR の検出に成功したといえる。

また、蛋白質の分解をイメージングする技術の開発に取り組んだ。蛋白質の分解は細胞機能の制御において重要な役割を果たしており、その異常は癌や神経疾患の原因となる。本研究では、分子会合による蛍光消光を利用し、遊離状態では非蛍光性で、蛋白質をラベル化すると蛍光性となり、蛋白質が分解すると蛍光強度が低下する OFF-ON-OFF 型蛍光プローブを開発した。このプローブを用いて、生細胞における蛋白質分解を可視化することに成功した (Figure 3. *Chem. Sci.* 2022)。本研究は、近年注目されている PROTACs など蛋白質分解を標的とした創薬開発においても有用なツールを提供することが期待される。

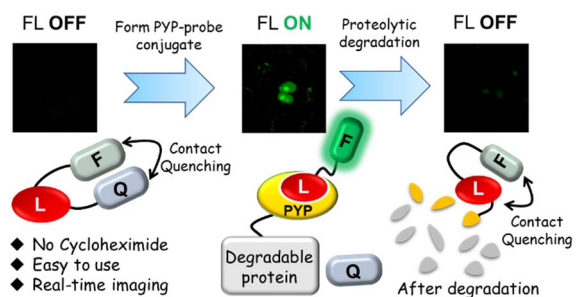


Figure 3. OFF-ON-OFF 型蛍光プローブを用いた蛋白質分解のイメージング

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計28件（うち査読付論文 28件 / うち国際共著 8件 / うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Kowada Toshiyuki, Arai Keisuke, Yoshimura Akimasa, Matsui Toshitaka, Kikuchi Kazuya, Mizukami Shin	4. 巻 60
2. 論文標題 Optical Manipulation of Subcellular Protein Translocation Using a Photoactivatable Covalent Labeling System	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202016684	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hori Yuichiro, Nishiura Miyako, Tao Tomomi, Baba Reisuke, Bull Steven D., Kikuchi Kazuya	4. 巻 12
2. 論文標題 Fluorogenic probes for detecting deacylase and demethylase activity towards post-translationally-modified lysine residues	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemical Science	6. 最初と最後の頁 2498 ~ 2503
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0SC06551J	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Imamura Hiromi, Sakamoto Shuichiro, Yoshida Tomoki, Matsui Yusuke, Penuela Silvia, Laird Dale W, Mizukami Shin, Kikuchi Kazuya, Kakizuka Akira	4. 巻 9
2. 論文標題 Single-cell dynamics of pannexin-1-facilitated programmed ATP loss during apoptosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e61960
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.61960	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Hashimoto Ryu, Minoshima Masafumi, Kikuta Junichi, Yari Shinya, Bull Steven D., Ishii Masaru, Kikuchi Kazuya	4. 巻 59
2. 論文標題 An Acid Activatable Fluorescence Probe for Imaging Osteocytic Bone Resorption Activity in Deep Bone Cavities	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 20996 ~ 21000
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202006388	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Imoto Takuma, Minoshima Masafumi, Yokoyama Tatsushi, Emery Ben P., Bull Steven D., Bito Haruhiko, Kikuchi Kazuya	4. 巻 6
2. 論文標題 A Photodeactivatable Antagonist for Controlling CREB-Dependent Gene Expression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Central Science	6. 最初と最後の頁 1813 ~ 1818
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscentsci.0c00736	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tomczyk Mateusz Michal, Boncel Slawomir, Herman Artur, Krawczyk Tomasz, Jakobik-Kolon Agata, Pawlyta Mirosława, Krzywiecki Maciej, Chrobak Artur, Minoshima Masafumi, Sugihara Fuminori, Kikuchi Kazuya, Kuznik Nikodem	4. 巻 15
2. 論文標題 Oxygen Functional Groups on MWCNT Surface as Critical Factor Boosting T2 Relaxation Rate of Water Protons: Towards Improved CNT-Based Contrast Agents	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Nanomedicine	6. 最初と最後の頁 7433 ~ 7450
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2147/IJN.S257230	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Wyskocka-Gajda Marzena, Przepis Lukasz, Olesiejuk Monika, Krawczyk Tomasz, Kuznik Anna, Nawara Krzysztof, Minoshima Masafumi, Sugihara Fuminori, Kikuchi Kazuya, Kuznik Nikodem	4. 巻 211
2. 論文標題 A step towards gadolinium-free bioresponsive MRI contrast agent	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Journal of Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 113086 ~ 113086
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejmech.2020.113086	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kumar Naresh, Hori Yuichiro, Nishiura Miyako, Kikuchi Kazuya	4. 巻 11
2. 論文標題 Rapid no-wash labeling of PYP-tag proteins with reactive fluorogenic ligands affords stable fluorescent protein conjugates for long-term cell imaging studies	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemical Science	6. 最初と最後の頁 3694 ~ 3701
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0SC00499E	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Torii Kenji, Hori Yuichiro, Watabe Keiichiro, Kikuchi Kazuya	4. 巻 93
