

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究（開拓）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K18207

研究課題名（和文）分子プローブによる環境中ウイルス粒子の検出・可視化技術の創製

研究課題名（英文）Development of molecular probes for detection and visualization of virions in the environment

研究代表者

西澤 精一（Nishizawa, Seiichi）

東北大学・理学研究科・教授

研究者番号：40281969

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 19,700,000円

研究成果の概要（和文）：新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の世界的大流行を身を持って経験した今、ウイルス検出・可視化技術の重要性は、一般に広く認識されている。本研究では、ウイルス粒子表面の高曲率脂質二重膜（エンベロープ：直径約100 nm）に高選択的に結合・蛍光応答を示す両親媒性 α -helixペプチドプローブを新たに開発、ウイルス粒子検出プローブとしての活用を提案した。ヒト風邪コロナウイルスに対する検出感度は、Western blot法と比べて1桁高く、さらにA型インフルエンザウイルス検出にも適用できる。また、ウイルス粒子内包ゲノムRNAを標的とする蛍光性分子プローブ（RNA染色蛍光色素）を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発した「両親媒性 α -helixペプチドプローブ」は、市販膜染色色素とは一線を画すもので、「直径100 nm程度の高曲率性脂質膜」に対して明瞭な結合選択性を示すと同時に、市販色素では達成し得ない高感度ウイルス粒子検出（染色）を実現した。また、ウイルス感染力（感染価）評価にも適用可能で、評価に数日を要する従来法と比較して、極めて迅速に感染力を評価できる（mix and read）。新規に開発したRNA染色蛍光色素と併せて、ウイルス感染メカニズム解明のためのシングルウイルストレース研究（蛍光イメージング）や、新規ウイルス感染診断技術の創製など、ウイルス研究における多彩な活用が期待できる。

研究成果の概要（英文）：Following the global pandemic of coronavirus infection disease, emerged in 2019 (COVID-19), the importance of virus detection or visualization methods has been widely recognized. In this study, we have developed a highly-curved viral membrane-binding amphipathic helical peptide-based fluorogenic probe for the detection of enveloped virions. The detection limit for human coronavirus 229E virus (HCoV-229E) is actually one-order magnitude higher than that of Western blotting, and the peptide probe is also applicable to the detection of influenza A virus (IAV). Furthermore, the peptide probe enables rapid, simple and reliable infectivity analysis of a variety of enveloped virions. We have also developed RNA-selective fluorogenic dyes (ACS Omega 2022; Analyst 2023; Talanta Open 2024; Bunseki Kagaku 2024) that can target genomic RNA within enveloped virions.

研究分野：分析化学

キーワード：ウイルス粒子 エンベロープ RNA 蛍光プローブ 検出

1. 研究開始当初の背景

2019 年末からの新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の世界的大流行に伴い、感染症対策の重要性は一般に広く認識されるようになった。ヒトを含めた動物に感染するウイルスは、ゲノム(DNA・RNA)を内包するタンパク質の殻(カプシド)の外側に宿主細胞の細胞膜に由来するエンベロープ(脂質二重膜)を持つ構造のもの(エンベロープウイルス)が多く、ここ 10 年以内でエピデミック・パンデミックを引き起こしたウイルスの 9 割がこの種類に該当する(*ACS Nano* 2021, 15, 125)。また、インフルエンザウイルスや新型コロナウイルス(SARS-CoV2)など、ゲノムとして RNA を有する RNA ウイルスは、変異しやすいため流行を繰り返すことが知られている。大変残念なことに、この 40 年間でエピデミックの年間発生数は倍増しており、新型コロナウイルス感染症といった新しいエピデミックの発生率は、前世紀の 4 倍も増えている状況にある(国際オーソモレキュラー医学会ニュース: <https://isom-japan.org/news/detail?uid=P7C071590055641>)。

