

領域略称名：超越分子システム  
領域番号：21A205

令和6年度  
科学研究費助成事業「学術変革領域研究（A）」  
に係る中間評価報告書

「生物を陵駕する無細胞分子システムのボトムアップ構築学  
（超越分子システム）」

領域設定期間  
令和3年度～令和7年度

令和6年6月

領域代表者 東京工業大学・地球生命研究所・教授・松浦 友亮

# 目 次

## 研究組織

1	総括班・総括班以外の計画研究	2
2	総括班・総括班以外の計画研究の研究代表者・研究分担者	3-4
3	公募研究	5-9

## 研究領域全体に係る事項

4	研究領域の目的及び概要	10-11
5	審査結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況	12-13
6	研究の進展状況及び主な成果	14-25
7	研究発表の状況	26-30
8	研究組織の連携体制	31
9	若手研究者の育成に係る取組状況	32
10	アウトリーチ活動に係る取組状況	33
11	研究費の使用状況・計画	34
12	今後の研究領域の推進方策	35-36
13	総括班評価者による評価	37-38

**研究組織** (令和6年6月末現在。ただし完了又は廃止した研究課題は完了・廃止時現在。)

**1 総括班及び総括班以外の計画研究**

研究項目[1]	課題番号 研究課題名	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職	人数[2]
X00 総	21H05225 超越分子システム領域の総括班	松浦 友亮	東京工業大学・地球生命 研究所・教授	1
A01 計	21H05226 超高感度バイオマーカー・ウイルス 検出を実現する人工細胞センサーの ボトムアップ構築	築地 真也	名古屋工業大学・工学 (系) 研究科 (研究院)・ 教授	2
B01 計	21H05227 完全再構成型ウイルス・細菌様粒 子のボトムアップ構築	堀 克敏	名古屋大学・工学研究 科・教授	3
B02 計	21H05228 天然で起こりえない進化を実現す る無細胞分子システムのボトムア ップ構築	松浦 友亮	東京工業大学・地球生命 研究所・教授	3
C01 計	21H05229 De novo 細胞膜分子システムのボト ムアップ構築	川野 竜司	東京農工大学・工学 (系) 研究科 (研究院)・ 教授	2
D01 計	21H05230 計算科学にもとづく「最適」無細 胞分子システムのボトムアップ構 築	油谷 幸代	国立研究開発法人産業技 術総合研究所・生物プロ セス研究部門・部門長	3
E01 計	21H05231 ナノ流体デバイスで創るナノゲル ファイバー酵素分子システムのボ トムアップ構築	許 岩	大阪府立大学・工学 (系) 研究科 (研究院)・ 准教授	2
計				
計				
総括班及び総括班以外の計画研究 計 7 件 (廃止を含む)				

[1] 総：総括班、計：総括班以外の計画研究

[2] 研究代表者及び研究分担者の人数（辞退又は削除した者を除く。）

## 2 総括班及び総括班以外の計画研究の研究代表者・研究分担者

研究項目：X00

研究課題名：超越分子システム領域の総括班

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	松浦 友亮	東京工業大学・地球生命 研究所・教授	研究領域の総括・事務局
合計 1 名			

研究項目：A01

研究課題名：超高感度バイオマーカー・ウイルス検出を実現する人工細胞センサーのボトムアップ構築

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	築地 真也	名古屋工業大学・工学研 究科・教授	超高感度人工細胞センサーの創製
分担	寺井 健太	徳島大学・医歯薬学研 究部・教授	シグナル増幅システムの開発と in vivo 応用
合計 2 名			

研究項目：B01

研究課題名：完全再構成型ウイルス・細菌様粒子のボトムアップ構築

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	堀 克敏	名古屋大学・工学研 究科・教授	微粒子の作製と解析
分担	若林 里衣	九州大学・工学研 究院・准教授	脂質-タンパク質複合体の作製
分担	浦野 諒	岡山大学・異分野基 礎科学研究 所・特任助教	微粒子構造安定性の分子動力学計算
合計 3 名			

研究項目：B02

研究課題名：天然で起こりえない進化を実現する無細胞分子システムのボトムアップ構築

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	松浦 友亮	東京工業大学・地球生命 研究所・教授	膜タンパク質を作る無細胞分子システムの構築と 応用
分担	木賀 大介	早稲田大学・理工学 術院・教授	酸化耐性タンパク質を作る無細胞分子システムの 構築

分担	三浦 夏子	大阪公立大学・大学院農学研究科・准教授	キラル化合物を作る無細胞分子システムの構築
合計 3 名			

**研究項目 : C01**

**研究課題名 : De novo 細胞膜分子システムのボトムアップ構築**

代表／分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	川野 竜司	東京農工大学・工学研究科・教授	人工細胞膜分子システムの構築と電気生理学的評価
分担	川村 出	横浜国立大学・大学院工学研究院・教授	固体 NMR を用いた人工細胞膜分子システムの分析
合計 2 名			

**研究項目 : D01**

**研究課題名 : 計算科学にもとづく「最適」無細胞分子システムのボトムアップ構築**

代表／分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	油谷 幸代	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生物プロセス研究部門・部門長	統計的因果推論を用いた分子システムの最適化手法の開発
分担	本田 孝祐	大阪大学・生物工学国際交流センター・教授	天然を超える ATP 合成能を有した人工解糖系の構築
分担	白井 智量	国立研究開発法人理化学研究所・環境資源科学研究センター・上級研究員	代謝工学を用いたノネナル検出システムの開発
合計 3 名			

**研究項目 : E01**

**研究課題名 : ナノ流体デバイスで創るナノゲルファイバー酵素分子システムのボトムアップ構築**

代表／分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	許 岩	大阪府立大学・工学研究科・准教授	ナノ流体デバイス作製・評価、ナノスケールにおけるナノゲル-酵素分子システムの構築
分担	高井 まどか	東京大学・大学院工学系研究科(工学部)・教授	高分子ゲルの合成・評価、バルクとマイクロスケールにおけるナノゲル-酵素分子システムの構築
合計 2 名			

### 3 公募研究

#### 第1期

研究項目[1]	課題番号 研究課題名	研究期間	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職	人数 [2]
F01 公	22H05389 (完了) 光エネルギーで駆動される物質回収・放出カプセルのボトムアップ構築	令和4年度 ～ 令和5年度	菊川 峰志	北海道大学・先端生命科学 研究院・准教授	1
F01 公	22H05392 (完了) 社会実装を目指した汎用的セル・フリー膜タンパク質合成システムの開発	令和4年度 ～ 令和5年度	西山 賢一	岩手大学・農学部・教授	1
F01 公	22H05393 (完了) 高分子医薬の脳へのデリバリーの突破口を拓く脳型ナノ粒子のボトムアップ構築	令和4年度 ～ 令和5年度	内田 康雄	東北大学・薬学研究科・講師	1
F01 公	22H05395 (完了) 疎水分子の自在配置を可能にする新規技術基盤の創出	令和4年度 ～ 令和5年度	佐藤 佑介	東北大学・学際科学フロン ティア研究所・助教	1
F01 公	22H05396 (完了) 進化により探索するハイブリッド材料創製システムの構築	令和4年度 ～ 令和5年度	濱田 省吾	東北大学・工学研究科・特 任講師	1
F01 公	22H05397 (完了) 電子伝達可能な無細胞分子システムの合成およびエネルギー移動制御	令和4年度 ～ 令和5年度	阿部 博弥	東北大学・学際科学フロン ティア研究所・助教	1
F01 公	22H05402 (完了) 人工細胞システムを用いた核酸医薬合成に資するポリメラーゼの人為進化	令和4年度 ～ 令和5年度	市橋 伯一	東京大学・大学院総合文化 研究科・教授	1
F02 公	22H05403 (完了) 化学反応動力学理論を用いた頑健な反応経路設計アルゴリズムの開発	令和4年度 ～ 令和5年度	姫岡 優介	東京大学・大学院理学系研 究科(理学部)・助教	1
F01 公	22H05408 (完了) グラフェン・バイオセンサによる機能性タンパク質の中低分子結合能評価システムの構築	令和4年度 ～ 令和5年度	早水 裕平	東京工業大学・物質理工学 院・准教授	1
F01 公	22H05414 (完了) 人工細胞バイオフィルムのボトムアップ構築	令和4年度 ～ 令和5年度	石川 聖人	名古屋大学・工学研究科・ 助教	1

F01 公	22H05416 (完了) 光合成膜タンパク質集合体により 駆動する光エネルギー変換人工オル ガネラ	令和4年度 ～ 令和5年度	出羽 毅久	名古屋工業大学・工学 (系)研究科(研究院)・ 教授	1
F01 公	22H05417 (完了) 人工シャペロンの創製	令和4年度 ～ 令和5年度	上杉 志成	京都大学・化学研究所・教 授	1
F01 公	22H05418 (完了) DNA を構造ビルディングブロッ クとした酵素の集積状態の構築	令和4年度 ～ 令和5年度	中田 栄司	京都大学・エネルギー理工 学研究所・准教授	1
F01 公	22H05421 (完了) 人工金属酵素の実験室進化を実現 する無細胞分子システムのボトム アップ構築	令和4年度 ～ 令和5年度	加藤 俊介	大阪大学・工学研究科・助 教	1
F01 公	22H05422 (完了) 合成ハイドロゲルを材料基盤とし たシグナル伝達システムの構築	令和4年度 ～ 令和5年度	仲本 正彦	大阪大学・工学研究科・助 教	1
F01 公	22H05423 (完了) 光物理作用による超越分子システ ムのボトムアップ構築	令和4年度 ～ 令和5年度	吉川 洋史	大阪大学・工学研究科・教 授	1
F01 公	22H05425 (完了) 合成分子と生体分子によって超越 する遺伝子発現光制御システムの 構築	令和4年度 ～ 令和5年度	蓑島 維文	大阪大学・工学研究科・助 教	1
F01 公	22H05426 (完了) 二次構造モチーフに着目したデザ イン戦略によるタンパク質複合体 のボトムアップ構築	令和4年度 ～ 令和5年度	小林 直也	奈良先端科学技術大学院大 学・先端科学技術研究科・ 助教	1
F01 公	22H05429 (完了) 超越分子システムとしての機能共 生型人工オルガネラ創製と実用化 に向けた機能実証	令和4年度 ～ 令和5年度	岸村 顕広	九州大学・工学研究院・准 教授	1
F01 公	22H05430 (完了) 膜タンパク質を模倣した精密合成 高分子による集積応答型膜システ ムの構築	令和4年度 ～ 令和5年度	長尾 匡憲	九州大学・工学研究院・助 教	1
F01 公	22H05431 (廃止) 相乗的結合を示すペプチドを取得 可能なマルチ表現型提示ペプチド 選抜システムの開発	令和4年度 ～ 令和5年度	南畑 孝介	九州大学・工学研究院・助 教	1
F01 公	22H05432 (完了) 社会で実用可能な超越分子システ ムとしての人工細胞発酵法の確立	令和4年度 ～ 令和5年度	藤原 慶	慶應義塾大学・理工学部 (矢上)・講師	1

F01 公	22H05437 (完了) 生命代謝の再構成による高効率な 酵素発電	令和4年度 ～ 令和5年度	美川 務	国立研究開発法人理化学研 究所・生命機能科学研究セ ンター・専任研究員	1
F02 公	22H05438 (完了) 無細胞分子システムを支える汎用 膜貫通ペプチドモジュールの理論 設計	令和4年度 ～ 令和5年度	新津 藍	国立研究開発法人理化学研 究所・開拓研究本部・訪問 研究員	1
F01 公	22H05440 (完了) 国立研究開発法人海洋研究開発機 構・超先鋭研究開発部門(超先鋭 研究プログラム)・研究員	令和4年度 ～ 令和5年度	小宮 健	国立研究開発法人海洋研究 開発機構・超先鋭研究開発 部門(超先鋭研究プログラ ム)・研究員	1
F01 公	23H04078 (完了) 物質と細胞膜との弱い相互作用の 機序解明とパラメーター化	令和4年度 ～ 令和5年度	森本 展行	島根大学・学術研究院機能 強化推進学系・教授	1
公募研究 計 26 件 (廃止 1 件を含む)					

## 第2期

研究 項目[1]	課題番号 研究課題名	研究期間	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職	人 数[2]
F01 公	24H01107 機能的膜タンパク質のセル・フ リー合成・再構成システムの開 発と社会実装	令和6年度 ～ 令和7年度	西山 賢一	岩手大学・農学部・教授	1
F01 公	24H01124 グラフェン・バイオセンサによ る機能性タンパク質の中低分子 結合能評価システムの構築	令和6年度 ～ 令和7年度	早水 裕平	東京工業大学・物質理工 学院・准教授	1
F01 公	24H01122 DNAマイクロゲルプラットホ ームによる多成分ハイブリッド 材料創成	令和6年度 ～ 令和7年度	濱田 省吾	東京工業大学・情報理工 学院・助教	1
F01 公	24H01138 レーザー濃縮による分子システ ムの超越的機能発現	令和6年度 ～ 令和7年度	吉川 洋史	大阪大学・大学院工学研 究科・教授	1
F01 公	24H01151 生体分子凝縮体に基づく人工オ ルガネラ構築と物質生産超越分 子システムへの活用	令和6年度 ～ 令和7年度	岸村 顕広	九州大学・工学研究院・ 准教授	1
F01 公	24H01136 無細胞スクリーニング技術に基 づく非天然ラジカル酵素の開発	令和6年度 ～ 令和7年度	加藤 俊介	大阪大学・大学院工学研 究科・助教	1



F01 公	24H01128 半導体光触媒ー光合成膜タンパク質ハイブリッドによる光エネルギー変換人工オルガネラ	令和6年度 ～ 令和7年度	出羽 毅久	名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・教授	1
F01 公	24H01129 DNAー酵素ハイブリッド構造体による酵素集積状態の構築	令和6年度 ～ 令和7年度	中田 栄司	京都大学・エネルギー理工学研究所・准教授	1
F01 公	24H01152 分子の自在配置制御によるスマートレセプタ機構の創出	令和6年度 ～ 令和7年度	佐藤 佑介	九州工業大学・大学院情報工学研究院・准教授	1
F01 公	24H01111 機械学習を用いた再構成無細胞翻訳における遺伝子発現量予測と理解	令和6年度 ～ 令和7年度	市橋 伯一	東京大学・大学院総合文化研究科・教授	1
F01 公	24H01137 リン酸化／脱リン酸化反応を駆動力とした散逸ハイドロゲルシステムの構築	令和6年度 ～ 令和7年度	仲本 正彦	大阪大学・大学院工学研究科・助教	1
F01 公	24H01147 分子応答系とシグナル増幅系を最適空間配置した超越細胞型センサーのボトムアップ構築	令和6年度 ～ 令和7年度	小川 敦司	愛媛大学・プロテオサイエンスセンター・准教授	1
F01 公	24H01155 超越バイオリアクターとしての均一非脂質ソームシステムの開発	令和6年度 ～ 令和7年度	鈴木 宏明	中央大学・理工学部・教授	1
F01 公	24H01130 天然を超えるmRNAを創出するための分子システム	令和6年度 ～ 令和7年度	吉井 達之	京都大学・iPS細胞研究所・特定助教	1
F01 公	24H01139 異種タンパク質の自在な組合せを可能にするキメラタンパク質複合体のボトムアップ設計	令和6年度 ～ 令和7年度	小林 直也	奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・助教	1
F01 公	24H01154 細胞外電子伝達系をリポソーム上で再現した新規反応キャリアーの構築	令和6年度 ～ 令和7年度	松本 拓也	大阪公立大学・大学院工学研究科・助教	1
F01 公	24H01141 ポリマー相分離液滴による人工ベシクルの出芽誘起と操作技術開発	令和6年度 ～ 令和7年度	森本 展行	島根大学・学術研究院機能強化推進学系・教授	1
F01 公	24H01123 スイッチ機能付抗体ーペプチドー核酸複合体の創製と高感度均一系測定システムへの応用	令和6年度 ～ 令和7年度	朱 博	東京工業大学・科学技術創成研究院・助教	1

F01 公	24H01116 軽油相当のアルカンを大量生産可能な無細胞バイオ燃料生産システムのボトムアップ構築	令和6年度 ～ 令和7年度	新井 宗仁	東京大学・大学院総合文化研究科・教授	1
F01 公	24H01126 巨大リポソームの変形と運動を誘導する人工細胞骨格発生の時空間制御	令和6年度 ～ 令和7年度	東 小百合	岐阜大学・高等研究院・特任助教	1
F01 公	24H01157 フォトメカニカル複合材料に基づく超越分子システムのマクロスケール実動機能	令和6年度 ～ 令和7年度	森本 正和	立教大学・理学部・教授	1
F02 公	24H01162 無細胞分子システムで機能する膜貫通タンパク質モジュールの理論設計	令和6年度 ～ 令和7年度	新津 藍	国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・研究員	1
F02 公	24H01118 数理モデルを用いた分子システム適応度地形のデザイン原理の解明	令和6年度 ～ 令和7年度	姫岡 優介	東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・助教	1
F02 公	24H01117 自然を超える、「新奇」共有結合形成酵素の創成	令和6年度 ～ 令和7年度	坪山 幸太郎	東京大学・生産技術研究所・講師	1
F02 公	24H01153 タンパク質インシリコ分子進化法の開発と応用	令和6年度 ～ 令和7年度	中野 祥吾	静岡県立大学・食品栄養科学部・准教授	1
公募研究 計 25 件					

[1] 公：公募研究

[2] 公募研究は研究代表者が1名で実施

# 研究領域全体に係る事項

## 4 研究領域の目的及び概要

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時の領域計画書を基に、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、どのような点が「これまでの学術の体系や方向を大きく変革・転換させる」ものであるか、研究の学術的背景や領域設定期間終了後に期待される成果等を明確にすること。

### 【研究の学術的背景】

細胞の性質は、部品の性質の足し算として記述できず、部品同士の相互作用が産み出す非線形項が大きな役割を果たしている。このようなシステムは、それぞれの部品を高機能化して、足し合わせるだけでは創り出せない。自然界は、様々な部品や変異の組み合わせを試し、そのうち優れた機能を発現可能なシステムを選択するというダーウィン進化を原動力の一つとし、細胞という高機能分子システムを地球史レベルの長い時間をかけて創り出してきた。

このような細胞をシステムとして理解するために、近年ボトムアップに細胞を創る研究が世界中で勃興してきた(News Feature in *Nature*, 2018 など)。この理学的な分野では、細胞の機能の一部を模倣する分子システムを部品(タンパク質、核酸、脂質、小分子など)から再構成することで、その機能を発現するのに必要十分な条件を明らかにすることを目指している。一方、これらの研究は、主に理学の研究者が中心に発展させてきており、単に細胞の特定の性質を模した分子システムを構築するに留まっており、構築したシステムを応用・社会実装する思考を持つ研究者は少ない。部品の最適な組み合わせ探索(進化)という視点で分子システムを構築する例もほとんどない。