2. 論文標題 Development of Photoswitchable Fluorescent Molecules Using Arylazopyrazole	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bulletin of the Chemical Society of Japan	6. 最初と最後の頁 821 ~ 824
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20200077	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Reja Shahi Imam, Minoshima Masafumi, Hori Yuichiro, Kikuchi Kazuya	4. 巻 12
2. 論文標題 Near-infrared fluorescent probes: a next-generation tool for protein-labeling applications	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemical Science	6. 最初と最後の頁 3437 ~ 3447
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0SC04792A	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Gao Jingchi, Hori Yuichiro, Takeuchi Osamu, Kikuchi Kazuya	4. 巻 31
2. 論文標題 Live-Cell Imaging of Protein Degradation Utilizing Designed Protein-Tag Mutant and Fluorescent Probe with Turn-Off Switch	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioconjugate Chemistry	6. 最初と最後の頁 577 ~ 583
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.bioconjchem.9b00696	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Weber Maria, Yamada Namiko, Tian Xue, Bull Steven D., Minoshima Masafumi, Kikuchi Kazuya, Mackenzie Amanda B., James Tony D.	4. 巻 8
2. 論文標題 Sensing Peroxynitrite in Different Organelles of Murine RAW264.7 Macrophages With Coumarin-Based Fluorescent Probes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Chemistry	6. 最初と最後の頁 39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fchem.2020.00039	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Gao Jingchi, Hori Yuichiro, Nishiura Miyako, Bordy Mathieu, Hasserodt Jens, Kikuchi Kazuya	4. 巻 49
2. 論文標題 Engineered Protein-tag for Rapid Live-cell Fluorogenic Visualization of Proteins by Anionic Probes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 232 ~ 235
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.190875	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Imoto Takuma, Kawase Akihiro, Minoshima Masafumi, Yokoyama Tatsushi, Bito Haruhiko, Kikuchi Kazuya	4. 巻 22
2. 論文標題 Photolytic Release of a Caged Inhibitor of an Endogenous Transcription Factor Enables Optochemical Control of CREB-Mediated Gene Expression	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Organic Letters	6. 最初と最後の頁 22 ~ 25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.9b03568	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Gao Jingchi, Hori Yuichiro, Shimomura Takashi, Bordy Mathieu, Hasserodt Jens, Kikuchi Kazuya	4. 巻 21
2. 論文標題 Development of Fluorogenic Probes for Rapid High Contrast Imaging of Transient Nuclear Localization of Sirtuin3	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ChemBioChem	6. 最初と最後の頁 656 ~ 662
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cbic.201900568	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Imoto Takuma, Muramatsu Masayasu, Miyasaka Hiroshi, Mizukami Shin, Kikuchi Kazuya	4. 巻 48
2. 論文標題 Improvement in Photostability of Fluorescein by Lanthanide Ions Based on Energy Transfer-based Triplet State Quenching	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 1181 ~ 1184
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.190469	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Minoshima Masafumi, Kikuta Junichi, Omori Yuta, Seno Shigeto, Suehara Riko, Maeda Hiroki, Matsuda Hideo, Ishii Masaru, Kikuchi Kazuya	4. 巻 5
2. 論文標題 In Vivo Multicolor Imaging with Fluorescent Probes Revealed the Dynamics and Function of Osteoclast Proton Pumps	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Central Science	6. 最初と最後の頁 1059 ~ 1066
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscentsci.9b00220	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hori Yuichiro, Kikuchi Kazuya	4. 巻 52
2. 論文標題 Chemical Tools with Fluorescence Switches for Verifying Epigenetic Modifications	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Accounts of Chemical Research	6. 最初と最後の頁 2849 ~ 2857