現在、ウイルス感染診断を目的とした分析技術として、PCR 法(内包ゲノムを増幅検出)と抗原検査(ウイルスを構成するタンパク質を検出)が広く活用されている。しかし、コロナ禍を身を持って経験し、感染症診断の重要性が広く認識された今、今後新たに出現しうる RNA ウイルス感染症に対応し、次のパンデミックに備えるためには、PCR 法・抗原検査のみに依存することなく、新しい感染診断技術の開発が肝要と言える。加えて、私たちが感じた最大の脅威は、「ウイルスが目には見えないこと」である。環境中のウイルス粒子をその場で検出・可視化できる技術を開発することができれば、今後、新たなウイルスが出現し、感染力などの特性が不明な感染拡大の初期フェーズであっても、医療機関・福祉介護機関・小中高や大学等の教育機関・飲食/宿泊施設等で、感染拡大防止に貢献しうる分析技術になると期待できる。

2. 研究の目的

以上の社会的・学術的背景に基づき、本研究ではウイルス粒子表面のエンベロープ構造及び内包されているゲノム RNA を標的とする蛍光性分子プローブ(検出試薬)をそれぞれ設計・合成することで、新規ウイルス粒子検出・可視化技術の開発を試みた。具体的には、(i) ウイルス粒子表面の高曲率脂質二重膜(エンベロープ: 直径約 100 nm)に高選択的に結合・蛍光応答を示す両親媒性 α -helix ペプチドプローブ、及び(ii) ウイルス粒子のエンベロープ構造を迅速に透過・内部に拡散し、ゲノム RNA に特異的に結合・蛍光応答を示す RNA 染色蛍光色素を開発する。

3. 研究の方法

(1) 両親媒性 α -helix ペプチドプローブ

研究代表者らは、タンパク質の生体膜結合様式を模倣することで、ウイルス粒子と同程度のサイズを持つエクソソーム(直径 100 nm 程度)を標的とする両親媒性 α -helix ペプチド蛍光プローブの開発に成功している(*RSC Adv.* 2020, 10, 38323; *ACS Sens.* 2023, 8, 522)。サイズの小さい高曲率膜には、脂質パッキング欠損(LPD)が存在していることが知られており、両親媒性 α -helix ペプチド(の疎水面)が LPD に結合することで、高曲率膜に対する高選択性が発現する(図 1)。本研究では、この分子設計指針をウイルス粒子に適用・応用し、ウイルスエンベロープ構造(高曲率脂質二重膜: 直径約 100 nm)に特異的に結合しうる両親媒性 α -helix ペプチド蛍光プローブを設計・合成した。

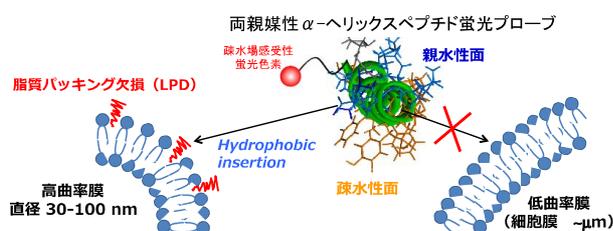


図 1 両親媒性 α -helix ペプチドによる高曲率膜結合

(2) RNA 染色蛍光色素

研究代表者らは、細胞膜透過性に優れた RNA 染色蛍光試薬の開発実績がある(*Anal. Chem.* 2019, 91, 14254; *RSC Adv.* 2021, 11, 35436)。先に開発したシアニン色素(図 2, BIQ)は、モノメチン構造を有しており、色素単体ではほぼ無蛍光の状態から、結合によって蛍光を発するようになる($\lambda_{em} = 657 \text{ nm}$, $\Phi_{free} < 0.0001$, $\Phi_{bound} = 0.0085$)。その light-up 応答機能は、RNA 染色蛍光試薬として特筆に値するものの、その暗さが課題となっていた。本研究では、モノメチン構造を有するシアニン色素を系統的に設計・合成することで、より優れた膜透過性および蛍光特性を示す RNA 染色蛍光色素の開発を進めた。

