

科学研究費助成事業（基盤研究（S））研究進捗評価

課題番号	15H05723	研究期間	平成27(2015)年度～令和元(2019)年度
研究課題	進化工学を利用した蛍光プローブの開発研究  (令和4年3月現在)	研究代表者 (所属・職)	中井 淳一 (東北大学・歯学研究科・教授)

【平成30(2018)年度 研究進捗評価結果】

評価	評価基準
A+	当初目標を超える研究の進展があり、期待以上の成果が見込まれる
A	当初目標に向けて順調に研究が進展しており、期待どおりの成果が見込まれる
A-	当初目標に向けて概ね順調に研究が進展しており、一定の成果が見込まれるが、一部に遅れ等が認められるため、今後努力が必要である
○ B	当初目標に対して研究が遅れており、今後一層の努力が必要である
C	当初目標より研究が遅れ、研究成果が見込まれないため、研究経費の減額又は研究の中止が適当である

(意見等)

本研究は、蛍光カルシウムプローブ (G-CaMP) の分子認識部位を、ランダム配列をもつアブタマーにしたライブラリーを作製し、それを基質でスクリーニングすることにより、多種の分子に対する新規蛍光プローブをシステムティックにかつ高速で開発することが当初の目標であった。しかし、ライブラリーの作製、スクリーニング系の確立とも進捗が大幅に遅れている。研究代表者から、cDNA ディスプレイ合成装置を用いて、今まで進捗を妨げる大きな問題であったタンパク質の収量を上げる新たな計画及びリボソームを用いたスクリーニングの方法論的欠陥から、酵母ディスプレイ法を導入して問題の解決を図るという方針も提示されたが、これらもまだ具体的に結果が示されている段階ではなく、残された研究期間も長くないため懸念が残ることから、当初計画の達成に向けて全力を挙げて努力することを期待する。

なお、平成26年度の応募段階の研究計画調書で IL6 受容体に結合するアブタマーはすでに取得されており、それ以外のアブタマーでも蛍光プローブを2、3種類開発すると記載されているが、現時点でも IL6 受容体以外のアブタマーが開発できていないことは問題である。アブタマーを用いて蛍光プローブを開発するという方法論が汎用性をもつものかどうかを示すためにも、是非 IL6 受容体以外のアブタマーを開発することを期待する。

【令和4(2022)年度 検証結果】

検証結果	当初目標に対し、十分ではなかったが一応の成果があった。 研究遂行の途中で、数々の問題点が明らかになり、解決法を見いだした点は評価できるものの、全体としては提案されたシステム完成の目処が立っていない。当初の目標であった新たなアブタマーを得ることはなく、期待された蛍光バイオセンサー構築の成果はなかった。その代わりとして、通常の抗体より分子量が小さい、H鎖抗体可変領域 (VHH) 抗体を用いた新規スクリーニング系を立ち上げた。この方法により、グルテンの構成分子である Gliadin に特異的に結合する配列を得ており、一応の成果があったと評価できる。
B	