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.accounts.9b00349	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akazawa Kazuki, Sugihara Fuminori, Nakamura Tatsuya, Mizukami Shin, Kikuchi Kazuya	4. 巻 29
2. 論文標題 Highly Sensitive Detection of Caspase-3/7 Activity in Living Mice Using Enzyme-Responsive 19F MRI Nanoprobes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioconjugate Chemistry	6. 最初と最後の頁 1720 ~ 1728
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.bioconjchem.8b00167	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akazawa Kazuki, Sugihara Fuminori, Minoshima Masafumi, Mizukami Shin, Kikuchi Kazuya	4. 巻 54
2. 論文標題 Sensing caspase-1 activity using activatable 19F MRI nanoprobes with improved turn-on kinetics	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 11785 ~ 11788
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c8cc05381b	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akazawa Kazuki, Sugihara Fuminori, Nakamura Tatsuya, Matsushita Hisashi, Mukai Hiroaki, Akimoto Rena, Minoshima Masafumi, Mizukami Shin, Kikuchi Kazuya	4. 巻 57
2. 論文標題 Perfluorocarbon-based 19F MRI Nanoprobes for In Vivo Multicolor Imaging	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Angewante Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 16742 ~ 16747
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie201810363	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsuura Yoshinobu, Kikuta Junichi, Kishi Yuika, Hasegawa Tetsuo, Okuzaki Daisuke, Hirano Toru, Minoshima Masafumi, Kikuchi Kazuya, Kumanogoh Atsushi, Ishii Masaru	4. 巻 77
2. 論文標題 In vivovisualisation of different modes of action of biological DMARDs inhibiting osteoclastic bone resorption	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Annals of the Rheumatic Diseases	6. 最初と最後の頁 1219 ~ 1225
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/annrheumdis-2017-212880	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kikuta Junichi, Shirazaki Mai, Sudo Takao, Mizuno Hiroki, Morimoto Akito, Suehara Riko, Minoshima Masafumi, Kikuchi Kazuya, Ishii Masaru	4. 巻 2
2. 論文標題 Dynamic Analyses of the Short-Term Effects of Different Bisphosphonates Using Intravital Two-Photon Microscopy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 JBMR Plus	6. 最初と最後の頁 362 ~ 366
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbm4.10057	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Akazawa Kazuki, Sugihara Fuminori, Nakamura Tatsuya, Mizukami Shin, Kikuchi Kazuya	4. 巻 29
2. 論文標題 Highly Sensitive Detection of Caspase-3/7 Activity in Living Mice Using Enzyme-Responsive 19F MRI Nanoprobes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioconjugate Chemistry	6. 最初と最後の頁 1720 ~ 1728
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.bioconjchem.8b00167	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akazawa Kazuki, Sugihara Fuminori, Minoshima Masafumi, Mizukami Shin, Kikuchi Kazuya	4. 巻 54
2. 論文標題 Sensing caspase-1 activity using activatable 19F MRI nanoprobe with improved turn-on kinetics	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 11785 ~ 11788
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c8cc05381b	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akazawa Kazuki, Sugihara Fuminori, Nakamura Tatsuya, Matsushita Hisashi, Mukai Hiroaki, Akimoto Rena, Minoshima Masafumi, Mizukami Shin, Kikuchi Kazuya	4. 巻 57
2. 論文標題 Perfluorocarbon-based 19F MRI Nanoprobes for In Vivo Multicolor Imaging	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Angewante Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 16742 ~ 16747
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie201810363	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsuura Yoshinobu, Kikuta Junichi, Kishi Yuika, Hasegawa Tetsuo, Okuzaki Daisuke, Hirano Toru, Minoshima Masafumi, Kikuchi Kazuya, Kumanogoh Atsushi, Ishii Masaru	4. 巻 77
2. 論文標題 In vivovisualisation of different modes of action of biological DMARDs inhibiting osteoclastic bone resorption	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Annals of the Rheumatic Diseases	6. 最初と最後の頁 1219 ~ 1225