### 【本研究の目的及び全体構想】

本研究領域では、タンパク質、核酸、脂質など生物を構成する部品に加え、有機化合物、高分子、マイクロ・ナノデバイスを組み合わせ、天然の細胞の能力を超える、あるいは天然の細胞が持たない能力を有する超越分子システムをボトムアップに創る(図1)。高機能分子システムは、それぞれの部品を高機能化して、足し合わせるだけでは創り出せない。そこで生物がそうしてきたように様々な構成部品の組み合わせ探索を行う。その際に、計算科学・統計科学など人間の知恵を導入する。これにより、部品同士が有機的に結びつき、高い機能を発現する超越分子システムを構築し、またその方法論を体系化する。飛行機の開発が航空力学を、蒸気機関の開発が熱力学という学問を産んだように、生物を超越した分子システムを創ることで新しい学問領域「分子システムボトムアップ構築学」を確立する。

細胞も広義には、分子システムの一つと考えることができる。本領域では、細胞自体を部品として使うことなく(cell-free=無細胞)、分子・材料からボトムアップに構築した分子システムを「無細胞分子システム」と名付け、天然が創り出した分子システムと区別する。本領域では、応用可能・社会実装可能な無細胞分子システムを構築する。具体的には、4つの出口(測る、調べる、造る、守る)に対応し

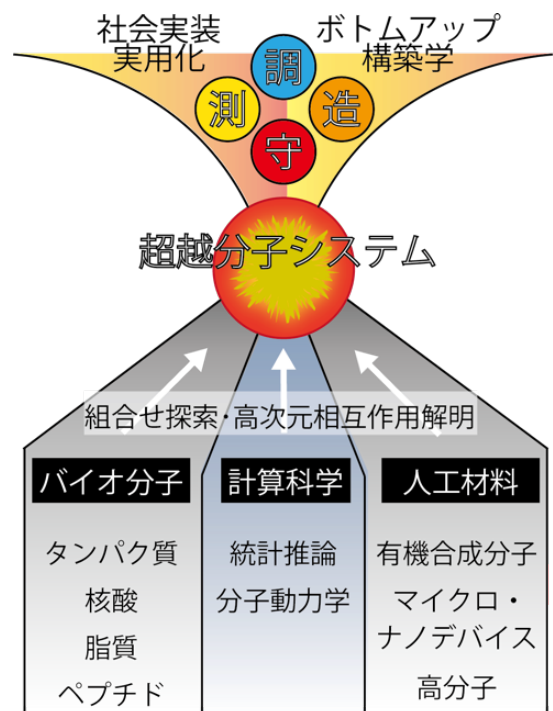


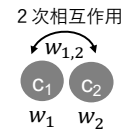
図1: 本研究領域の目指すところ

た分子システムを構築する（図1）。

例えば、SARS-CoV2 など特定の粒子やそれに含まれる分子の検出は重要な課題である。本領域では、酵素・ペプチド・タンパク質・核酸・化合物の高感度検出（測る）を実現する以下の無細胞分子システムの構築を目指す。ウイルスの感染機構やシグナル伝達機構などを調べるために使える無細胞分子システムを構築する。エネルギー化合物である ATP や機能物質であるタンパク質を造る無細胞分子システムの構築を目指す。人類の生活は、ウイルスや温室効果ガスにより大きな影響を受けている。これら社会的な課題に対応できる無細胞分子システムを構築し、人類・地球を守ることを目指す。これら個別の課題を計画班・公募班で共同して達成する。

### 2成分分子システム

$$f = w_0 + w_1 + w_2 + w_{1,2}$$



### n成分分子システム

$$f = w_0 + \sum w_i + \sum w_{i,j} + \dots + \sum w_{1,2,\dots,n}$$

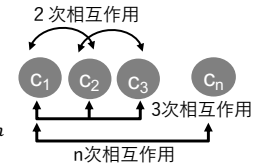


図2：分子システムを構成する成分間の相互作用は、システムの構築を困難にする。成分数が増えるほど高次の相互作用まで存在する。

### これまでの学術の体系や方向を大きく変革・転換させる点

本領域で行う研究で、これまでの学術の体系や方向を大きく変革・転換させる点は、（1）従来のボトムアップ合成生物学と異なり、アプリケーションを意識した無細胞分子システムを構築すること、（2）バイオ分子に留まらず、さまざまな材料を要素とする分子システムを構築すること、（3）分子システムの要素間相互作用を定量することを目指すことにある（図2）。

### 領域設定期間終了後に期待される成果

昨年の初め頃から「エンジニアリングバイオロジー」という研究分野が世界中で言われるようになってきた。この研究分野は合成生物学の原理を用いてアプリケーション・実用化技術を開発する学問分野である。まさに我々の研究領域と趣旨を同じくする。我々は2019年頃に領域の立ち上げる構想を固めたが、世界の潮流が我々に追いついてきたとも言える。本領域研究を通じて、実用化・社会実装に資する分子システムを作るための学理をいち早く確立する事で、領域設定期間終了後、国際的な優位性を担保されることが期待される。

本領域では、実用化・社会実装を目指した無細胞分子システムを構築する。既に特許出願をした研究者も複数いるが、領域研究期間中に特許出願し、領域設定期間終了後は、実用化研究のステージに移行することが期待される。

人的ネットワークの構築は大きな成果の一つである。本領域では、広い分野からの研究者の参画があるため分野を超えた人的なネットワークが構築される。各研究者が参加する学会では決して合わない研究者とのネットワークは、領域研究者のキャリアに重要なものとなると期待される。

## 5 審査結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況

研究領域全体を通じ、審査結果の所見において指摘を受けた事項があった場合には、当該指摘及びその対応状況等について、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。

本研究領域では、細胞そのものを部品として使うことなく、既知の分子・材料からボトムアップに構築した分子システムを無細胞 (cell-free) 分子システムと名付け、生体分子に加え、有機化合物、高分子、マイクロ・ナノデバイスを、計算科学を活用しながら組み合わせ、天然の細胞の能力を超える、あるいは天然の細胞が持たない能力を有する「超越分子システム」を組み立てる。実用化に資する分子システムを構築する際に、様々な構成要素の最適な組み合わせを探索しながら分子システムを構築することで、要素間の相互作用を定量化し、分子システムを創るための新しい学理の創生を目指す。

2021年9月にスタートした本研究領域は、採択時に以下の所見をいただいた。所見のなかで、重要な部分には下線を引いた

### 審査結果の所見・指摘事項

本研究領域は、構成要素間の相互作用の解明と計算科学を活用した分子合成の最適化を共通基盤として、生物を超える無細胞分子システムを創製するためのボトムアップ構築学を確立することを目的とした挑戦的な提案である。従来の合成生物学に、最適な組合せの探索という視点を組み入れた点と、さらに社会実装実現を目指した戦略には新規性が認められる。また、有機化学、電気化学、生物工学、ナノ工学、マイクロデバイス工学、計算科学などの広範な異分野研究者との連携体制、さらに25件という多くの公募研究者の参画が提案されており、本研究領域の裾野を広げ大きな発展を図ろうという強い意欲が感じられる。

一方、単なる生物の模倣を超えた真の超越分子システムや、無細胞分子システムを創製することで初めて得られるインパクトのある材料開発を達成するためには、ボトムアップ構築学の方法論の革新性・普遍性を高め、新しい学理の構築に向けての道筋を明確にして領域内で共有し、本研究領域を運営・推進することが望まれる。また、データ駆動サイエンスやAI活用による要素間相互作用解析と最適化により、従来の思考では見出されないような分子システム創製や機能性材料開発に繋がる可能性もあり、発展が期待できる。

### 指摘への対応等

ボトムアップ構築のための学理の構築に向けた道筋を領域内で共有することが重要であると指摘されている。現在までに無細胞分子システムをボトムアップに構築する学理としては、領域代表の松浦が先行研究で示したものが一例としてある (Matsuura *et al*, *Mol Syst Biol*, 2009)。現在、この理論が、他の無細胞分子システムの構築・最適化にも適用できるかを領域内の共同研究で明らかにすることを目指している。一例を挙げると、B02班の松浦 G・木賀 G と D01 班の油谷 G は共同で、PURE system 及び NTP 合成系を対象分子システムとした研究を実施している。D01 班の油谷 G と本田 G は、酵素反応カスケードによる物質生産の最適化に関する研究を実施している。公募班研究代表者の濱田 G が B02 班と共同で DNA ゲルを構築する際の理論の確立に取り組んでいる。

昨今のベイズ推定、機械学習、AI など (以降、機械学習と用語を統一する) を利用したタンパク質や RNA 分子の設計には目覚ましい発展がある。そこで領域内では、**機械学習を用いた分子システムの構築を目指した研究にも力を入れている。**具体的には、B01 班堀 G、B02 班松浦 G・木賀 G、公募班市橋 G などが、既に機械学習を取り入れて分子システムの構築を目指した研究を進めている。特許などの関係で、まだ公開できないものが多いが、今後の成果が期待される。また機械学習を用いた研究で得られ

たデータから要素間相互作用を推定・算出できると考えており、新しい学理に繋がることを期待される。

加えて、要素間相互作用解析という重要なキーワードを領域内で共有するために「超越分子システムセミナー」を開催している。これにより、「構成要素の組み合わせ探索」、「要素間の相互作用の定量化」というコンセプトの領域内での共有を図っている。更に、所見でもコメントいただいたように、無細胞分子システムの構築・最適化にはAI・統計科学などを含む新たな計算科学が必要となる。これらの分野における国内外のトップ研究者にセミナーをお願いして、領域内研究のレベルアップ、国際化も図っている。

無細胞分子システムを構築する新しい学理の確立を目指し、2022年度には、25名の公募班研究代表者を採択した。これにより、生命科学、有機化学、高分子化学、応用物理、電気化学、計算科学など専門性が多岐にわたる研究者が加わった。公募班代表者10名の入れ替わりがあったが、2024年度には同じく25名の公募班研究代表者を採択した。前期から計算科学を主とするF02班のメンバーが2名から4名に増えたことは、領域の計算科学の部門を強くするのに非常に望ましい結果である。公募班研究代表者は、全体として非常に研究レベルが高く、かつ平均年齢も40代前半とアクティブな若手研究者を中心に採択すること出来た。これらのことから未来に新しい研究領域を創り出すという点においては、成功していると感じている。

一方で、課題も存在する。実験科学と計算科学を専門とする研究者の研究スピード・価値観の溝が埋め切れていない。計算に資するデータ量を取得するには、実験科学者が注意すべきいくつかの点がある。特に、ハイスループットにデータを取得すること、ネガティブデータも取得することの2点がある。データ数を多く取ることが困難な実験系も多い。そこで、分注ロボットなどの導入を図ってデータ数を簡便に増やせることを考えている。実際、B02班木賀Gを中心にデータのハイスループット化に力を入れている。ネガティブデータの取得の重要性もD01班油谷Gを中心に領域内で価値観を共有できるように努めている。

## 6 研究の進展状況及び主な成果（計画班代表者）

（1）及び（2）について、計画研究及びそれと連携している公募研究ごとに、具体的かつ簡潔に記述すること。（一つの計画研究及び連携する公募研究で2頁以内）

（1）領域設定期間内及び中間評価実施時までには何をどこまで明らかにしようとし、中間評価実施時までにはどこまで研究が進展しているのか

（2）各計画研究で得られた成果、及びそれぞれの計画研究と連携している公募研究で得られた成果について、（計画研究・連携する公募研究の順で記載すること。なお、本研究領域内の共同研究等による成果の場合はその旨を明確にすること。）

### A01 班：超高感度バイオマーカー・ウイルス検出を実現する人工細胞センサーのボトムアップ構築

研究代表者：築地真也（名古屋工業大学）、分担者：寺井健太（徳島大学）

ウイルス感染や疾患を早期に検出する技術基盤を構築することは、持続的健康社会の実現に不可欠である。A01 班では、細胞が示すような検知・伝達・増幅機能を持つ超越分子・人工細胞システムをボトムアップ構築するために必要な学理（分子設計、化学原理、最適化戦略）を追求し、社会実装に資する「超高感度人工細胞センサー」を構築する。本研究では、機能性人工合成分子、脂質、タンパク質、蛍光プローブといった異種分子材料を組み合わせることで、バイオマーカーやウイルスを検知してその一分子の情報を数百・数千倍以上の蛍光・発光シグナルに増幅可能な人工細胞センシングシステムを開発する。これにより、血液や唾液などの生体サンプル中に含まれる極微量のバイオマーカー・ウイルスを、高輝度なりポソーム内蛍光・発光シグナルとして可視化・検出することのできる超高感度人工細胞センサーを創出する。さらに本研究では、人工細胞センサーをガラス基板の上にアレイ化することでデジタル診断チップへ応用すると同時に、動物体内のバイオマーカー・ウイルスの *ex vivo/in vivo* 検出・診断への展開を目指す。このような「超高感度人工細胞センサーテクノロジー」のボトムアップ創出に向け、領域設定期間内においては下記の研究を計画し、中間評価実施時までには項目 1 および 2 の課題について成果を上げることを目指して研究を進めてきた。

#### 研究課題

1. ①標的分子の検知、②膜を介した情報伝達、③リポソーム内部でのシグナル増幅、という 3 つの機能を実現し、さらにそれらを連動させるための分子システム設計基盤と化学原理の確立
2. 加水分解酵素を検出する超高感度人工細胞センサーのボトムアップ構築
3. 非酵素型バイオマーカーを検出する超高感度人工細胞センサーのボトムアップ構築
4. 超高感度人工細胞センサーのデジタル計測技術への展開
5. 超高感度人工細胞センサーの体内感染診断技術への展開

#### これまでの進捗状況

課題 1：①標的分子の検知、②膜を介した情報伝達、③リポソーム内部でのシグナル増幅を実現するための分子設計・化学原理として、図 3 に示すような「合成シグナルトランスデューサー」と「タンパク質のリポソーム膜リクルート技術」を融合した人工細胞システムの確立を進めている。まず、その基盤となる脂質連結リガンドの基本設計を開発した

(*Bioconj. Chem.* 2023, *Cell Chem. Biol.* 2022, 特許第 7478412 号)。合成シグナルトランスデューサーは、膜アンカー部位、タグタンパク質に対する小分子リガンド、標的酵素に対する新水性質、の 3 つのパーツからなる合成化合物である。これをリポソーム

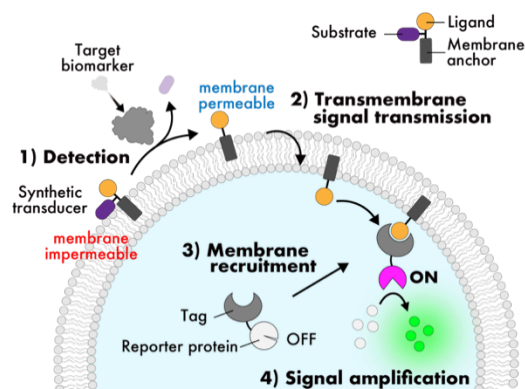


図 3：人工細胞センサーの基本設計

溶液に添加すると、親水的かつ嵩高い基質の存在により化合物は膜を透過できず、リポソーム膜上にアンカリングされた人工細胞となる。リポソーム内部には、シグナル増幅用のレポータータンパク質（リガンド結合蛋白質とのフュージョン）を内包しておく。この状態の人工細胞は、検出対象の酵素によって基質部位が切断され、親水性が低下した人工合成レセプターがリポソーム膜を透過する。これに伴い、リポソーム内のレポータータンパク質が膜へ移行し、それをトリガーとしてシグナル増幅反応を誘発するという原理となっている。現時点までにこの基本原理を実現する合成シグナルトランスデューサーの分子設計と、タンパク質のリポソーム膜リクルート技術、さらに膜リクルートによってシグナル増幅反応を触媒するレポータータンパク質を創製することに成功した。

**課題 2**：課題 1 で確立した要素技術を統合し、加水分解活性を有するバイオマーカーに対する人工細胞センサーの構築を進めた。まず、肝不全バイオマーカーとして知られるアルカリホスファターゼ（ALP）を標的とし、ALP の基質構造を組み込んだ合成シグナルトランスデューサーを開発した（図 4 左）。さらに、シグナル増幅のためのレポータータンパク質として分割型エステラーゼを利用した系を確立した。これらを組み込んだ人工細胞システムは、ALP を検知し、その情報を伝達・増幅する高感度バイオセンサーとして機能することを実証した（図 4 右）。さらに同原理を利用することで、がんマーカーである  $\gamma$ -グルタミルトランスぺプチダーゼ（GGT）や SARS-CoV2 メインプロテアーゼの特異的検出が行えることも確認した（図 5）。これらの成果は、

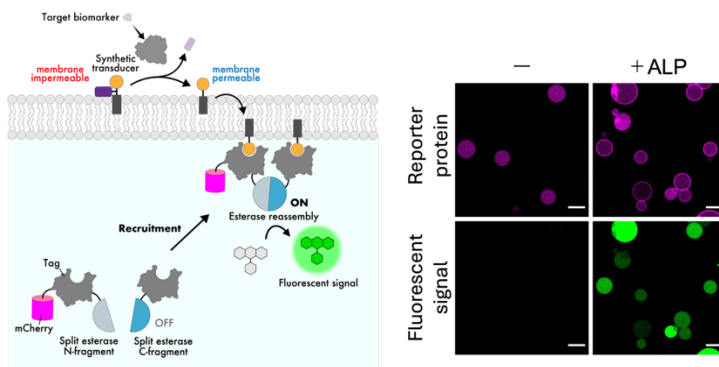


図 4：ALP を検出する人工細胞センサー

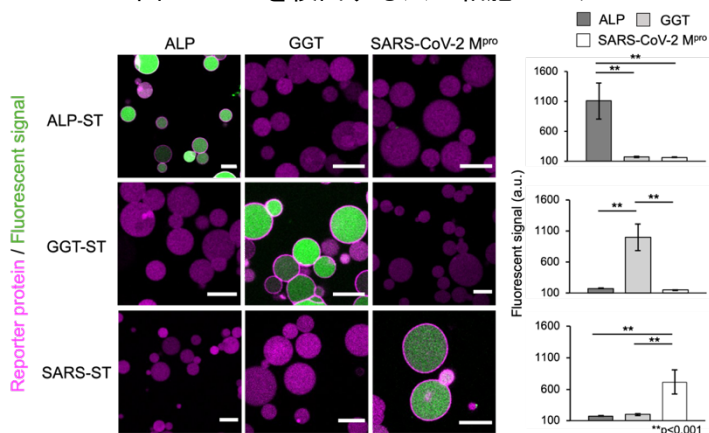


図 5：異なるバイオマーカーに対する人工細胞センサー

標的検知、膜を介した情報伝達、シグナル増幅という多段階分子プロセスが連動して機能する人工細胞システムの先駆的な例であり、現在、論文投稿準備中の段階である。

**課題 3**：人工細胞センサーテクノロジーをさらに発展させるためには、課題 2 で標的とした加水分解酵素だけでなく、加水分解活性を持たないタンパク質、核酸（miRNA など）、ウイルスなどを検知して、その情報を膜内に伝達できる人工細胞システムの原理構築が不可欠である。詳細は割愛するが、現在、その実現に向けた新たな基本原理の確立に着手している。