4. 研究成果

(1) 両親媒性 α -helix ペプチドプローブによるウイルス粒子検出

現在、ウイルス粒子のイメージングに基づくシングルウイルストレース (single virus tracking) 研究において、蛍光タンパク質が広く活用されており、エンベロープタンパク質やカプシドなど、様々な種類のウイルス成分が遺伝学的に標識されることで可視化される (*Chem. Rev.* **2020**, *120*, 1936)。また、Cy5 や Alexa Fluor ファミリーに基づく共有結合色素、あるいは、Rhodamine B 誘導体やカルボシアニン色素など、脂溶性色素がウイルス粒子の可視化に活用されている。しかし、これらの手法は、基本的に単離・精製したウイルス粒子をラベル化するものであり、環境中のウイルス粒子の検出・可視化を実現するためには、全く新しい概念に基づく蛍光プローブを開発する必要がある。

本研究では、エンベロープウイルス粒子に高選択性に結合し、かつ light-up 蛍光応答機能を有する、新たな分子プローブの開発を目指した。すなわち、エンベロープウイルスが直径 100 nm 程度の高曲率性脂質膜で構成されていることに着目し、高曲率性脂質膜表面に特異的に存在する脂質パッキング欠損 (LPD) を選択的に認識する両親媒性 α -helix ペプチド (Amphipathic helical: AH ペプチド) を探索、それに環境感受性色素 Nile Red (NR) を連結したプローブを新たに設計・合成した。

具体的に、構造特性の異なる 6 種類の AH ペプチドを用いて、ヒト風邪コロナウイルス (HCoV-229E) に効果的に結合しうるペプチド配列のスクリーニングを行った。その結果、インフルエンザウイルス M2 タンパク質由来の AH ペプチド (M2:RLFFKSIYRFFEHGLKRG) が優れた HCoV-229E ウイルス粒子結合能を有することを見出した。

スクリーニングの結果を踏まえて、M2 ペプチドの N 末端に NR を連結したプローブ (M2-NR) を合成し、その検出機能を評価した。その結果、M2-NR が HCoV-229E ウイルス粒子に対して、濃度依存性かつ明瞭な light-up 蛍光応答を示すことが分かった ($\lambda_{em} = 640$ nm)。HCoV-229E に対する検出限界は、 9.5×10^6 (particles/mL) 及び 1.5×10^2 (TCID₅₀/mL) と算出された。この値は、HCoV-229E の N タンパク質検出に基づく Western blot 法と比べて 1 桁高く、本プローブの有用性が示唆された。

さらに、M2-NR の蛍光応答に基づき算出される HCoV-229E の粒子濃度と既存のウイルス感染力評価法 (細胞変性法) により得られる感染力 (感染価) との相関を検討した。その結果、粒子濃度と感染力に強い相関があることが明らかとなり、M2-NR を用いてウイルスの感染力が推定できることが示唆された。実際、HCoV-229E ウイルスを含む様々な種類のエンベロープウイルスに対して、M2-NR 蛍光法に基づき算出されたウイルス感染力が細胞変性法のものとはほぼ一致することから、本手法が汎用的なエンベロープウイルス感染力評価に有用であることを実証した。評価に数日を要する従来法 (細胞変性法) と比較して、本手法では、極めて迅速に感染力を評価できる (mix and read)。

(2) RNA 染色蛍光色素

現在、市販されている RNA 選択性蛍光色素として、SYTO RNA select (化学構造は非公開) が広く知られている。実際、その off-on 型の light-up 蛍光応答機能は非常に優れており ($\lambda_{em} = 530$ nm, $I/I_0 = 500$ -fold, $\Phi_{free} = 0.023$, $\Phi_{bound} = 0.36$)、かつ RNA (vs DNA) に対して明瞭な選択性を示す (Φ_{bound} for DNA = 0.043)。しかし、生きた細胞に適用することはできず、また、光安定性が極めて悪いなど、RNA 染色色素としての有用性は限定的である。また、2018 年に (株) 同仁化学研究所から市販された Nucleolus Bright Red ($\lambda_{em} = 605$ nm) 及び Nucleolus Bright Green ($\lambda_{em} = 538$ nm) は (化学構造は非公開) 優れた off-on 型の蛍光応答と核小体 RNA 染色機能を示すものの、生細胞に適用できない。さらに最近、StrandBrite Green ($\lambda_{em} = 520$ nm) が生細胞 RNA (核小体) イメージング用の色素としてリリースされた (化学構造は非公開)。この色素はもともと溶液中の RNA 定量用に市販されていたものの、イメージングプローブとしての有用性は明らかではなく、その地位はまだ確立されていない。