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/annrheumdis-2017-212880	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kikuta Junichi, Shirazaki Mai, Sudo Takao, Mizuno Hiroki, Morimoto Akito, Suehara Riko, Minoshima Masafumi, Kikuchi Kazuya, Ishii Masaru	4. 巻 2
2. 論文標題 Dynamic Analyses of the Short-Term Effects of Different Bisphosphonates Using Intravital Two-Photon Microscopy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 JBMR Plus	6. 最初と最後の頁 362 ~ 366
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbm4.10057	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 15件 / うち国際学会 13件）

1. 発表者名 Kazuya Kikuchi
2. 発表標題 in vivo Imaging Probes to Clarify Cellular and Molecular Functions
3. 学会等名 RSC Tokyo International Conferences 2020 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kazuya Kikuchi
2. 発表標題 New Biological Findings which were Revealed by Designed Fluorescent Probes
3. 学会等名 Chemical Biology & Physiology Conference 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazuya Kikuchi
2. 発表標題 In vivo Multicolor Imaging with Fluorescent Probes Revealed Dynamics and Function of Osteoclast Proton Pumps
3. 学会等名 16th International, Methods & Applications of Fluorescence (Roger Y Tsien Memorial Symposium) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazuya Kikuchi
2. 発表標題 in vivo Chemical Probes for MRI and Fluorescence Imaging
3. 学会等名 ICBIC-19, International Conference on Biological Inorganic Chemistry (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazuya Kikuchi
2. 発表標題 Development of Multifunctional 19F MRI Contrast Agents Based on Fluorine-encapsulated Silica Nanoparticle
3. 学会等名 The Future of Molecular MR: A Cellular and Molecular Imaging Workshop (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 菊地和也
2. 発表標題 化学プローブによって明らかになった生命現象
3. 学会等名 日本分析化学会第68年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 菊地和也
2. 発表標題 イメージングプローブのデザイン・合成によるケミカルバイオロジー研究
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会 第71回日本細胞生物学会大会 合同年次学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kikuchi Kazuya
2. 発表標題 New Biological Findings Which Were Revealed by Designed Chemical Probes
3. 学会等名 A3 Meeting for Chemical Biology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kikuchi Kazuya
2. 発表標題 In vivo Chemical Probes for MRI and Fluorescence Imaging
3. 学会等名 The 9th Asian Biological Inorganic Chemistry Conference (AsBIC IX) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kikuchi Kazuya
2. 発表標題 Development of Multifunctional ¹⁹ F MRI Contrast Agents Based on Fluorine-encapsulated Silica Nanoparticle
3. 学会等名 Imaging in 2020 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kikuchi Kazuya
2. 発表標題 New Biological Findings Which Were Clarified by Designed Chemical Probes
3. 学会等名 MSMLG 2018, 6th International Conference on Molecular Sensors and Molecular Logic Gates (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kikuchi Kazuya
2. 発表標題 New Biological Findings Which Were Revealed by Designed Chemical Probes
3. 学会等名 A3 Meeting for Chemical Biology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kikuchi Kazuya
2. 発表標題 In vivo Chemical Probes for MRI and Fluorescence Imaging
3. 学会等名 The 9th Asian Biological Inorganic Chemistry Conference (AsBIC IX) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kikuchi Kazuya
2. 発表標題 Development of Multifunctional 19F MRI Contrast Agents Based on Fluorine-encapsulated Silica Nanoparticle
3. 学会等名 Imaging in 2020 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kikuchi Kazuya
2. 発表標題 New Biological Findings Which Were Clarified by Designed Chemical Probes
3. 学会等名 MSMLG 2018, 6th International Conference on Molecular Sensors and Molecular Logic Gates (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 袁島維文、菊地和也	4. 発行年 2020年
2. 出版社 講談社	5. 総ページ数 576
3. 書名 核酸科学ハンドブック (第5章2 MRIプローブ)	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 ケージド化合物から化合物を放出させる方法	発明者 袁島維文、橋本龍、菊地和也	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-022014	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	堀 雄一郎 (Hori Yuichiro) (00444563)	大阪大学・大学院工学研究科・准教授 (14401)	
連携研究者	藪島 維文 (Minoshima Masafumi) (20600844)	大阪大学・大学院工学研究科・助教 (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------