### 共同研究状況

**B02 松浦班**：上記研究において、細胞サイズリポソームの作成や、PURE システムを用いた人工細胞（リポソーム）内タンパク質発現において共同研究を進めている。

**公募班 新津 G**：課題 3 を進めるにあたり、de novo 設計した人工膜貫通ペプチドを基盤分子ツールとして利用することを検討している。その設計を新津と共同で進めている。

**公募班 小林 G**：人工細胞センサーのシグナル増幅効率をさらに高めるための戦略として、人工細胞（リポソーム）内に人工非膜オルガネラを構築する実験を進めている。人工非膜オルガネラは人工タンパク質の自己集合・相分離を利用して構築することを検討しており、そのための de novo 多量体形成タンパク質の設計を小林と共同で進めている。



**B01 班：完全再構成型ウイルス・細菌様粒子のボトムアップ構築**

計画班員 研究代表者：堀 克敏(名古屋大学)、若林里衣(九州大学)、浦野 諒 (岡山大学)

(1) **検討項目 1) CoV-2-VLP の創出.** 中間報告までに、リポソーム表層をスパイク(S)タンパク質で修飾した VLP の創出を目指した。しかし、S タンパク質のリポソーム構成脂質への非特異的吸着などの問題により、難航している。そこで作製法を変更し、先に S タンパク質と脂質の連結体を造ってからリポソームに挿入する方法に切り替えて条件検討を進めている。**検討項目 2) 実用的な機能性 BLP の創出.** 中間報告までの目標であった分子の局在・方向性の制御については、BLP のサイズで内葉と外葉に異なるタンパク質を配向させることに成功し、論文発表した。さらに、ハイドロゲルを内包した BLP の作製についても成功した。今後、これの耐乾燥性の評価と一緒に酵素を封入して活性の持続性に効果が出るかについて調べる。**検討項目 3) VLP と BLP の比較による理論導出.** 脂質組成と構造、安定性については、従来はマイクロ流路で BLP サイズのリポソームを創ることができなかったが、脂質組成の検討により安定な BLP を作製できるようになった。さらに、実験条件から合成されるリポソームサイズを予測する機械学習ツールの開発に成功し、産学連携で特許出願を果たした。各研究で得られた成果はそれぞれ以下の通りである。

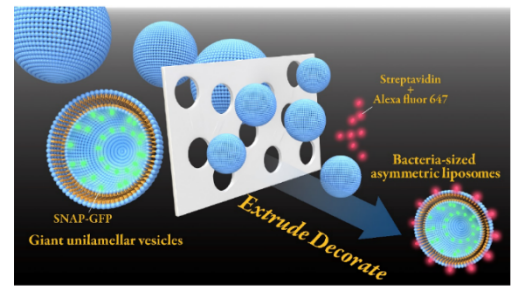


図 6：脂質二重層の内外で異なるタンパク質を局在させた非対称リポソームを簡便に作製する手法を開発した

(2) 堀 克敏(名古屋大学)：機能性 BLP の創出を目指し、まずは界面通過法とエクストルーダー法を組み合わせることで、脂質二重層の内外で異なるタンパク質を局在させた非対称リポソームを簡便に作製する手法を B02 班松浦 G と共同で開発し、論文発表した (図 6) [ACS Synth. Biol., 12,1437-1446 (2023)]。公募班の西山 G とは、セルフリー発現システムを内包した BLP の構築に向けて、膜の安定性を高める成分を含むリポソームの作製検討を共同で進めた。さらに、分子検出を目指して、堀 G が以前から研究対象とし立体構造を決定済みの AtaA の膜貫通ドメインを分子改変し、新規ナノポアを構築した。構築したナノポアがイオン通過能を有することを C01 班川野 G との共同研究で明らかにした。

マイクロ流路を用いたフォローフォーカシング法は、脂質相と水相の流速比を変えることで粒子径の異なるリポソームを合成できるが、数十から 300 nm の範囲に限られていた。多様な脂質組成で合成を行うことにより、バクテリア細胞サイズである 1µm のリポソームまで、幅広い粒子径のリポソームを合成することに成功した。リポソーム形成の理論構築のため、多数の合成条件とそこで得られた粒子径分布を機械学習したところ、合成されるリポソームの粒子径分布を予測でき、また、合成されるリポソームの粒子径に大きく影響する因子を抽出することに成功した。本成果については民間企業と共同で特許を出願 (特願 2024-62574) し、現在論文執筆中である。さらに確立した手法を基に、E01 班の高井 G との共同研究で、ハイドロゲルを内包したバクテリアサイズリポソームを創出することに成功した。

若林里衣 (九州大学)：完全再構成型ウイルス様粒子のボトムアップ構築へ向け、リポソーム上に S タンパク質を再構成するための脂質分子の開発と S タンパク質の修飾反応、リポソームへの挿入評価を行った (図 7)。これまで行ってきた修飾用基質含有リポソームを用いたリポソーム上でのタンパク質修飾反応に対し、S タンパク質を修飾した S タンパク質-脂質コンジュゲート分子を予め調製し、リポソームへの挿入反応を介した再構成法に挑戦した。タ

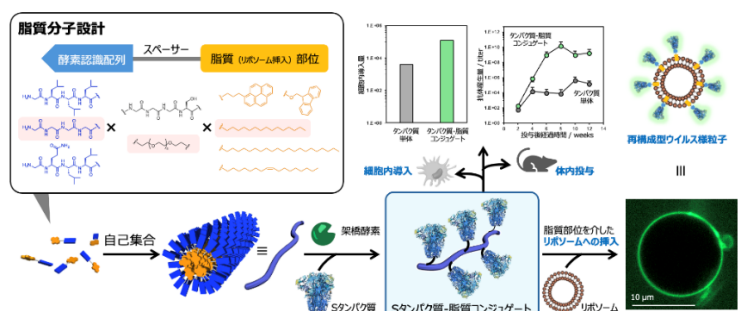


図 7：VLP・BLP の構築に向けた脂質分子の開発。

タンパク質の脂質分子への修飾には、架橋酵素トランスグルタミナーゼおよびソルターゼを用いた部位特異的反応を用いた。脂質分子として酵素認識ペプチド配列、リポソーム挿入脂質部分、およびスペーサーを様々に改変した分子合成を行い評価した。その結果、デザインに応じて脂質分子が自己集合特性を示し、水分散性かつ酵素認識配列を脂質部分と分離できる脂質分子が高いタンパク質修飾能を示した。また、脂質部分はリポソーム挿入反応に大きく影響し、適度な長さの飽和脂肪酸を持つ分子がリポソームに挿入されることを確認し、タンパク質修飾とリポソームへの挿入を可能にする脂質分子の開発に成功している。今後、リポソームに挿入された S タンパク質の挙動、すなわち膜上への滞留性、安定性を評価し、細胞への導入経路を明らかにすることでワクチン開発へ繋げる。

脂質分子が水中で自己集合し形成される構造体は、リポソームとは異なる形状や性質を持つことから、それ自体のタンパク質キャリアとしての応用も可能である。実際に、脂質分子集合体との相互作用によりタンパク質の集積化が可能であること [Chem. Commun., 59, 414 (2023)]、酵素反応により修飾したタンパク質-脂質コンジュゲート分子集合体が、培養細胞に対してタンパク質の細胞内導入効率を著しく高めること [Drug Delivery System, 38, 80 (2023)] を確認した。このコンジュゲート体をマウスへ投与すると、修飾したタンパク質に特異的な抗体産生が認められ、ワクチン応用可能な分子システムの構築が可能であることが示された。

浦野 諒 (岡山大学) : 計算科学によるアプローチにより SARS-CoV-2 (CoV2) 粒子系におけるウイルス粒子構造の分子間の相互作用の構造形成と構造安定化への寄与を調べ、VLP 粒子生成に必要な構造因子の探索を行なっている。これまでに、M タンパク質含有の平面膜構造のシミュレーションとバイセル構造から球状ベシクル構造形成のシミュレーションを実施した。CoV2 のエンベロープ膜中には POPC, POPE, POPI, POPS, コレステロール といった複数の脂質分子が異なる割合で含まれており、M タンパク質と相互作用する脂質が重要な影響を持つという仮説をもとに脂質と M タンパク質の相互作用の詳細も調べた。POPC 以外の脂質成分を含む系では、M タンパク質が膜の垂直方向に正しく配置されることが確認されたが、POPC のみの系では、M タンパク質が膜の内外に逆向きに配置される構造のみが形成された。このことから、M タンパク質含有膜の適切な配置には、POPC 以外の脂質成分が重要であることが示唆された。さらに、全 M タンパク質近傍に存在する脂質の個数を数え各種類の総数に対する比率を比較したところ、POPS 脂質の比率が最も高いことがわかった。特に、POPS 脂質の比率は平面膜よりも球状膜において上昇しており、球状構造において POPS の重要性が高いことが示唆された。

公募班 石川 聖人 (長浜バイオ大) 「人工細胞バイオフィルムのボトムアップ構築」: 本来は生きた微生物の集合体であるバイオフィルムを人工細胞から構成された分子システムとしてボトムアップ構築することを目指している。集合する人工細胞としての BLP 作製方法、及び BLP の評価方法について共同研究を実施した。BLP を集合させるために抗 Akt3 ナノボディと Akt3 の N 末端部を SNAP タグに融合した組換えタンパク質を構築した (図 8A)。タンパク質濃度を検討することにより、ベンジルグアニン (BG) 脂質を含有する BLP を特異性高く修飾することができた。これらを混ぜ合わせると抗原抗体反応によりリポソーム同士が結合するはずであり、共焦点レーザー顕微鏡で観察したところ天然バイオフィルムのような大きな集合体を形成している

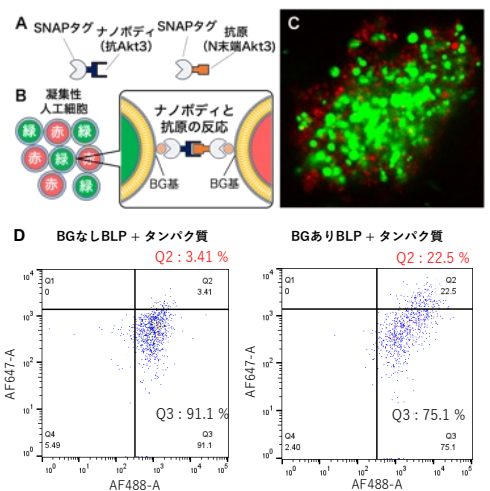


図 8 : 人工細胞バイオフィルムの構築

ことが確認できた (図 8B,C)。また、フローサイトメトリーによる BLP 集合体の定量的評価系が確立できたことから (図 8D)、より高密度で集合させるために必要な BLP の量や性質、組換えタンパク質の提示量の組み合わせがこれから明らかになる。

## B02 班：天然で起こりえない進化を実現する無細胞分子システムのボトムアップ構築

研究代表者：松浦友亮（東京工業大学）、分担者：三浦夏子（大阪公立大学）、木賀大介（早稲田大学）

進化分子工学は、実験室内でダーウィン進化を模倣し、変異導入と選択を繰り返すことで、望みの機能を持つ分子を創り出す方法である。これまでに大腸菌、酵母、ファージなどを用い様々な分子が進化工学により創り出されてきた。本研究では、細胞には不可能な進化を実現する新たな無細胞分子システムをボトムアップに構築し、これを用いて社会実装に資する分子・分子システムを創生することを目指す。それぞれの分子システムを構築するためバイオ分子に加え計算科学及び人工材料を用いる。システムの構築に当たっては様々な配列、変異、材料の組み合わせ探索を行うことで、無細胞分子システムのボトムアップ構築に関する指針を明らかにする。加えて、他の計画班・公募班メンバーと共同で新たな無細胞分子システムを創り出す。具体的には、領域設定期間内に以下を達成する。

- ① 創薬ターゲットである受容体膜タンパク質の実験室進化を可能とする分子システムを構築し、創薬研究に資する膜タンパク質変異体を導出する。（代表者松浦 G）
- ② 人工コドン表を持つ無細胞タンパク質合成系を用いて実験室進化を可能とする分子システムを構築し、実用化に資する酸化耐性酵素を導出する。（分担者木賀 G）
- ③ 無細胞タンパク質合成系を用いた人工酵素集合体の酵素活性の実験室進化を可能とする分子システムを構築し、産業上重要なキラル化合物の高効率生産系を導出する。（分担者三浦 G）
- ④ 公募班との共同研究により新規無細胞分子システムの構築を構築する。

中間評価実施時までには、①に関しては、創薬ターゲット膜タンパク質の一つである G タンパク質共役受容体の無細胞タンパク質合成系を用いた合成とスクリーニング技術の確立を目指し、これを達成した（Nakai *et al.*, *Anal Chem*, 2022）（図 9A,B）。本研究では、耐熱化 GPCR の取得を目指している。その際のライブラリー作製方法としては、千葉大の村田らが開発したエントロピー計算に基づく方法を用いる。そこで、GPCR の一つであるセロトニンレセプターを用いたライブラリーを先の計算方法で調製した。さらに予備実験として大腸菌で耐熱性進化が可能であることを示した（Sugaya *et al.*, *Protein Sci*, 2022）。加えて、アデノシン A2a 受容体、エンドセリン受容体 type B の変異体ライブラリーも変異導入箇所を計算科学により特定し、遺伝子ライブラリーを作製、その多様性を NGS で確認した（図 9C）。

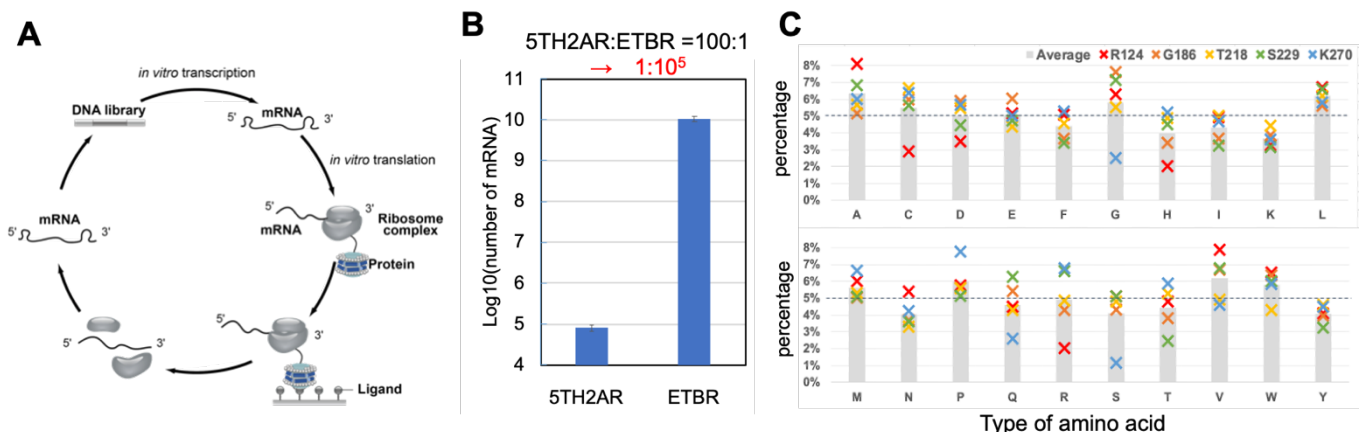


図 9： A) GPCR の in vitro 進化分子工学の概略図。B) 模擬ライブラリーを用いた濃縮実験の結果、目的の遺伝子が  $10^7$  倍濃縮された。C) 計算機で飽和変異を導入すべき箇所を 5 残基特定し、ライブラリーを作製し、NGS で目的とする場所に 20 アミノ酸がほぼ均等に導入されたライブラリーが構築できたことを確認した。

②に関しては、中間評価までには、松浦 G と共同で酸化アミノ酸を除いた無細胞タンパク質合成系を構築することを目指し、これを達成した。領域設定期間内には、これを用いた進化実験を実施することで

酸化耐性タンパク質を創り出す。

③に関しては、中間評価時までには、ペプチドタグを用いた人工酵素集合体の酵素反応効率化における効果を検証する方法を開発し、特許出願した（特願 2024-076521, Utsumi et al. Plos ONE, 2023）（図 10）。また、松浦 G で協力し、キラル化合物合成酵素である GDH、RrQR それぞれを無細胞合成系で生産し、小スケールで活性測定を行える系を構築した。これにより、酵素集合体の実験室進化・スクリーニングをハイスループットに実施できる実験基盤を確立した。また、種々のタグを付加した GDH、RrQR について、公募班岸村 G（九大）と連携して、溶液条件下で効率的に酵素集合体を形成する手法を検討し、RrQR について効果的に集合体を形成できる条件を確立した。また、公募班吉川 G（阪大）とはレーザーを用いた酵素集合体の形成により、集合・離散による酵素機能の調節機構を解析するための実験手法を検討している。公募班藤原 G（慶応大）とは、無細胞合成系を人工小胞内に封入し、酵素集合体の局在を観察・判別するための手法開発に向けた検討を進めている。

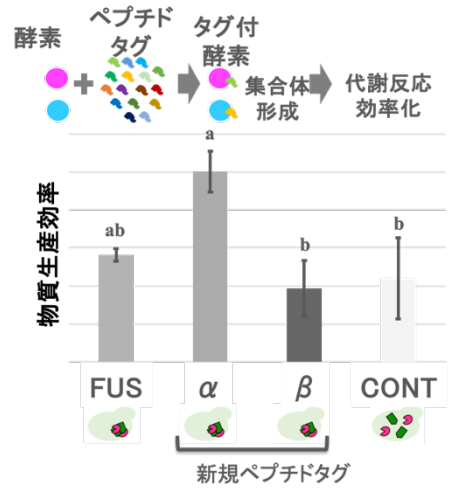


図 10：物質生産の効率化に有用なペプチドタグの評価。新規ペプチドタグは既存のタグよりも物質生産に有利に働くことを明らかにした

④に関しては、松浦 G は新規にポリリン酸キナーゼ 2 (PPK2) という酵素を用いた核酸生産する分子システムを構築した（2023 年度特許出願、特願 2023-182220）（図 11）。領域設定期間内に、本分子システムの最適化を B02 班分担者の木賀 G、D01 班油谷 G と進め社会実装可能なものとする。また相互作用解析により構築原理に迫る。公募班吉川 G とは、レーザーを用いた生体分子の濃縮と超越機能化を行っており、中間評価時点で、低分子・バイオ分子の光集積に必要な条件を世界で初めて明らかにした。公募班姫岡 G とは、ePURE システムのパラメーターアップデートと適応度地形の探索を行っており、中間評価までに PURE system の適応度地形に関する知見を得ることができたので、論文執筆を近日中に開始予定である。公募班西山 G とは、PURE system を用いた機能的膜タンパク質合成システムの開発に取り組んでおり、中間評価までに 4 回膜貫通タンパク質 EmrE のフォールディングに西山らが発見した膜タンパク質をフォールディングするシャペロン分子が与える影響を定量的に明らかにした。公募班早水グループとは、グラフェン固定化膜タンパク質を用いたバイオセンシングの開発を、公募班岸村グループとは、人工生体分子凝縮体を用いた無細胞タンパク質合成系のマイクロカプセル化を進めており、領域設定期間内に論文化を目指す。公募班市橋 G とは、アミノ酸種を限定した複製酵素の人工進化を、公募班朱 G とは、エマルジョンを活用し、アミノ酸種を限定したタンパク質人工進化系の改良を進めている。以上のように中間評価時点でまでに領域として目指していた、多くの異分野研究者同士の共同研究を開始することに成功し、成果が得られつつある。

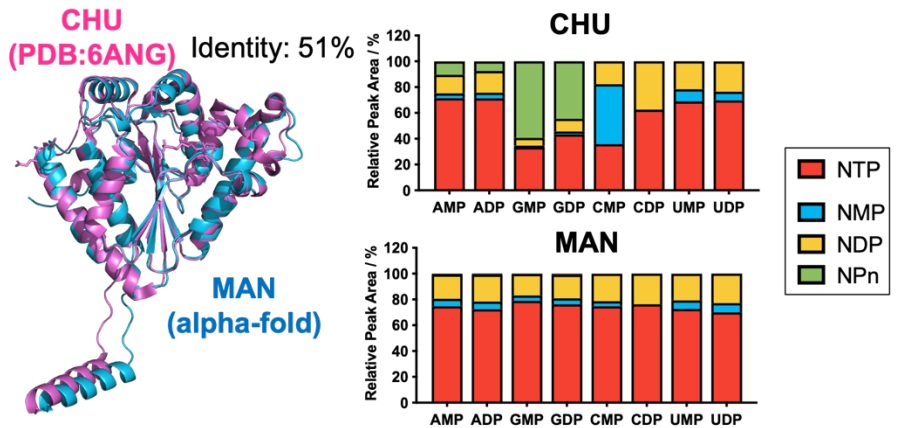


図 11：既報の *Cytophaga hutchinsonii* 由来の PPK2 (CHU) と松浦 G で発見した *Mangrovibacterium marinum* 由来 (MAN) の構造及び活性比較。MAN は、報告されている PPK2 の中でも最も NTP 合成活性が高い。

## C01 班 : De novo 細胞膜分子システムのボトムアップ構築

代表者：川野竜司（東京農工大学）、分担者：川村出（横浜国立大学）

C01 班では、脂質二分子膜や脂質膜中で機能する膜分子をボトムアップ的に設計（*de novo* 設計）する。例えば両親媒性の合成高分子やペプチドを利用した、天然には存在しない二分子膜中を構築し、その人工のイオンチャネル、膜輸送体、ナノポアを合成する。これらを用い標的分子を検出可能なナノポア計測や、脂質膜内外の物質輸送を制御可能な膜輸送システムを開発する。また、これら構築した膜分子-合成二分子膜を分子同士で作るシステムとみなし、「進化工学」と「組み合わせ探索」による複数の分子で構成された分子システムの最適化のための学理を構築する。そのために具体的には、設計可能な両親媒性分子による人工二分子膜の構築、ナノサイズの孔を持つナノポア分子、または物質輸送機能を持つ膜輸送体分子の設計を行う。それらの分子を二分子膜に埋め込み、脂質膜やステロールなどの複数の分子種を含めてシステム化した *de novo* 細胞膜分子システムをボトムアップに構築することを目指す。これを実現するため、下記の研究を実施している。

1. タンパク質・ペプチドの一次構造の *de novo* 設計と最適化
2. 合成高分子・両親媒性分子の人工設計による *de novo* 細胞膜の構築と反応場としての利用
3. 無細胞発現系と進化工学的を組み合わせたペプチドの脂質膜中での構造形成と機能化
4. マイクロ微細加工技術と電気化学計測を駆使した脂質二分子膜による電気生理的評価

これらの課題を推進することで、天然にはない新しい細胞膜システムでの物質輸送機能の向上の実現を目指す。また、マイクロ流体デバイスを用いて、このような細胞膜分子システムを大量に生産する技術に取り組むとともに、リン脂質膜系に埋め込まれたナノポア分子などの構造・相互作用について固体 NMR 分光法を用いて解析を行う。このような研究により、*de novo* 細胞膜システムに含まれる分子において具体的にどのような相互作用が鍵となって、機能向上に結びついているのかを理解し、独創的な分子システムの構築を実現したい。

また、このような研究を基盤として、機能性人工分子、無細胞合成、生物工学、進化工学などを専門とする領域内研究者との共同研究により新たな超越分子システムの構築も行い、新規なタンパク質同定法、細胞サイズで仕事を行う分子ロボットの開発を行うことで実社会に資する技術を構築する。

計画研究として、昨年度までに複数の成果を報告することができた。代表的なものに関して成果を具体的に述べる。我々は、 $\beta$  シート構造を持つペプチドが脂質膜とどのような分子間相互作用をするのかに着目して研究を行った。具体的にはアルツハイマー病

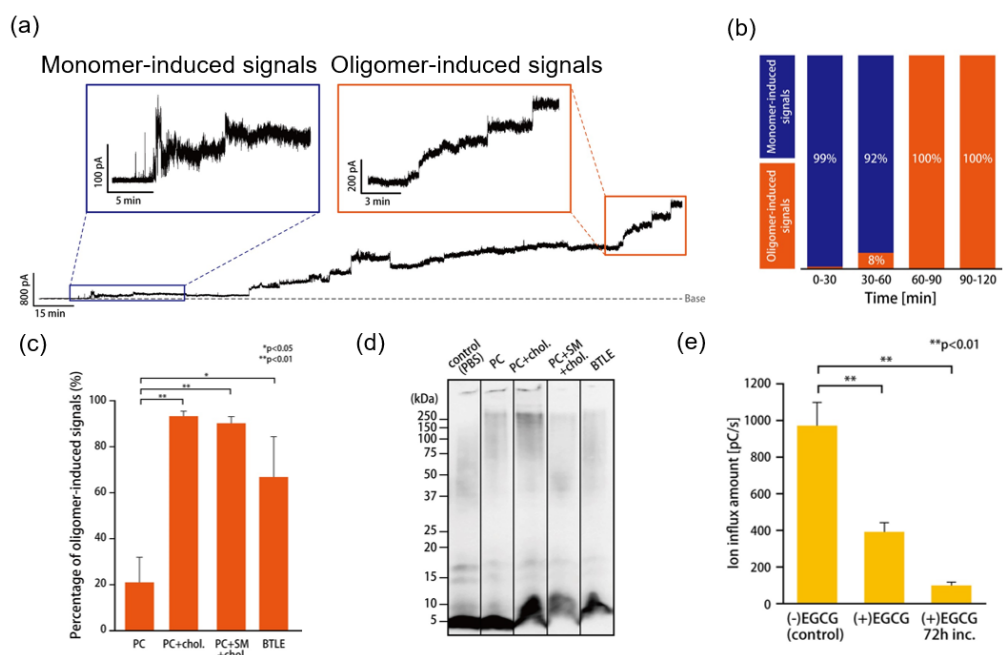


図 12 : A $\beta$  モノマーの人工細胞膜中でオリゴマー化観察結果

の原因物質であるアミロイド  $\beta$  ( $A\beta$ ) が脂質膜中で毒性を持つ構造に変化する過程をリアルタイムで観察した。 $A\beta$  は単量体のモノマーから始まり、次第に重合してオリゴマーという中間体を形成する。この研究では、 $A\beta$  が脂質膜中でどのようにモノマーからオリゴマーへと変化し、細胞膜に対してどのように毒性を発揮するかに着目した。このオリゴマーが神経細胞膜に孔を形成し、細胞の機能を破壊することが知られている。しかし、これまで  $A\beta$  が膜中でモノマーからオリゴマーへと凝集する詳細な過程は明らかにされていなかった。そこで我々は、マイクロデバイスを用いたチャンネル電流計測法により、 $A\beta$  モノマーが人工細胞膜中でオリゴマー化し、チャンネルを形成する様子をリアルタイムで観察することに成功した (図 12a, 12b)。この観察により、 $A\beta$  が脂質膜中でどのように相互作用し、毒性構造を形成するかを詳細に捉えることができた。特に、膜中のコレステロールが  $A\beta$  のチャンネル形成を促進する役割を果たすことを発見した (図 12c, 12d)。これにより、コレステロールが  $A\beta$  の毒性発現に重要な因子であることが示唆された。さらに、緑茶に含まれるカテキンの一種であるエピガロカテキンガレート (EGCG) が、 $A\beta$  のチャンネル形成を阻害することを確認した (図 12e)。EGCG が  $A\beta$  の凝集を抑制し、細胞膜への毒性影響を軽減する可能性が示された (*PNAS Nexus* 2024)。この発見は、アルツハイマー病の予防や治療に向けた新たなアプローチの開発に貢献するものであり、今後の社会実装も期待できる。

川村 G では、多様化する微生物型ロドプシンのレチナル結合ポケットの一次構造の変化に対するレチナルの  $^{15}\text{N}$  等方化学シフト及び化学シフト異方性とロドプシンの色(極大吸収波長  $\lambda_{\text{max}}$ )の相関を固体 NMR 分光法によって明らかにした (図 13, *Biophys. Chem.* 2023, *Magn. Reson. Lett.* 2024)。これはタンパク質中のたった一つの原子の化学シフトを利用した電子環境の評価が可能であることを示し、光吸収機構の理解をさらに深め、今後のロドプシンの人工配列設計に生かせるものである。

また複数の公募研究と人工細胞膜に関わる相互作用についての共同研究を推進している。具体的には下記に箇条書きで示す。

佐藤 G (九工大) と DNA 分子を設計したオリガミナノポアを構築し、二分子膜中に埋め込み一分子計測を試みている。

浜田 G (東工大) とはリポソーム内で DNA の分子反応を利用し、次世代の DNA ストレージを開発している。

阿部 G (東北大) と電子伝導性膜分子を脂質二分子膜に埋め込み、膜の内外での電子移動を評価している

小林 G (奈良先端大) とは脂質膜中に任意のサイズのナノポアを形成するたんぱく質を *de novo* 設計により構築している。

小宮 G (海洋研究開発機構) とは DNA 等温分子増幅反応を開発し、等温でがん腫瘍由来 RNA からアンチセンス DNA 薬剤を合成する研究を進めている

新津 G (理研) とは脂質膜中にナノポアを形成する  $\alpha$  ヘリックス構造の膜ペプチドの設計と動力学シミュレーションに関する共同研究を推進している。

長尾 G (九州大) と  $^{13}\text{C}$  標識グルコースポリマーを利用した分子認識ハイドロゲルの構築と特性評価を試みている。

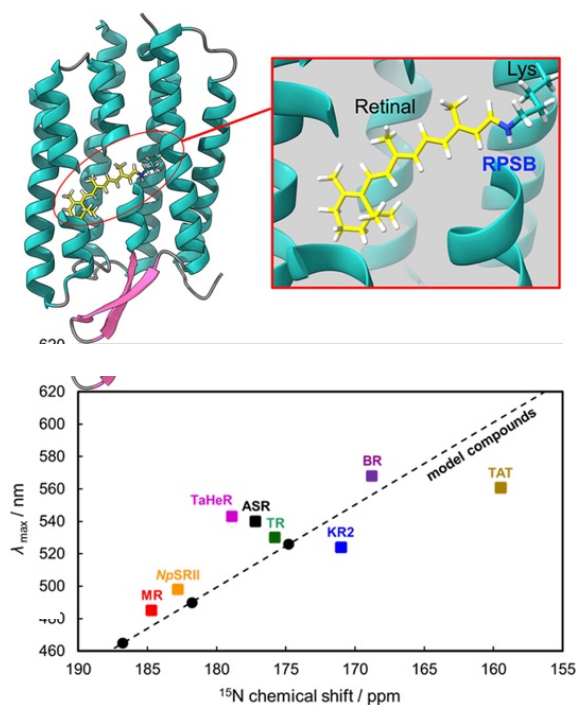


図 13: 微生物型ロドプシンのレチナル結合部位の構造および  $^{15}\text{N}$  化学シフト/ $\lambda_{\text{max}}$  プロット

## D01 班：計算科学にもとづく「最適」無細胞分子システムのボトムアップ構築

代表者：油谷幸代（産業技術総合研究所） 分担者：白井智量（理化学研究所） 本田孝祐（大阪大学）

D01 班では、無細胞システムの構成要素や制御関係をモデリングによって最適化し、質的・量的に最適化された超越分子システム構築の基盤技術開発を目的とし、B02 班松浦 G や E01 班高井 G と共に下記 3 項目を実施している。

### 1. 加齢臭の原因となるノネナール検出システムの開発

本研究では、*trans*-2-ノネナール還元酵素の活性・耐熱性の向上について、機械学習を用いた効率的な機能付与のための基盤技術開発を行うことを目的とした（図 14）。まず、*trans*-2-ノネナールを還元できる酵素のスクリーニングを行った。アルコールデヒドロゲナーゼに分類される酵素データベースから *trans*-2-ノネナールと同じ炭素鎖数の化合物を認識できるものを選択し、テンプレート酵素としての候補を得た。また、ハイスループットスクリーニング系を構築し、NADH または NADPH の 340 nm での吸光度変化の測定による酸化反応を定量することにより、候補酵素の目的基質に対する比活性を評価した。結果、出芽酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）由来のアルコールデヒドロゲナーゼの一つである YADHI が *trans*-2-ノネナール還元活性を有することを見出し、以降の検出システム開発のための候補酵素とした。また、このスクリーニングの結果、YADHI は補酵素として NADPH よりも NADH の選択性が高いことがわかった。酵素活性向上を目指したインシリコドッキングのために、分子モデリングシミュレーションソフトウェアの一つであり、オープンソースである AutoDock (<https://autodock.scripps.edu/>) を用いた。YADHI および *trans*-2-ノネナールとの立体構造情報から、YADHI の変異導入部位の絞り込みを行い、実際の検証実験としてアラニン置換によって有効な変異部位の選択を行った。構築した酵素活性評価系を用いて、機械学習の学習データ用に計 91 個の YADHI 変異体の活性を評価した。さらに、野生型 YADHI の反応速度論解析から、YADHI の劇的な活性向上を見込めない可能性を想定し、並行して計 101 個の YADHI 変異体の耐熱性の測定も行った。これにより、活性および耐熱性が向上した YADHI 変異体がそれぞれ 10 個見出された。このうち、YADHI-Y119F は野生型 YADHI の 1.2 倍の活性と野生型 YADHI より 1°C 高い耐熱性を有していた。

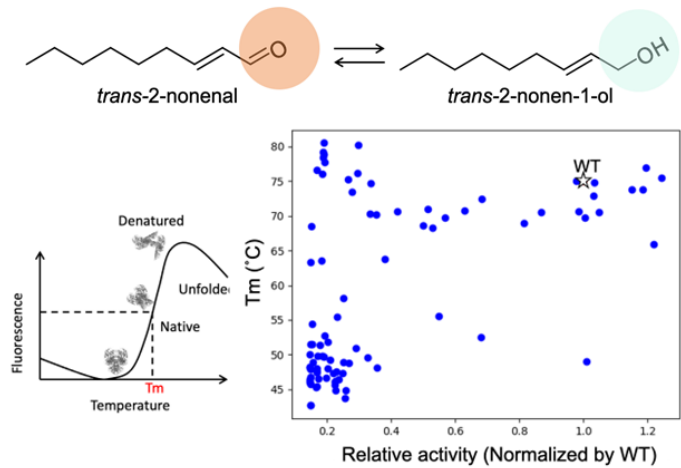


図 14：*trans*-2-ノネナール還元酵素（YADHI）の機械学習を用いた酵素活性向上と耐熱性付与の結果。

結果、出芽酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）由来のアルコールデヒドロゲナーゼの一つである YADHI が *trans*-2-ノネナール還元活性を有することを見出し、以降の検出システム開発のための候補酵素とした。また、このスクリーニングの結果、YADHI は補酵素として NADPH よりも NADH の選択性が高いことがわかった。酵素活性向上を目指したインシリコドッキングのために、分子モデリングシミュレーションソフトウェアの一つであり、オープンソースである AutoDock (<https://autodock.scripps.edu/>) を用いた。YADHI および *trans*-2-ノネナールとの立体構造情報から、YADHI の変異導入部位の絞り込みを行い、実際の検証実験としてアラニン置換によって有効な変異部位の選択を行った。構築した酵素活性評価系を用いて、機械学習の学習データ用に計 91 個の YADHI 変異体の活性を評価した。さらに、野生型 YADHI の反応速度論解析から、YADHI の劇的な活性向上を見込めない可能性を想定し、並行して計 101 個の YADHI 変異体の耐熱性の測定も行った。これにより、活性および耐熱性が向上した YADHI 変異体がそれぞれ 10 個見出された。このうち、YADHI-Y119F は野生型 YADHI の 1.2 倍の活性と野生型 YADHI より 1°C 高い耐熱性を有していた。

### 2. 天然を超える ATP 合成能を有した人工解糖系の構築

熱精製した組換え耐熱性酵素 12 種類を組み合わせ、天然の解糖系を上回る ATP 再生能の非酸化的解糖経路（Non-oxidative glycolysis, NOG）を構築し、これを ATP 再生のための分子システムとして利用した（図 15a）。本システム構築は、実験計画法による酵素量比の最適化計算を実施し、これに基づいた組換え酵素遺伝子の発現量制御を行った。グリセロールのリン酸化をモデルとした実証試験では 0.1 mM ADP を含む反応液中で 35 mM のグリセロール 3 リン酸の生産が確認された。

次に、NOG にさらに複数の酵素をアドオンし、種々の物質生産に拡大適用した。アデニン、デンブリン酸を基質とした ATP 生産システム（図 15b）で 2 mM のアデニンをモル収率 100% で ATP へと変換できることを示した。一方、アデニン濃度が 2 mM を超える場合、生産収率の低下が見られ、最適化試験の結果、これは NOG の構成酵素のひとつであるフルクトースビスリン酸アルドラーゼ（FBA）が、

高濃度の ATP により阻害を受けていることが原因であることが明らかとなった。今後、領域内共同研究によるタンパク質構造解析により、FBA に対する ATP の作用部位を同定し、変異導入による阻害解除を行う。また UDP-グルコースホスホリラーゼなどの 4 酵素を NOG に追加した UDP-グルコース再生システムを構築した (図 15c)。本システムは、グルコース転移酵素を入れ替えるだけで、様々なグリコシドの生産に利用可能である。グルコース転移酵素のモデルとしてトレハロース合成酵素では、現在までに 50 mM のグルコースから収率 28% でトレハロースを生産することができた。また、領域内公募班の加藤 G とキチンを担体とした組換えタンパク質精製タグ開発を実施した。今後は、新たな分子システムの構築と計算科学に基づく最適化試験を継続するとともに、B01 班・若林、B02 班・三浦らが開発する自己会合ペプチドやタンパク質集合タグを用いた酵素分子群の近接化と生産反応の速度向上を図る。また、システム構成分子間の相互作用の定量化に取り組む。

### 3. 因果推定モデルによるシステム構造推定と最適化手法の開発

無細胞システムの最適化にむけて、本研究では、実データが取得される前に論文で公開されているセルフリースシステムのデータを活用し、因果推定モデルによる最適化手法の開発を行った (図 16)。データは、2020 年に Nature Communications で発表された“Large scale active-learning-guided exploration for in vitro protein production optimization”の 12 変数×1017 サンプルの数値データを利用した。11 個の原因変数の濃度バランスによる 1 個の結果変数の最大化バランスを導出するため、第一に共分散構造分析による 12 変数の因果モデルを推定した。推定したモデルの適合度は、8 種の判定指標において高スコアであり、データを十分に反映していた。次に推定したモデル構造を元に、実データ同様に 4 段階の濃度レベルを組み合わせた全探索シミュレーション (4,194,304 通り) を実施した。その結果、論文上で結果変数最大化を実現すると思われていた 11 変数の組合せより、論文上では実施されていないがより結果変数値を高くする可能性のある 11 変数の組合せを発見した。この結果は実験的に実証が不可ということだが、本手法を今後獲得されるデータに適用することで手法の検証を実施する予定である。

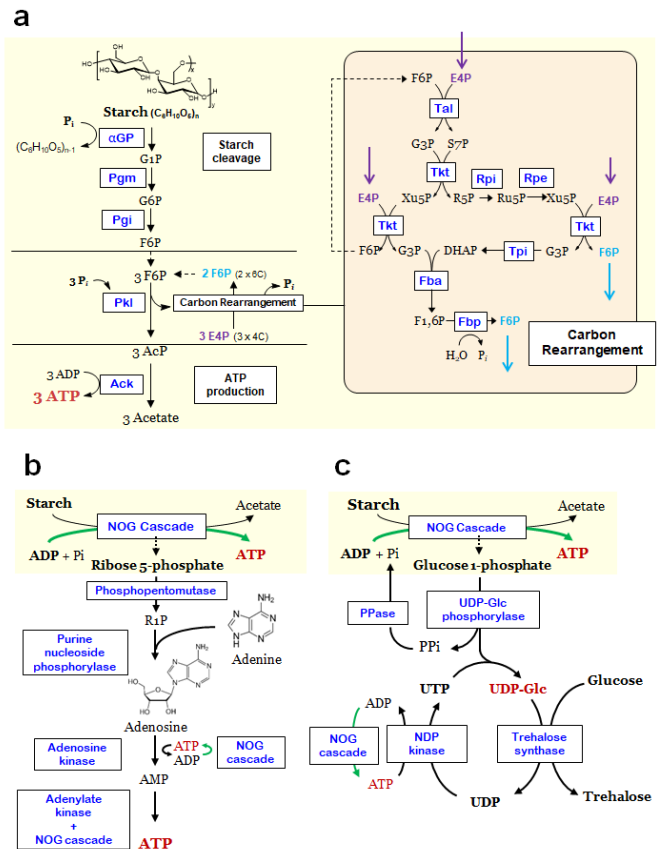
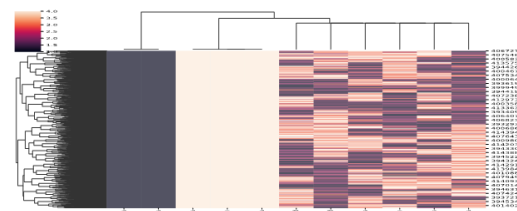


図 15: 本研究で構築した分子システム。NOG システム (a)、アデニンからの ATP 生産システム (b)、UDP-グルコース再生システム (c)。

a. 最終Yieldの最大値におけるクラスターマップ



b. Yieldの最大値の組み合わせ

sim_num	nucleo_mix	aa	spermidin	pga	trna	comp	k_gluta	mfg_gluta	scoa	nad	folnic_acid	yield
4097821	4	4	2	1	3	2	4	3	1	4	2	4.4382
4130574	4	4	4	1	1	2	4	1	1	4	3	4.4382
4130566	4	4	4	1	1	2	4	1	1	2	3	4.4382
4130567	4	4	4	1	1	2	4	1	1	2	4	4.4382
4130568	4	4	4	1	1	2	4	1	1	3	1	4.4382
...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
4132418	4	4	4	1	1	4	4	1	1	3	3	4.4382
4132419	4	4	4	1	1	4	4	1	1	3	4	4.4382
4004697	4	4	2	1	1	4	4	2	1	2	4	4.4382
4132420	4	4	4	1	1	4	4	1	1	4	1	4.4382
4132421	4	4	4	1	1	4	4	1	1	4	2	4.4382

nucleo\_mix=4 ^ aa=4 ^ k\_gluta=4 ^ pga=1 ^ scoa=1 ⇒ yield=4.4382

図 16: 本研究で実施した全探索シミュレーションの結果。



## E01 班：ナノ流体デバイスで創るナノゲルファイバー酵素分子システムのボトムアップ構築

研究代表者：許岩（大阪公立大学）、分担者：高井まどか（東京大学）

E01 班では、ナノ流体デバイスのナノ空間において、人工材料であるハイドロゲルとバイオ分子である酵素の相互作用を様々なパラメーターを組み合わせることで探索する。さらに計算科学を駆使し、酵素活性を最大限に引き出す。これにより、ナノスケールでの酵素活用法を見出し、超越分子システムを創製するプロセスの学理を構築する。従来の酵素の実用範囲を遥かに凌駕する超越酵素反応システムを実現し、人類と地球を守る技術の開発を目指す。

中間評価実施時まで、超越分子システムのボトムアップ構築に向けた高分子ハイドロゲル材料学基盤の開発と、1分子酵素反応動力学解析ツールの構築を目指した。これまでに、E01 班では上記の本研究提案を実現するための2つの技術基盤を開発、構築した。この2つの技術基盤を用いて、ナノゲル-酵素分子システムにおける酵素反応動力学を1粒子レベルで計測することを可能とした。

また、酵素を電気化学バイオセンサの分子認識素子として用いるため D01 班（白井グループ）と共同で、分子認識部位とセンサ電極への固定化部位をデザインした酵素を開発した。さらに、B01 班（堀グループ）との共同研究により、ナノサイズのハイドロゲル粒子をリポソームで被覆する合成に成功した。加えて、公募班の阪大・仲本グループと連携し、構築した1分子反応動力学解析ツールを用いて、高分子自己集合体間のクリック反応のダイナミクスの解明に展開した。公募班の九州大・長尾グループとも連携して、糖鎖高分子の分子認識挙動を QCM-D を用いて解明した。

### 1. 超越分子システムのボトムアップ構築に向けた高分子材料学基盤の開発

本研究提案を実現するために、サイズが制御されたナノサイズのリン脂質ポリマー（MPC ポリマー：PMS）ハイドロゲル粒子の作製が必要である。そこで、高分子の分子鎖を短く、さらに鎖長を均一にするために、可逆的な付加-開裂連鎖移動（RAFT）重合を用い、また、ポリマー合成時に混合溶媒を用いることで、30nm から 100nm 程度のナノサイズの PMS ハイドロゲル（以下、ナノゲル）の作製に成功した。また、このナノゲルへの酵素の固定化、酵素反応を解析するための電子メディエーターの固定化にも成功した。

さらに、100~400nm のナノゲルの作製に成功し、その内部に酵素を包括する技術を確認した（図 17）。ナノゲル内に閉じ込められた  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -gal) の酵素活性の評価を行ったところ、酵素とポリマーの架橋構造により、酵素活性に違いが認められた（図 17）。酵素とポリマーの距離が近いほど、活性は低下し、距離が遠いほど活

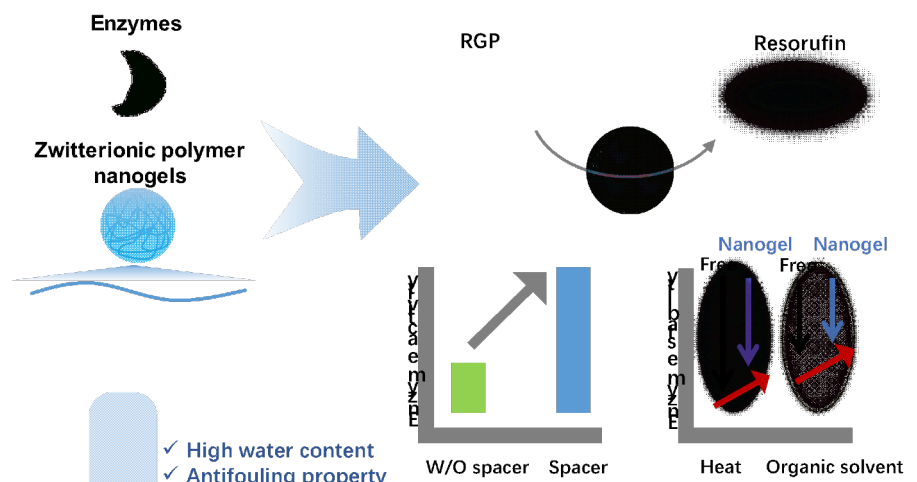


図 17: ナノサイズのリン脂質ポリマー（MPC ポリマー：PMS）ハイドロゲル粒子の材料学基盤の開発と評価

性が保持された。また、いずれの構造の酵素が内包されたナノゲルにおいても、フリーの酵素と比較して耐熱性、耐有機溶媒性に優れることが示された（図 17）。関連成果の一部は RSC Advances 誌（RSC Advances, 2024, 14, 18807-18814）に発表した。

### 2. 超越分子システムのボトムアップ構築のための1分子酵素反応動力学解析ツールの構築

本研究提案の 1 分子酵素反応動力学を解明するためには、酵素反応生成物の 1 分子イメージングが必要である。そこで、1 分子酵素反応動力学の解析ツールとして、ナノ流体デバイスに融合できる全反射照明蛍光顕微鏡 (TIRF) 系を構築し、その性能を評価した。具体的には、汎用の蛍光色素を用いてナノ流体デバイス内で 1 分子蛍光の計測を行い、その動的な変化を解析することで、ナノ流体デバイス-TIRF 系の 1 分子計測性能を評価した。これにより、1 分子酵素反応動力学の解明に必要な検出・イメージングツールの構築を完成した。

同時に、酵素内包ナノゲルの操作に適合した Nano-in-Nano 構造を有するナノ流体デバイスを開発した。サイズが制御可能な酵素内包ナノゲルの調製技術が確立されるまで、ナノゲルに近いリポソームなどの生体材料のナノ物質に着目した。最初に、サイズが均一なナノリポソームの調製に取り組み、その調整条件を明らかにした。そして、ナノリポソームを用いて、単一粒子操作に適したナノ流体デバイス構造を開発し、評価した。さらにこのナノ流体デバイス構造をナノゲルの操作に適用し、最適化した。

### 3. ナノゲル-酵素分子システムにおける酵素反応動力学の計測手法の構築

ナノ流体デバイスにおける酵素内包ナノゲル内の酵素反応を単一粒子レベルで計測する手法を開発した。具体的には、酵素内包ナノゲルをナノ流路内で操作、配列するためのナノ流体プロセスを開発した。また、ナノ流路に配列した単一の酵素内包ナノゲルにおいて酵素反応を引き起こすためのナノ流体プロセスを開発した。さらに、引き起こした酵素反応を追跡・計測するためのイメージング手法を開発した。これらのプロセスと手法を用いて、ナノゲル-酵素分子システムにおける酵素反応を 1 粒子レベルで計測することを可能とし、酵素反応の動力学モデルの仮説を提案し実証した。

### 4. D01 班との共同研究

D01 班の白井グループでは、計算科学を用いて酵素-基質反応の最適化を設計できる。本研究では膜タンパク質の酵素を電気化学センサーに用いるための設計さらにタンパク質合成を行った。種々の変異を入れた酵素を合成し、活性を高める設計概念を得ることができた。

### 5. B01 班との共同研究

E01 班で用いているナノゲルは細胞膜を構成するリン脂質の極性基であるホスホリルコリン(PC)基を一成分にもつ。PC 基は水との親和性が高いため、ゲルは高含水率を示す。この性質を利用し、リポソームの水層をハイドロゲルとしたリポソーム被覆ゲルを、マイクロ流路を利用して合成する手法論を開発した。

### 6. 公募班阪大・仲本グループとの共同研究

仲本グループは、阻害剤をコアとしたポリマー自己集合体と疎水相互作用を架橋とした自己集合体を開発してきた。これらの集合体間でクリック反応が起こると、集合体が崩壊し、がん細胞膜上の酵素認識能が活性化される。しかし、クリック反応の詳細解明は難しく、効率的利用には課題がある。そこで、1 分子反応動力学解析ツールを使い、クリック反応による構造変化の詳細の解明に取り組んでいる。

### 7. 公募班九州大・長尾グループとの共同研究

長尾グループは、細胞膜を模倣した糖鎖ポリマーの合成とそのポリマーに対する分子認識能について研究をしている。この研究の中で、合成した糖鎖ポリマーの分子認識能を、QCM-D センサを利用して解析する共同研究 (図 18) を行なった (*J. Mater. Chem. B*, 2024, 14, 18807-18814)。

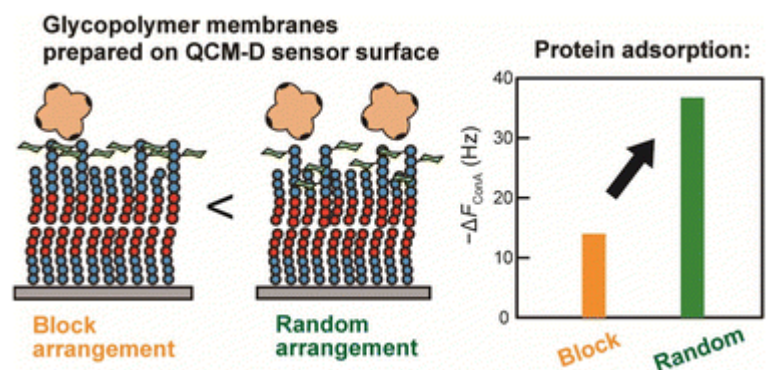


図 18 : 細胞膜を模倣した糖鎖ポリマーに対する分子認

## 7 研究発表の状況

研究項目ごとに計画研究・公募研究の順で、本研究領域により得られた研究成果の発表の状況（主な雑誌論文、学会発表、書籍、産業財産権、主催シンポジウム等の状況。令和6年6月末までに掲載等が確定しているものに限る。）について、具体的かつ簡潔に5頁以内で記述すること。なお、雑誌論文の記述に当たっては、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究代表者（発表当時、以下同様。）には二重下線、研究分担者には一重下線、corresponding author には左に\*印を付すこと。

計画研究（本領域発足以降、計画班から109報の論文を発表している）

### A01 築地班（分担：寺井）

- M. Ajiki, M. Yoshikawa, T. Miyazaki, A. Kawasaki, K. Aoki, \*F. Nakatsu, \*S. Tsukiji, ORP9-PH domain-based fluorescent reporters for visualizing phosphatidylinositol 4-phosphate dynamics in living cells, **RSC Chem. Biol.**, 2024, 5, 544–555.
- S. Suzuki, M. Yoshikawa, S. Sawada, N. K. Devaraj, \*S. Tsukiji, Miniaturized synthetic palmitoylation motifs for small-molecule localization in living cells, **Bioconjugate Chem.**, 2023, 34, 169–173. 国際共同研究
- S. Suzuki, A. Nakamura, Y. Hatano, M. Yoshikawa, T. Yoshii, S. Sawada, K. Atsuta-Tsunoda, K. Aoki, \*S. Tsukiji, A chemogenetic platform for controlling plasma membrane signaling and synthetic signal oscillation, **Cell Chem. Biol.**, 2022, 29, 1446–1464.
- T. Tanaka, Y. Konishi, H. Ichise, S. Tsukiji, M. Matsuda, \*K. Terai, A dual promoter system to monitor IFN- $\gamma$  signaling in vivo at single-cell resolution, **Cell Struct. Funct.**, 2021, 46, 103–111.
- M. Yoshikawa, \*S. Tsukiji, Modularly built synthetic membraneless organelles enabling targeted protein sequestration and release, **Biochemistry**, 2021, 60, 3273–3276.
- 築地真也, 吉井達之, 中村彰伸, 沖超二, 鈴木祥央, 生田雅裕, 「細胞膜又はゴルジ体に局在する化合物及其の使用」, 特許第7478412号
- ゴルジ体蛍光染色試薬「GolgiSeeing」販売開始（フナコシ：2023年9月1日）
- タンパク質の細胞膜局在移行誘導試薬「SLIPT-PM」販売開始（フナコシ：2022年7月14日）

### B01 堀班（分担：若林・浦野）

- S. Yoshimoto, S. Ishii, A. Kawashiri, T. Matsushita, D. Linke, S. Gottig, VAJ. Kempf, M. Takai, and \*K. Hori, Adhesion preference of the sticky bacterium *Acinetobacter* sp. Tol 5, **Front. Bioeng. Biotechnol.**, 2024, 12, 1342418. 領域内共同研究および国際共著論文
- \*M. Ishikawa, \*K. Hori, The elimination of two restriction enzyme genes allows for electroporation-based transformation and CRISPR-Cas9-based base editing in the non-competent Gram-negative bacterium *Acinetobacter* sp. Tol 5, **Appl. Environ. Microbiol.**, 2024, 90, e00400–24. 公募班石川 G との共同研究
- S. Takahashi, \*K. Hori, Long-term continuous degradation of carbon nanotubes by a bacteria-driven Fenton reaction, **Front. Microbiol.**, 2023, 14, 1298323.
- K. Noba, S. Yoshimoto, Y. Tanaka, T. Matsuura, \*K. Hori, Simple method for the creation of a bacteria-sized unilamellar liposome with different proteins localized to the respective sides of the membrane, **ACS Synth. Biol.**, 2023, 12, 1437–1446. 領域内共同研究
- Y.-Y. Chen, M. Ishikawa, \*K. Hori, A novel inverse membrane bioreactor for efficient bioconversion from methane gas to liquid methanol using a microbial gas-phase reaction, **Biotechnol. Biofuels**, 2023, 16, 16. 公募班石川 G との共同研究
- H. Obayashi, \*R. Wakabayashi, N. Kamiya, M. Goto, Supramolecular localization in liquid–liquid phase separation and protein recruitment in confined droplets, **Chem. Commun.**, 2023, 59, 414–417.
- \*K. Hori, S. Yoshimoto, T. Yoshino, T. Zako, G. Hirao, S. Fujita, C. Nakamura, A. Yamagishi, N. Kamiya, Recent advances in research on biointerfaces: From cell surfaces to artificial interfaces, **J. Biosci. Bioeng.**, 2022, 133, 195.

### B02 松浦班（分担：三浦・木賀）

- Y. Ishii, \*K. Fukunaga, A. Cooney, Y. Yokobayashi, \*T. Matsuura, Switchable and orthogonal gene expression control inside artificial cells by synthetic riboswitches, **Chem. Commun.**, 2024, 60, 5972–5975.
- N. Noda, K. Nomura, N. Takahashi, F. Hashiya, H. Abe, \*Tomoaki Matsuura, Slow freeze-thaw cycles enhanced hybridization of kilobase DNA with long complementary sticky ends, **ChemSystemsChem**, 2024, in press.
- R. Ushiyama, S. Nanjo, M. Tsugane, R. Sato, T. Matsuura, \*H. Suzuki, identifying conditions for protein synthesis inside giant vesicles using microfluidics toward standardized artificial cell production, **ACS Synth. Biol.**, 2024, 13, 68–76. 公募班鈴木 G との共同研究
- Z. Peng, S. Iwabuchi, K. Izumi, S. Takiguchi, M. Yamaji, S. Fujita, H. Suzuki, F. Kambara, G. Fukasawa, A. Cooney, \*L. D. Michele, \*Y. Elani, \*T. Matsuura, \*R. Kawano, Lipid vesicle-based molecular robots, **Lab Chip**, 2024, 24, 996–1029. 領域内共同執筆および国際共著論文
- H. Nakai, K. Isshiki, M. Hattori, H. Maehira, T. Yamaguchi, K. Masuda, Y. Shimizu, T. Watanabe, T. Hohsaka, W.

- Shihoya, O. Nureki, Y. Kato, H. Watanabe, \*T. Matsuura, Cell-free synthesis of human endothelin receptors and its application to ribosome display, **Anal. Chem.**, 2022, 94, 3831–3839.
- R. Utsumi, Y. Murata, S. Ito-Harashima, M. Akai, \*N. Miura, K. Kuroda, M. Ueda, M. Kataoka, Foci-forming regions of pyruvate kinase and enolase at the molecular surface incorporate proteins into yeast cytoplasmic metabolic enzymes transiently assembling (META) bodies, **PLOS ONE**, 2023, 18, e0283002.
  - A. Uyeda, S. G. Reyes, T. Kanamori, \*T. Matsuura, Identification of conditions for efficient cell-sized liposome preparation using commercially available reconstituted in vitro transcription-translation system, **J. Biosci. Bioeng.**, 2022, 133, 181–186.
  - 松浦友亮, 「ヌクレオシド三リン酸の製造方法」, 特願 2023-182220
- C01 川野班 (分担: 川村)**
- K. Izumi, J. Ji, K. Koiwai, \*R. Kawano, Long-term stable liposome modified by PEG-lipid in natural seawater, **ACS Omega**, 2024, 9, 10958–10966.
  - Y. Numaguchi, K. Tsukakoshi, N. Takeuchi, Y. Suzuki, K. Ikebukuro, \*R. Kawano, Real-time monitoring of the amyloid  $\beta_{1-42}$  monomer-to-oligomer channel transition using a lipid bilayer system, **PNAS Nexus**, 2024, 3, pgad437.
  - \*I. Kawamura, R. Kawano, T. Matsuura, Bottom-up creation of cell-free molecular systems: Basic research toward social implementation, **Biophys. Physicobiol.**, 2023, 20, e200042. 領域内共同研究
  - S. Takiguchi, F. Kambara, M. Tani, T. Sugiura, \*R. Kawano, Simultaneous recognition of over- and under-expressed MicroRNAs using nanopore decoding, **Anal. Chem.**, 2023, 95, 14675–14685.
  - A. Tada, N. Takeuchi, \*K. Shoji, \*R. Kawano, Nanopore filter: a method for counting and extracting single DNA molecules using a biological nanopore, **Anal. Chem.**, 2023, 95, 9805–9812.
  - S. Fujita, I. Kawamura, \*R. Kawano, Cell-free expression of de novo designed peptides that form  $\beta$ -barrel nanopores, **ACS Nano**, 2023, 17, 4, 3358–3367.
  - N. Takeuchi, M. Hiratani, \*R. Kawano, Pattern recognition of microRNA expression in body fluids using nanopore decoding at subfemtomolar concentrations, **JACS Au**, 2022, 2, 1829–1838.
  - K. Shimizu, B. Mijiddorj, M. Usami, I. Mizoguchi, S. Yoshida, S. Akayama, Y. Hamada, A. Ohyama, K. Usui, I. Kawamura, \*R. Kawano, De novo design of a nanopore for single molecule detection that incorporates a  $\beta$ -hairpin peptide, **Nature Nanotechnol.**, 2022, 17, 67–75.
- D01 油谷班 (分担: 白井・本田)**
- N. Vikromvarasiri, S. Noda, \*T. Shirai, A. Kondo, Investigation of two metabolic engineering approaches for (R,R)-2,3-butanediol production from glycerol in *Bacillus subtilis*, **J. Biol. Eng.**, 2023, 17, 3.
  - I. F. Ma'ruf, E. Restiawaty, S. F. Syihab, K. Honda, \*Akhmaloka, Characterization of thermostable serine hydroxymethyltransferase for  $\beta$ -hydroxy amino acids synthesis, **Amino Acids**, 2022, 55, 75–88.
  - G. S. Alim, K. Okano, \*K. Honda, One-step preparation of cell-free ATP regeneration module based on non-oxidative glycolysis using thermophilic enzymes. **ChemBioChem**, 2022, e202200210.
  - \*T. Shirai, A. Kondo, In silico design strategies for the production of target chemical compounds using iterative single-level linear programming problems, **Biomolecules**, 2022, 12, 620.
- E01 許班 (分担: 高井)**
- Y. Wang, H. Murakami, T. Kasama, S. Mitsuzawa, S. Shinkawa, \*R. Miyake, \*M. Takai, An automatic immunomicrofluidic system integrating electrospun polystyrene microfibrillar reactors for rapid detection of salivary cortisol, **iScience**, 2023, 26, 107820.
  - J. Yang, H. Kamai, \*Y. Xu, Nanofluidic aptamer nanoarray to enable stochastic capture of single proteins at normal concentrations, **Small**, 2023, 2301013.
  - H. Kawagishi, S. Funano, Y. Tanaka, \*Y. Xu, Flexible glass-based hybrid nanofluidic device to enable the active regulation of single-molecule flows, **Nano Lett.**, 2023, 23, 2210–2218.
  - N. Chantipmanee, \*Y. Xu, Nanofluidics for chemical and biological dynamics in solution at the single molecular level, **Trends Anal. Chem.**, 2023, 158, 116877.
  - F.-Y. Chou, S. Hara, K. Uchida, Y. Matsuo, T. Masuda, R. Yokoi, T. Ono, M. Anraku, T. Isoyama, \*M. Takai, Functionalized silicone elastomer via alkaline solution to coat phosphorylcholine-based copolymer containing organosilane to improve hemocompatibility for medical devices, **Front. Mater.**, 2022, 9, 877755.
  - S. Seetasang, \*Y. Xu, Recent progress and perspectives in applications of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine polymers in biodevices at small scales, **J. Mater. Chem. B**, 2022, 10, 2323–2337.
  - S. Fukuda, \*Y. Xu, A biomimetic anti-biofouling coating in nanofluidic channels, **J. Mater. Chem. B**, 2022, 10, 2481–2489.
  - T. Masuda, \*M. Takai, Design of biointerfaces composed of soft materials using controlled radical polymerization, **J. Mater. Chem. B**, 2022, 10, 1473–1485.
  - Z. Afzali, T. Matsushita, A. Kogure, T. Masuda, T. Azuma, K. Kushiro, T. Kasama, R. Miyake, \*M. Takai, Cell adhesion and migration on thickness gradient bilayer polymer brush surfaces: effects of properties of polymeric materials of the underlayer, **ACS Appl. Mater. Interfaces**, 2022, 14, 2605–2617.

- T. Zhao, T. Masuda, \*M. Takai, pH-responsive water-soluble polymer carriers for cell-selective metabolic sialylation labeling, **Anal. Chem.**, 2021, 93, 15420–15429.
- H. Kawagishi, S. Kawamata, \*Y. Xu, Fabrication of nanoscale gas–liquid interfaces in hydrophilic/hydrophobic nanopatterned nanofluidic channels, **Nano Lett.**, 2021, 21, 10555–10561.
- 高井まどか, 株式会社 Gel Coat Biomaterials を起業
- 許岩, 「粒子捕捉装置及び粒子捕捉方法」, 特許第 7104988 号 (登録日: 2022 年 7 月 13 日)

公募研究 (本領域発足以降、第一期公募班から 137 報の論文を発表している)

#### 菊川班

- Y. Sato, T. Hashimoto, K. Kato, A. Okamura, K. Hasegawa, T. Shinone, Y. Tanaka, Y. Tanaka, T. Tsukazaki, T. Tsukamoto, M. Demura, M. Yao, \*T. Kikukawa, Multistep conformational changes leading to the gate opening of light-driven sodium pump rhodopsin, **J. Biol. Chem.**, 2023, 299, 105393.
- Y. Doi, J. Watanabe, R. Nii, T. Tsukamoto, M. Demura, Y. Sudo, \*T. Kikukawa, Mutations conferring SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> pumping ability on the cyanobacterial anion pump rhodopsin and the resultant unique features of the mutant, **Sci. Rep.**, 2022, 12, 16422.

#### 西山班

- R. Hikage, Y. Tadika, H. Asanuma, Y. Han, \*K. Nishiyama, MucA is a small peptide encoded by an overlapping sequence with *cdsA* that upregulates the biosynthesis of glycolipid MPIase in the cold, **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 2024, 721, 150148.
- R. Hikage, Y. Sekiya, K. Sawasato, \*K. Nishiyama, CdsA, a CDP-diacylglycerol synthase involved in phospholipid and glycolipid MPIase biosynthesis, possesses multiple initiation codons, **Genes Cells**, 2024, 29, 347–355.

#### 内田班

- K. Iio, K. Hashimoto, Y. Nagumo, M. Amezawa, T. Hasegawa, N. Yamamoto, N. Kutsumura, K. Takeuchi, Y. Ishikawa, H. Yamamoto, A. Tokuda, T. Sato, Y. Uchida, A. Inoue, R. Tanimura, M. Yanagisawa, \*H. Nagase, \*Tsuayoshi Saitoh, Design and synthesis of orexin 1 receptor-selective agonists, **J. Med. Chem.**, 2023, 66, 5453–5464.
- \*Y. Sakurai, H. Watanabe, K. Nishio, K. Hashimoto, A. Harada, M. Gomi, M. Suzuki, R. Oyama, T. Handa, R. Sato, H. Takeuchi, R. Taira, K. Tezuka, K. Tange, Y. Nakai, \*H. Akita, \*Y. Uchida, pH-responsive lipid nanoparticles achieve efficient mRNA transfection in brain capillary endothelial cells, **Pharmaceutics**, 2022, 14, 1560.

#### 佐藤班

- \*Y. Sato, Artificial molecular systems for complex functions based on DNA nanotechnology and cell-sized lipid vesicles, **ChemSystemsChem**, 2024, in press.
- \*Y. Sato, \*M. Takinoue, Sequence-dependent fusion dynamics and physical properties of DNA droplets, **Nanoscale Adv.**, 2023, 5, 1919–1925.
- S. Iwabuchi, \*S. M. Nomura, \*Y. Sato, Surfactant-assisted purification of hydrophobic DNA nanostructures, **ChemBioChem**, 2023, 24, e202200568.

#### 浜田班

- R. J. Archer, S. Hamada, R. Shimizu, \*S. M. Nomura, Scalable synthesis of planar macroscopic lipid-based multi-compartment structures, **Langmuir**, 2023, 39, 4863–4871.
- 東工大発ベンチャー「株式会社ダッシュマテリアルズ」認定 (2023 年 6 月 29 日)

#### 阿部班

- \*H. Abe, T. Ina, H. Kaji, M. Nishizawa, Mussel-inspired interfacial ultrathin films for cellular adhesion on the wrinkled surfaces of hydrophobic fluids, **Polym. J.**, 2023, 55, 1231–1236.
- 阿部博弥, 「複合体及びその製造方法、複合体を含む触媒、液状組成物又は電極、並びに電極を有する燃料電池又は金属空気電池」, 特願 2022-188470

#### 市橋班

- S. Sugii, K. Hagino, R. Mizuuchi, \*N. Ichihashi, Cell-free expression of RuBisCO for ATP production in the synthetic cells, **Synth. Biol.**, 2023, 8, ysad016.
- K. Seo, \*N. Ichihashi, Investigation of compatibility between DNA replication, transcription, and translation for in vitro central dogma, **ACS Synth. Biol.**, 2023, 12, 1813–1822.
- K. Hagino, \*N. Ichihashi, In vitro transcription/translation-coupled DNA replication through partial regeneration of 20 aminoacyl-tRNA synthetases, **ACS Synth. Biol.**, 2023, 12, 1252–1263.

#### 姫岡班

- Y. T. Nakamura, Y. Himeoka, N. Saito, \*C. Furusawa, Evolution of hierarchy and irreversibility in theoretical cell differentiation model, **PNAS Nexus**, 2024, 3, pgad454.
- \*Y. Himeoka, \*N. Mitarai, Emergence of growth and dormancy from a kinetic model of the Escherichia coli central carbon metabolism, **Phys. Rev. Res.**, 2022, 043223.
- 畠山哲央, 姫岡優介, システム生物学入門, 講談社, ISBN: 4065334349.

#### 早水班

- W. Luo, C. Homma, \*Y. Hayamizu, Rational design and self-assembly of histidine-rich peptides on a graphite surface, **Langmuir**, 2023, 39, 7057–7062.
- H. Noguchi, Y. Nakamura, S. Tezuka, T. Seki\*, K. Yatsu, T. Narimatsu, Y. Nakata, \*Y. Hayamizu, Self-assembled GA-repeated peptides as a biomolecular scaffold for biosensing with MoS<sub>2</sub> electrochemical transistors, **ACS Appl. Mater. Interfaces**, 2023, 15, 14058–14066.

#### 石川班

- \*M. Ishikawa, \*K. Hori, The elimination of two restriction enzyme genes allows for electroporation-based transformation and CRISPR-Cas9-based base editing in the non-competent Gram-negative bacterium *Acinetobacter sp. Tol 5*, **Appl. Environ. Microbiol.**, 2024, 90, e00400–24. **B01 班堀との共同研究**
- M. Ishikawa, H. Nakatani, \*K. Hori, Growth phase-dependent production of the adhesive nanofiber protein AtaA in *Acinetobacter sp. Tol 5*, **J. Biosci. Bioeng.**, 2023, 135, 224–231. **B01 班堀との共同研究**

#### 出羽班

- \*T. Dewa, K. Kimoto, G. Kasagi, H. Harada, A. Sumino, M. Kondo, Functional coupling of biohybrid photosynthetic antennae and reaction center complexes: Quantitative comparison with native antennae, **J. Phys. Chem. B**, 2023, 127, 10315–10325.
- Y. Yoneda, T. Noji, N. Mizutani, D. Kato, M. Kondo, H. Miyasaka, \*Y. Nagasawa, \*T. Dewa, Energy transfer dynamics and the mechanism of biohybrid photosynthetic antenna complexes chemically linked with artificial chromophores, **Phys. Chem. Chem. Phys.**, 2022, 24, 24714–24726.

#### 上杉班

- \*A. Perron, S. Mandal, T. N. Chuba, D. Mao, V. P. Singh, N. Noda, R. Tan, H. T. Vu, M. Abo, \*M. Uesugi, Small-molecule drug repurposing for counteracting phototoxic A2E aggregation, **ACS Chem. Biol.**, 2023, 18, 2170–2175.
- K. Toh, K. Nishio, R. Nakagawa, S. Egoshi, M. Abo, A. Perron, S. Sato, N. Okumura, N. Koizumi, K. Dodo, M. Sodeoka, \*M. Uesugi, Chemoproteomic identification of blue-light-damaged proteins, **J. Am. Chem. Soc.**, 2022, 144, 20171–20176.

#### 中田班

- S. Zhang, E. Nakata, P. Lin, \*T. Morii, An artificial liposome compartment with size exclusion molecular transport, **Chem. Eur. J.**, 2023, 29, e202302093.
- H. Hirose, E. Nakata, Z. Zhang, Y. Shibano, M. Maekawa, \*T. Morii, \*Shiroh Futaki, Macropinoscope: Real-time simultaneous tracking of pH and cathepsin B activity in individual macropinosomes, **Anal. Chem.**, 2023, 95, 11410–11419.

#### 加藤班

- \*S. Kato, K. Takeuchi, M. Iwaki, K. Miyazaki, K. Honda, \*T. Hayashi, Chitin- and streptavidin-mediated affinity purification systems: a screening platform for enzyme discovery, **Angew. Chem. Int. Ed.**, 2023, 62, e202303764. **D01 班本田との共同研究**
- S. Kato, \*A. Onoda, U. Schwaneberg, \*T. Hayashi, Evolutionary engineering of a Cp\*Rh(III) complex-linked artificial metalloenzyme with a chimeric  $\beta$ -barrel protein scaffold, **J. Am. Chem. Soc.**, 2023, 145, 8285–8290.

#### 仲本班

- Y. K. Hong, \*M. Nakamoto, \*M. Matsusaki, Engineering metabolic cycle-inspired hydrogels with enzyme-fueled programmable transient volume changes, **J. Mater. Chem. B**, 2023, 11, 8136–8141.
- Y. Koba, \*M. Nakamoto, \*M. Matsusaki, Fabrication of a polymeric inhibitor of proximal metabolic enzymes in hypoxia for synergistic inhibition of cancer cell proliferation, survival, and migration, **ACS Appl. Mater. Interfaces**, 2022, 14, 51790–51797.

#### 吉川班

- H. Takahashi, Y. Yoshimura, R. Murai, R. Kawamura, M. Maruyama, M. Yoshimura, Y. Mori, \*H. Y. Yoshikawa, Spatiotemporal control of polymorphic phase transition of glycine crystals by three-dimensional femtosecond laser ablation processing, **J. Phys. Chem. Lett.**, 2024, 15, 180–186.
- H. Takahashi, M. Shiraiwa, V. K. Mag-usara, R. Dai, V. Agulto, K. Kato, M. Nakajima, M. Yamaji, S. Nakabayashi, M. Maruyama, Y. Mori, M. Yoshimura, \*H. Y. Yoshikawa, Production of single crystalline seeds of organic nonlinear optical materials via laser ablation, **J. Phys. Chem. C**, 2023, 127, 14005–14012.

#### 蓑島班

- M. Minoshima, S. I. Reja, R. Hashimoto, K. Iijima, \*K. Kikuchi, Hybrid small-molecule/protein fluorescent probes, **Chem. Rev.**, 2024, 124, 6198–6270.
- R. Hashimoto, M. Minoshima, \*K. Kikuchi, Rational design of hydroxylated thiazole orange photocages for green light-triggered DNA recombination, **ChemBioChem**, 2024, 25, e202300799.
- 蓑島維文, 「タンパク質を蛍光標識する手法」, 特願 2023-34762

#### 小林班

- K. Sakuma, N. Kobayashi, T. Sugiki, T. Nagashima, T. Fujiwara, K. Suzuki, N. Kobayashi, T. Murata, T. Kosugi, R. Tatsumi-Koga, \*N. Koga, Design of complicated all- $\alpha$  protein structures, **Nat. Struct. Mol. Biol.**, 2024, 31, 275–282.

- T. Sakai, T. Mashima, N. Kobayashi, H. Ogata, L. Duan, R. Fujiki, K. Hengphasatporn, T. Uda, Y. Shigeta, E. Hifumi, \*S. Hirota, Structural and thermodynamic insights into antibody light chain tetramer formation through 3D domain swapping, **Nat. Commun.**, 2023, 14, 7807.

#### 岸村班

- F. Aulia, H. Matsuba, S. Adachi, T. Yamada, I. Nakase, T. Nii, T. Mori, Y. Katayama, \*A. Kishimura, Effective design of PEGylated polyion complex (PIC) nanoparticles for enhancing PIC internalisation in cells utilising block copolymer combinations with mismatched ionic chain lengths, **J. Mater. Chem. B**, 2024, 12, 1826–1836.
- Biplab K C, T. Nii, T. Mori, Y. Katayama, \*A. Kishimura, Dynamic frustrated charge hotspots created by charge density modulation sequester globular proteins into complex coacervates, **Chem. Sci.**, 2023, 14, 6608–6620.
- 岸村顕広, 「Polyion complex particles and method for producing the same (ポリイオンコンプレックス粒子及びその製造方法)」 米国仮出願 US63/604,190

#### 長尾班

- W. Jin, \*M. Nagao, Y. Kumon, H. Matsumoto, Y. Hoshino, \*Y. Miura, Effects of cyclic glycopolymers molecular mobility on their interactions with lectins, **ChemPlusChem**, 2024, in press.
- \*M. Nagao, T. Masuda, M. Takai, \*Y. Miura, Preparation of cellular membrane-mimicking glycopolymer interfaces by a solvent-assisted method on QCM-D sensor chips and their molecular recognition, **J. Mater. Chem. B**, 2024, 12, 1782–1787. **E01 班高井との共同研究**

#### 藤原班

- G. Sato, S. Kinoshita, T. G. Yamada, S. Arai, T. Kitaguchi, A. Funahashi, N. Doi, \*K. Fujiwara, Metabolic tug-of-war between glycolysis and translation revealed by biochemical reconstitution, **ACS Synth. Biol.**, 2024, 13, 1572–1581.
- S. Nishikawa, G. Sato, S. Takada, S. Kohyama, G. Honda, M. Yanagisawa, Y. Hori, N. Doi, N. Yoshinaga, \*K. Fujiwara, Multimolecular competition effect as a modulator of protein localization and biochemical networks in cell-size space, **Adv. Sci.**, 2024, 11, 2308030.

#### 美川班

- T. Ura, N. Sakakibara, Y. Hirano, T. Tamada, Y. Takakusagi, K. Shiraki, \*T. Mikawa, Activation of oxidoreductases by the formation of enzyme assembly, **Sci. Rep.**, 2023, 13, 14381.
- N. Loew, \*I. Shitanda, H. Got, H. Watanabe, T. Mikawa, S. Tsujimura, M. Itagaki, High-performance paper-based biocathode fabricated by screen-printing an improved mesoporous carbon ink and by oriented immobilization of bilirubin oxidase, **Sci. Rep.**, 2022, 12, 14649.

#### 新津班

- C. Tan, A. Niitsu, \*Y. Sugita, Highly charged proteins and their repulsive interactions antagonize biomolecular condensation, **JACS Au**, 2023, 3, 834–848.
- \*A. Niitsu, \*Yuji Sugita, Towards *de novo* design of transmembrane  $\alpha$ -helical assemblies using structural modelling and molecular dynamics simulation, **Phys. Chem. Chem. Phys.**, 2023, 25, 3595–3606.

#### 小宮班

- \*K. Komiya, C. Noda, M. Yamamura, Characterization of cascaded DNA generation reaction for amplifying DNA signal, **New Gener. Comput.**, 2024, <https://doi.org/10.1007/s00354-024-00249-2>.
- \*K. Komiya, \*R. Shineha, N. Kawahara, Practice of responsible research and innovation in the formulation and revision of ethical principles of molecular robotics in Japan, **SN Appl. Sci.**, 2022, 4, 305.

#### 森本班

- \*N. Morimoto, A. Murata, Y. Yamamoto, F. Narita, \*M. Yamamoto, Adhesive sulfobetaine polymer hydrogels for the sandwich cell culture, **ACS Omega**, 2024, 9, 11942–11949.
- M. Kuroiwa, S. Yamaguchi, Y. Kato, A. Hori, S. Toyoura, M. Nakahara, N. Morimoto, \*M. Nakayama, Tim4, a macrophage receptor for apoptotic cells, binds polystyrene microplastics via aromatic-aromatic interactions, **Sci. Total Environ.**, 2023, 875, 162586.

#### シンポジウム開催実績

- 第 24 回日本蛋白質科学会ワークショップ「無細胞タンパク質合成系を用いた超越分子システムの構築」共催 (2024 年 6 月 11 日, 札幌コンベンションセンター)
- 第 61 回日本生物物理学会年会シンポジウム「超越分子システム：分子のシステムを社会に実装する」共催 (2023 年 11 月 15 日, 名古屋国際会議場)
- 細胞を創る研究会 16.0 共催 (2023 年 9 月 25–26 日, 東京大学駒場キャンパス)
- ボトムアップ合成生物学日韓ワークショップ (2023 年 9 月 6 日, 東京工業大学大岡山キャンパス ELSI)
- 第 75 回生物工学会大会国際シンポジウム「多様な生体分子を基盤とした分子ピタゴラ装置の創出：Development of Biomolecular-based Pythagorean Devices」後援 (2023 年 9 月 4 日, 名古屋大学東山キャンパス)
- 学術変革領域 A 「超越分子システム」-学術変革領域 B 「SPEED」合同ワークショップ (2023 年 7 月 3 日, 東京工業大学大岡山キャンパス ELSI)
- 学術変革領域 A 「分子サイバネティクス」-「超越分子システム」合同シンポジウム 2023 (2023 年 3 月 27 日, 東京工業大学大岡山キャンパス ELSI)

## 8 研究組織の連携体制

研究領域全体を通じ、本研究領域内の研究項目間、計画研究及び公募研究間の連携体制について、図表などを用いて具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

本領域では、「分子材料創出センター」及び「計測解析センター」を設置した（図19）。これは、超越分子システムの創出に必要な各種材料分子や、計測・解析のための装置・技術を共有することで、領域内共同研究を促進するとともに、材料・方法の標準化と分子システム構築の迅速化を図るためである。

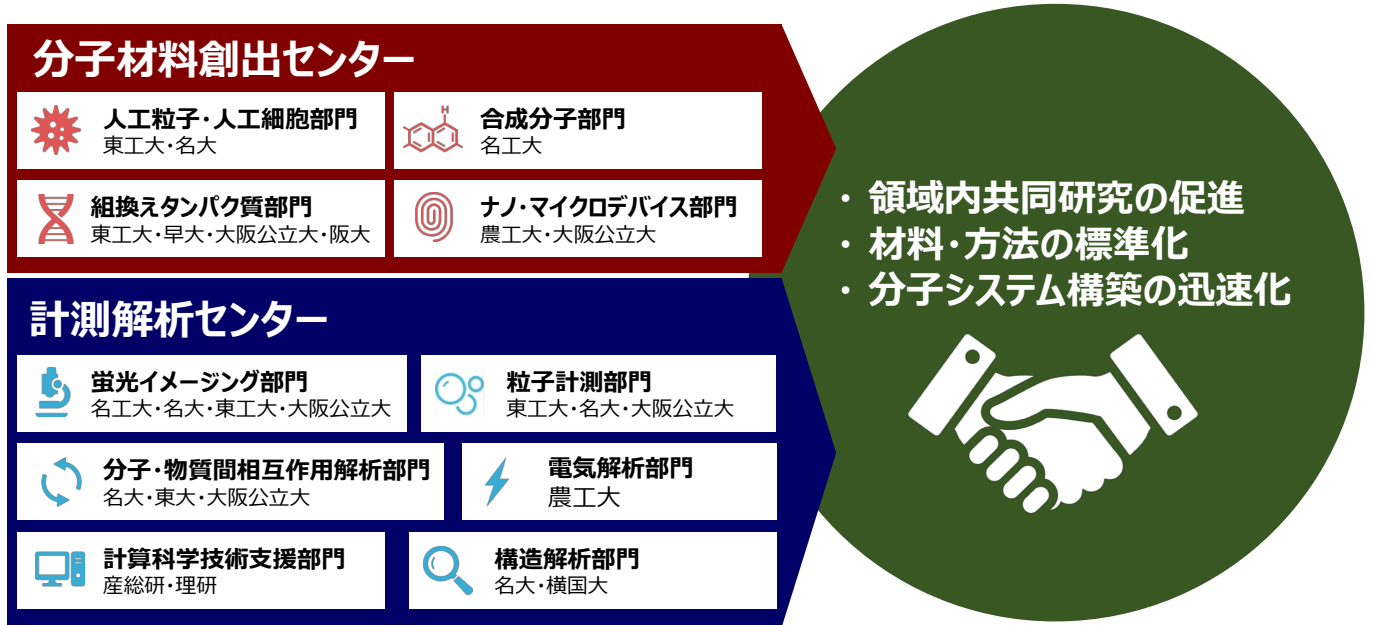


図19：共同研究推進のための二つのセンター

また、共同研究の実施状況に関する統計をとり続けている。領域会議では、共同研究の成果を中心に議論するように促している。計画班・公募班で総勢40名程の研究者がいるため、それぞれの研究者の専門性を把握することが難しいため、Slackで日常的にコミュニケーションが取れるような体制を整えておりかつ、それぞれの専門性を記載したファイルを共有し、共同研究しやすい体制を整えている。大阪や東京でのローカル会議、生物物理学会、蛋白質科学会、生物工学会等でのセッションオーガナイズ、計画班メンバーのサイトビジット等でも共同研究を促してきた。その結果、共同研究の数は、領域研究開始後の2年間で着実に増え、現在では120件に迫る共同研究が実施中である（図20）。これまでに9本の共著論文が発表された（B01堀—公募石川2報；B01堀—B02松浦1報；B01堀—01高井1報；B02松浦—公募鈴木1報；B02松浦—C01川野2報；D01本田—公募加藤1報；E01高井—公募長尾1報）。また、社会実装可能な分子システムの構築を目指す成果として、領域研究から、特許出願も4件あった（特願2024-062574、特願2023-182220、特願2022-188470、特願2023-34762）。

特にB01堀班では、領域内共同研究に従事した博士後期課程の学生が民間企業に就職し、同じ研究テーマで産学共同研究に発展、特許の産学共同出願を果たした。これは、次項の若手研究者の育成例としても注目に値する。

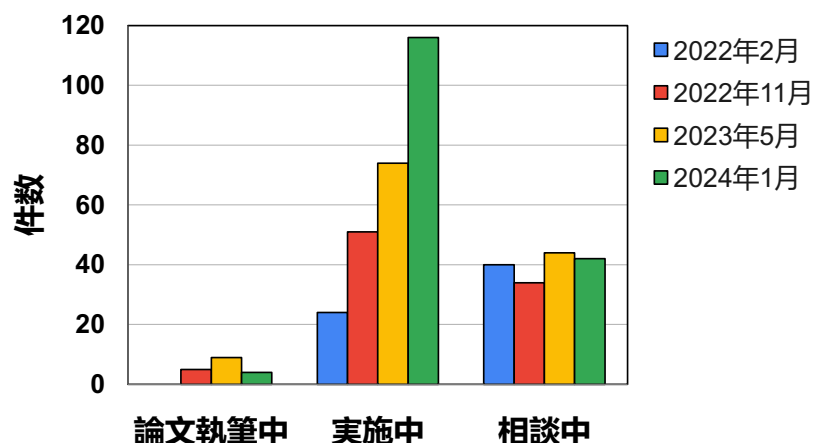


図20：領域関連研究における共同研究の推移



## 9 若手研究者の育成に係る取組状況

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究遂行に携わった若手研究者（研究協力者やポスドク、途中で追加・削除した者を含む。）の育成に係る取組状況について、具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。なお、本研究領域が育成に取り組んだ「若手研究者」の定義を始めに示すこと。

本領域では、Principal Investigator(PI)以外を若手研究者として定義し、これの育成に取り組んだ。さらに、学術変革の領域会議に参加あるいは、関連研究に携わった者を領域関係者と位置づけ、育成対象とした。具体的な育成法として、毎年1回、領域会議の後に「**若手の会**」を開催することとし、これまでに2回開催した。シニア研究者によるお仕着せの会ではなく、若手研究者同士が自由に交流してネットワークを構築しながら共同研究にも発展させることを狙った。そのため、PIなどシニアの教授の参加はできる限り控えた。第1回目は東京工業大学松浦領域代表と東京農工大学川野計画班代表が世話人となって、2022年9月27日～28日に、北海道ルスツリゾートで開催された。計画班・公募班から60名が参加し、ワークショップ(WS)・ポスター発表・若手研究者の講演などが行われた。WSでは、「超越・コ・ラボのボトムアップ構築」と題し、数名のグループごとに仮想研究室を立ち上げるというテーマに取り組むなど、若手ならではの独創的な企画であった。さらに若手研究者の講演では、阿部(東北大学)、加藤(大阪大)、姫岡(東京大)、野田(東京工業大学)の各公募班代表の若手教員が、経歴や多様な体験談を語り、他の若手研究者や学生にとっては、将来設計の参考になったであろう。また、公募班代表のポスター発表での白熱した議論から共同研究も生まれた。第2回目は、大阪公立大学の許岩計画班代表と三浦公募班代表が世話人となって、2023年9月23～24日に、大阪公立大学i-site なんばで開催された。計画班・公募班から72名が参加し、研究室紹介、ポスター発表、若手研究者講演などが行われた。若手研究者2名と学生8名にポスター賞が授与されるなど、若手研究者や学生のモチベーション向上に繋がる工夫に富んだ会となった。特別講演では高井計画班分担者(東京大)が、若手講演では新津(理化学研究所)、仲本(大阪大学)、阿部(東北大学)の3人の各公募班代表が、若手に向けて、あるいは若手として話をした。

「若手の会」と並んで若手研究者育成に資する企画としては、「**超越分子セミナー**」がある。これまでに9回開催された。領域研究テーマに近い研究をされている国内外の研究者による講演や、計画班や公募班のオリジナル技術の紹介・実演などを、オンラインまたはオンサイトで開催してきた。毎回、若手を含む50名以上の参加があり、若手研究者にとってはよい勉強の機会になっていると実感している。特に、若手育成の側面が強かった企画として、「超越分子システムセミナー・超越分子システムテクニカルセミナー(第5回)」では、吉川公募班代表が『レーザー物理作用を駆使した分子操作技術』、木賀計画班分担者が『チップを使用しない微量分注機を用いた無細胞反応条件の探索と細胞配置』、許岩計画班代表が『単一ナノ物質・1分子のプロセッシングが可能なナノ流体デバイス技術』と題して、各自が保有する技術とその最前線について紹介した。また、「計算科学を使う勉強会(第9回)」では、高井計画班分担者が世話人となって、森裕太郎博士(神戸大)による『計算科学を用いた酵素設計による機能の改良と改変』と、森貴治博士(東京理科大)による『シミュレーションによる生体分子のダイナミクス解析』と題した、実演・体験を交えた勉強会が開催された。「若手の会」、「超越分子セミナー」共に、今後も実施していく予定である。

## 10 アウトリーチ活動に係る取組状況

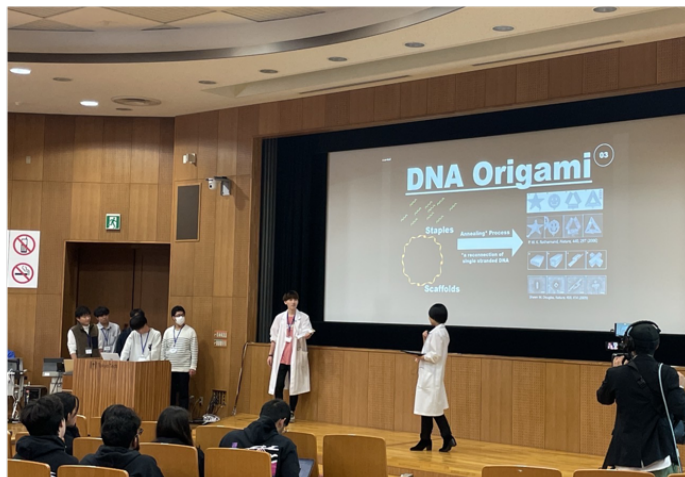
研究領域全体を通じ、一般向けのアウトリーチ活動に係る取組状況について、具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

アウトリーチ活動として、領域ウェブページや X (旧 Twitter)、YouTube などオンラインでの宣伝はもちろん、対面での講演会や学生コンテスト支援に力を入れて活動を行ってきた。本領域で推進している「細胞を凌駕する超越分子システム」の中心的概念である、「無細胞システム」、「分子間相互作用」に関して、分野外の研究者や一般、学生向けのアウトリーチ活動に関し積極的に取り組んでいる。

例えば、研究者向けに *de novo* でタンパク質を設計するセミナー「*de novo* タンパク質デザイン入門セミナー」を公募班（浜田 G、小林 G、新津 G）中心に開催した。公募班の小宮 G は、日本科学振興会（JAAS）年次大会において、「DNA でロボットを作る未来を私も一緒に考える」と題した一般向けの企画展示を行った。一般向けにも分子同士の相互作用から生命の誕生を考える「第 9 回 Kavli IPMU/ELSI/IRCN 合同一般講演会「起源への問い」」において「人類は生命を部品から作れるのか？」と題した講演を計画班代表の松浦が実施した（<https://www.youtube.com/watch?v=59XyiDRpCGg&t=7s>）。その内容は、YouTube でも公開されている。他にも計画班、公募班複数のグループが高校生向けの講演会や公開講座を多数開催している。また、各種学会・研究会の主催・共催のシンポジウムやワークショップも開催した。これまでの 2024 年 6 月時点で、10 件実施し、研究の取り組みを周知することを目指した。

本領域では、今後研究室に所属して実際の研究を担う理系の学部生向けへのアウトリーチ活動に力を入れている。具体的には、BIOMOD と呼ばれる学生のサイエンスコンテストへのサポートを領域を上げて行った。BIOMOD とは、生体分子の設計によってナノ～マイクロメートルスケールの分子システム・ナノ構造を構築し、その完成度を競う学部学生向けの国際大会である。東京農工大学などの学部 1~3 年の学生によって構成された「Team Noko」の国際学生コンペティション「BIOMOD」への参加・研究活動に対する支援を計画班川野 G で行った。また 2023 年大会は公募班の浜田博士（浜田 G）が実行委員長、佐藤佑介博士（佐藤 G）が実行委員として運営に携わっている。Team Noko は、DNA オリガミナノ構造体を人工細胞膜の内部で形成する手法を提案・実証した。具体的なアウトリーチ活動として、同チームの提案する手法の実証のために設計したナノ構造体の実験指導や物品の購入を支援した。同チームは、上位 50%以内に相当する銀賞を獲得した。本活動は、研究室に所属していない学部学生に本領域を認識し、興味を持ってもらおうと同時に大会に参加した幅広い学生たちにアウトリーチする結果となった。

写真左: Team Noko メンバー。写真右: BIOMOD 本大会における発表の様子。



## 11 研究費の使用状況・計画

研究領域全体を通じ、研究費の使用状況や今後の使用計画、研究費の効果的使用の工夫、設備等（本研究領域内で共用する設備・装置の購入・開発・運用、実験資料・資材の提供など）の活用状況について、総括班研究課題の活動状況と併せて具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

### 各班の研究費の使用状況・効果的な使用の工夫・今後の予定等

A01 班の築地 G は、マイクロウェーブ合成装置、コンパクト質量分析装置、共焦点スキャンユニットを 2021 年度に購入した。マイクロウェーブ合成装置はペプチド合成に使用しており、領域内共同研究者に提供するペプチドの合成も担当している。共焦点スキャンユニットは築地 G が所有していた倒立型顕微鏡に設置し、人工細胞センサーの蛍光イメージングでほぼ毎日使用している。また、領域内共同研究者がリポソームのイメージング方法を習いにくることも多い。

B01 班の堀 G は、フローサイトメーター、水晶発振子マイクロバランスおよびエリプソメーターを 2021 年度に購入した。堀 G 内での利用頻度も高いが、複数件の領域内共同研究でも使用している。また B01 班の若林 G は、2021 年度にペプチドシンセサイザーを購入した。タンパク質を修飾するためのペプチド脂質の合成に使用するものであり、ペプチド配列や脂質部位、スパーサーの異なるペプチド脂質を年間数十種類以上合成している。堀 G との共同研究に用いるペプチド脂質の合成も当該装置で行っており、今後、更に領域内共同研究に利用できるよう積極的に呼びかける。

B02 班の松浦 G では、共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) を 2022 年度に購入し、ほぼ毎日使用している。松浦 G では、PURE system をリポソームに内包した人工細胞システムを創る講習会を行い、そこで作製した人工細胞を観察するのにも使用している。今後もリクエストに応じて定期的に人工細胞作製の講習会を実施する。2021 年度には、超遠心分離機を購入した。これは large unilamellar vesicle (LUV) を調製するのに使用しており、LUV が必要な研究グループに提供している。松浦 G では、これに加えて PURE system を調製して、複数のグループに提供している。このように領域の研究活動に貢献できるよう工夫して予算を執行している。

C01 班の川野 G では、円二色性分散計 (CD 計) とセルソーターを 2021 年度に購入した。リポソーム膜中で動作する  $\beta$  シート構造を持つ膜輸送体を進化的に造る研究を行っており、CD 計により膜輸送体の 2 次構造を評価し、セルソーターによる進化実験を行う。川村 G では、固体 NMR 分光計用の温度変化装置 BCU-II を 2021 年度に導入し、マジック角回転条件での -10 度から 40 度の温度範囲の測定を可能にし、細胞膜-タンパク質複合体の構造解析に利用してきた。これらの装置は学内・領域内で必要とする研究者に随時使用していただくものとしており、領域内共同研究の活発化の一助となっている。

D01 班・本田 G では、2022 年にタンパク質精製用 HPLC (AKTA Purifier) を導入した。当該装置は、複数の酵素タンパク質を細胞外で組み合わせ、非天然の分子システムの創出を目指す本田 G の課題において必須のものであり、高い頻度で稼働し、領域内共同研究でも使用している。

E01 班の許 G では、全反射照明蛍光顕微鏡 (TIRF) を 2021 年度に購入し、2022 年度にレーザーを追加して TIRF 系を構築した。これは主にナノゲル-酵素分子システムにおける酵素反応の動力学的解析実験でほぼ毎日使用している。高井 G では、動的光散乱法 (DLS) による粒子径とゼータ電位測定装置を 2022 年度に購入した。この装置はハイドロゲル合成の評価として、主にナノサイズの粒子径の測定に用いており、酵素をナノゲルに固定化したナノゲルの評価にも使用している。酵素をナノゲルに固定化するとサイズの大きな粒子が形成される。ゲルの大きさと酵素活性の関連も本装置で解析できる。

### 総括研究課題の活動状況

総括班では、研究領域全体のオーガナイズを行った。具体的には、ニュースレター発行、領域会議開催、各種学会でのシンポジウムやワークショップの主催・共催、アウトリーチ活動等である。特に「超越分子システムセミナー」と題して、定期的にセミナーを開催している。この際、国内外の研究者に謝金をお支払いし、講演していただいている。これにより国内外のトップ研究者とのネットワーク構築にも寄与している。

年度	ニュースレター発行	領域会議	学会等主催・共催	HP作製等
2021		43252		621500
2022	897380	1943365	182160	66000
2023	1353000	497080	388061	66000
合計	2250380	2483697	570221	753500

2021 から 2023 年度の総括班の予算執行状況を右の表に記した。これに加えて、領域の事務局の人件費が掛かっているが、個人情報を含むため、ここでは金額は記載しない。

## 12 今後の研究領域の推進方策

研究領域全体を通じ、今後の本研究領域の推進方策について、「これまでの学術の体系や方向を大きく変革・転換させることを先導する」観点から、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、今後実施する公募研究の役割を明確にすること。また、研究推進上の問題点がある場合や、国際的なネットワークの構築等の取組を行う場合は、その対応策や計画についても記述すること。

### 「これまでの学術の体系や方向を大きく変革・転換させることを先導する」観点

本研究領域では、タンパク質、核酸、脂質など生物を構成する部品に加え、有機化合物、高分子、マイクロ・ナノデバイスを組み合わせ、天然の細胞の能力を超える、あるいは天然の細胞が持たない能力を有する超越分子システムをボトムアップに創ることを目的としている。これを実現するため、生物が行ってきたように様々な構成部品の組み合わせ探索が必要となるが、その際に計算科学・統計科学など人間の技術を導入する。また、機械学習も積極的に取り入れる。これにより部品同士が有機的に結びつき、高い機能を発現する超越分子システムを構築可能となる。その過程で得られる結果をベースに、超越分子システムを構築する方法論を体系化する。

分子システムの部品となる分子を混合しただけで、すぐに生物を凌駕する分子システムに組み上がるわけではない。個々の部品のデザインに加えて、それらの相互作用・組み合わせを考慮することが重要である。特に構成要素数が増えた場合には、場合の数が大きくなり、かつ要素間に高次の相互作用が生成するため、組み合わせ探索には何らかの指針が必要となる。組み合わせ最適化問題は、情報科学分野における大きな研究課題のひとつとなっているが、実施可能な探索数が限られる実験科学では、大きな困難が伴う。本研究領域では、従来法とは異なる組み合わせ探索を体系的に実施する。すなわち、パラメーターデザインによりパラメータ数、つまり探索数を減らし、可能な組み合わせを全探索し、最適解を実験的に決定する。それらと同時に、従来は得られなかった要素間の相互作用を定量化する。このように異なる材料を組み合わせる研究を同じ領域内で並列に行うことで、様々な材料間の高次の相互作用を定量・比較すると同時に、実用化に資する分子システムを構築可能になると考える。本領域では、このようにして、実験科学における困難を突破することで学術の体系を転換させる学理を先導できると考えている。

### 公募研究の役割

公募研究には、大きく分けて3つの役割を期待している。一つ目は、領域の目的である無細胞分子システムの構築とその構築原理の解明に向けた理論研究を強化することにある。第2期の公募研究では幸運にも理論を担当するF02班を2から4名に増員することができ、数理を取り入れた分子システムの構築の更なる推進が期待できる。二つ目は、学理の定着である。25名と多くの公募班研究代表者を採択することで領域の目指す研究に触れて、将来の糧にして欲しいと考えている。公募班研究代表者は、第1期、2期ともに平均年齢が40代前半と若く、今後のサイエンスを担う人材として期待している。単に5年間のプロジェクトにとどまらず本領域の学理をアカデミックの世界に根付かせたい。三つ目は、異分野融合である。公募班では、レーザー照射技術、トランジスタ技術、DNAオリガミ技術、デノボタンパク質デザインなど、計画班にはない専門性を有する研究者が集まっている。公募研究の代表者が従来参加している学会では、決して出会わない研究者と議論できる環境を楽しんでほしいと考えている。

### 国際的なネットワークの構築等の取組

国本領域はさまざまな学問分野を横断し、生物の機能を凌駕する分子システムの構築を目指している。ボトムアップ合成生物学は、特に本領域にかかわりの深い学問分野であり、近年、欧米を中心に活発に研究及び、コミュニティ形成が進んでいる。本領域でも日本国内にとどまらず世界的なコミュニティ形成を積極的に行っている。前期の領域研究では、毎月一回、海外から著名な研究者にオンラインでセミナーを行っていただき、海外での研究動向、本領域の概念や研究に関して意見交換を行ってきた。後期の研究では、これまで培ってきたネットワークを生かし対面でのシンポジウムを開催する。そのために、

海外研究者の招聘に使用できる予算（例えば、JST ASPIRE など）に応募してゆく。これにより、若手研究者、博士課程学生の海外派遣も可能となると期待される。また、PI は、海外の研究グループと共同で、国内外グラントに応募することを目指す。

領域研究の予算で、若手研究者、博士課程学生を中心に海外研究者グループと共同研究ベースの人的交流を図る。例えば、C01 班（川野 G）の特任助教の竹内七海博士を今年度合成生物学分野で世界的に高名なジョンズホプキンス大学の Prof. T. Inoue グループに共同研究のために派遣する。B02 班（松浦 G）では、博士研究員をイギリスの Imperial College London の Dr. Yuval Elain グループに 1-2 ヶ月派遣する。これまでに A01 班築地 G、B01 堀 G、B02 松浦 G などでは JSPS のプログラム等を介した海外留学生の受け入れを行っており、それらのネットワークを活用して国際的なネットワークを拡張してゆく。

今年初め頃から「エンジニアリングバイオロジー」という研究分野が世界中で使われるようになってきた。この研究分野は合成生物学の原理を用いてアプリケーション・実用化技術を開発する学問分野である。我々は 2019 年に領域の立ち上げる構想を固めたが、世界の潮流が我々に追いついてきたとも言える。国際的な優位性を保ち続けるために研究領域の国際的なネットワークの維持・拡張に力を尽くしてゆく。

## 13 総括班評価者による評価

研究領域全体を通じ、総括班評価者による評価体制（総括班評価者の氏名や所属等）や本研究領域に対する評価コメントについて、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。

本学術領域では以下3名の有識者にアドバイザーとして、総括班の活動や研究領域全体の研究活動について評価およびアドバイスをいただいている。

- ・国立研究開発法人 理化学研究所・開拓研究本部・本部長室長 前田瑞夫先生
- ・九州大学大学院農学研究院 システム生命科学府 名誉教授 久原哲先生
- ・東京大学工学系研究科 応用化学専攻 教授 野地博行先生

2021年度に開始した本学術領域は、研究開始から約1年経過した2022年9月25日～9月27日にかけて合宿形式での領域会議を実施した。25日、26日の研究発表を通じて、最終日の9月27日午前のセッションにて、前田瑞夫先生に下記の評価をいただいた。また、野地先生には口頭で、異分野融合を高く評価する旨の講評といただいた。

### 1. 本学術変革領域への理解と理念への共感

本領域は前身となる特定領域や新学術領域がないことから既存の学術領域の改変ではなく、新しい学問分野を創造することを目的としている。この成り立ちは、前田先生が従前から取り組まれていた既存領域の看板替えではない新テーマによる新学術領域研究に通じるものであり、このように研究者が主体となった異分野融合研究による新領域創出が重要であると評価いただいた。

### 2. 多様な研究分野の融合研究の重要性への評価

前田先生が2008年から2012年に文部科学省科学研究費補助金・新学術領域研究で取り組まれた「ソフトインターフェースの分子科学（ソフト界面）」での活動内容や研究成果の実例を挙げながら、先生がこれまで取り組まれてきた工学とバイオの新たな融合領域の開拓の重要性についてご教示いただいた。先生が主導されたプロジェクトでは、高分子化学、分析化学、生化学、分子生物学など多岐にわたる分野の研究者が、それぞれの研究基盤にバイオ成分を融合した新物質・新材料の創製、バイオ計測の開発に関する研究を行うことで、バイオ材料学、マイクロ・ナノサイエンスの分野で新規発見や技術開発につながったとご紹介いただいた。特に、DNA機能材料に関する研究については、DNA・合成高分子複合体を、様々な分野に応用展開したことで、新規にDNA工学という境界領域の開拓につながったことご経験から、本領域でも工学・有機化学・生物学・情報科学と多様な分野の融合によって、無細胞システム学という新しい境界領域、融合分野の創出を期待された。

### 3. 若手研究者のモチベーションへの評価

特に本領域の若手研究者のモチベーションの高さをご評価いただいた。先生のご講演に対し、若手研究者や学生の反響が大きく、各人が自分にとって響いた部分を、うまく抽出して自分の研究に役立てようとしていることを高くご評価いただいた。

### 4. 領域内交流と人材育成への評価

本領域で実施している領域会議では、各研究者が所属するラボの学生を積極的に会議に参加させるとともに、学生にもポスター発表をさせることで人材育成に取り組んでいる。このような合宿形式の研究会議や、それに伴う人材交流について、高く評価いただいた。特に、このような研究発表の機会や研究交流によって、将来のアカデミアを牽引する研究者同士の交流が始まる可能性が高いことから、このような研究交流会の継続的な実施を期待された。

2023年度からは生物学と情報科学の両方について造形が深い九州大学農学研究院名誉教授にも本学術

領域のアドバイザーに参画していただき、2023年9月21日から9月23日に開催された領域会議にご出席いただいた。本領域会議では、計画班の研究発表のみならず、公募班の研究者にも研究内容を発表していただき、全体を通して、本領域の研究活動について下記の評価をいただいた。

### 1. 領域全体における研究モチベーションの高さの評価

領域会議での研究成果発表やポスター発表時の積極的な意見交換から、本研究領域に参画している研究者のプロジェクトへの高いモチベーションを評価いただいた。特に、今回の領域会議開催場所は交通の便が良いとは言えない場所であったにも関わらず、参加者は到着早々から積極的な意見交換を各所で実施しており、特に若手研究者同士での交流が多く行われていることについて高くご評価いただいた。

### 2. 本学術変革領域の目指すものへの評価

久原先生がこれまで取り組んでこられた微分方程式モデルを解く理論生物学やゲノム解析研究の幕開けを実体験されてきたご経験を元に、本学術領域が目指している「ブラックボックスの多い細胞そのものを部品として使うことなく、ブラックボックスの少ない分子・材料からボトムアップに構築した分子システムを無細胞 (cell-free) 分子システムの構築」の重要性と今後の発展性について評価いただいた。特に、ゲノム科学によって生物の遺伝子全体が明らかになり、情報科学的な手法で遺伝子発現制御解析を全遺伝子レベルで計算できるようになった新しい学理を創生してきたご経験を元に、本研究領域が無細胞分子システムの構築原理を理解するために、多様な材料で作ることで普遍的な理解を目指すという姿勢に対し、強く共感とご理解をいただいた。

### 3. 多様な研究分野の融合研究の重要性への評価と問題点の指摘

本研究領域の研究計画にある細胞の機能の一部を模倣する分子システムを部品からボトムアップに再構成した「無細胞 (cell-free) 分子システム」と名付け、生体分子に加え、有機化合物、高分子、マイクロ・ナノデバイスを、計算科学を活用しながら組み合わせ、天然の細胞の能力を超える、あるいは天然の細胞が持たない能力を有する「超越分子システム」を組み立てる内容について、挑戦的であると評価いただいた。その一方で、研究の内容について大きな学際的研究グループであり参画している学問分野が有機化学、生物工学、合成生物学、電気化学、統計科学、ナノ工学と言った6種類の異なった学問分野であることから、これら6分野の基盤技術、学問体系をまとめて超越分子システムを作ることは簡単なことではなく、どこかで大きな班研究のマップを書き、それにどのように参画していくのかを明確にすることの必要性をご指摘いただいた。このようなマップを作成することで、各参画研究者が自分の研究の立ち位置やプロジェクト全体への貢献の仕方が明確になるとアドバイスいただいた。逆に、このようなマップがないと、参画研究者の方向性の統一性に不安が残り、研究成果として大きなものを得ることが難しいというご意見をいただいた。

### 4. 社会実装に対する期待と成果への期待

本研究領域では、超越分子システムの構築原理を新しい学理として創出するだけでなく、構築した超越分子システムを進化させることで社会実装を目指していることについて高く評価された。全体的に、学術的に興味深い研究が多く、各研究を一定方向に集約すれば新しくかつ面白い成果に結集できる可能性が高いと期待された。

### 5. 研究データ等の形式や精度を含めた管理に関する指摘

各グループが出す情報量と形式について懸念を示された。生物データの情報処理を行われてきたご経験から、各種測定データについて、必要な測定項目の共有の重要性についてご指摘いただいた。特に、酵素や代謝系、セル系それぞれについて必要な情報がない情報処理ができないことをご指摘いただいた。これらは早急に設定する必要があるとご指摘いただいた。