こうした状況のなか、生細胞 RNA (核小体) イメージング色素に関する先駆的な研究は、Chang らにより報告されている (*Chem. Biol.* **2006**, *13*, 615)。彼らは 1336 種類からなるスチリル色素誘導体ライブラリーに対してスクリーニングを実施し、3 種類の色素を選抜した。これらの色素の RNA 選択性は in vitro においては乏しいものの、細胞質内及び核小体 RNA を選択的に染色できることが報告されている。いずれの色素も明るくなく (Φ_{bound} : 0.1041~0.0075)、light-up 応答機能も穏やかであるものの (Φ_{bound}/Φ_{free} : 54.6~5.5)、生細胞 RNA (核小体) イメージング色素開発を先駆けた研究として、高く評価すべき研究と言える。この報告の後、種々の骨格に基づく生細胞 RNA (核小体) 染色色素が開発・報告されているが、SYTO RNA select に準じる輝度と light-up 応答機能を実現した色素はわずか数例にすぎない。

一方、シングルウイルストレース研究において、ウイルス粒子中の RNA を可視化 (イメージング) しうる色素として、Syto82 ($\lambda_{em} = 571$ nm: 化学構造は非公開) が機能しうることを Zhuang・Hogle らが報告している (*PLoS Biol.* **2007**, *5*, No. e183)。彼らは 20 種類以上の RNA 結合色素 (Ribogreen, SYTO RNA select 及び Molecular Probes より市販の Syto 色素シリーズ) を次の 5 つの基準によってスクリーニングした: (i) 膜透過性を持つ、(ii) 無細胞毒性、(iii) 十分なレベルで RNA に結合できる、(iv) ウイルス粒子への RNA 取り込みを妨害しない、(v) ウイルスの特異的感染力を低下させないこと。その結果、Syto82 のみが 5 つの基準を全て満たすこ

とを見出し、生細胞へのポリオウイルス（ノンエンベロープウイルス）侵入のイメージングを報告している。また、Syto82 は A 型インフルエンザウイルス粒子（エンベロープウイルス）のシングルウイルストレース研究にも活用されている（*Biomaterials* **2012**, *33*, 7828）。しかし、Syto82 は RNA（vs DNA）選択性を示さないため、RNA ウイルス粒子選択的検出に適用することができない。

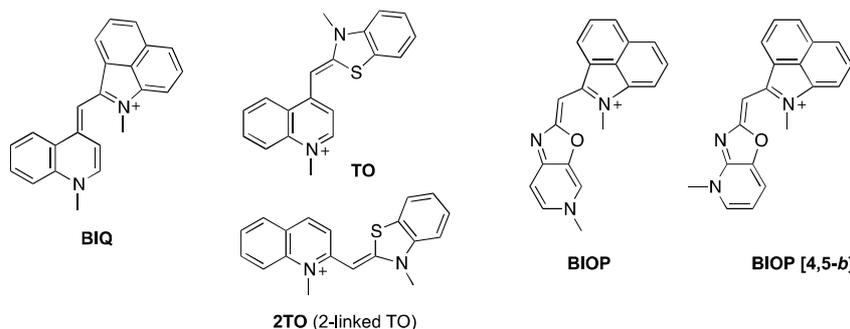


図 2 本研究で開発した RNA 染色蛍光色素

研究代表者らは、明瞭な off-on 型の light-up 応答機能をもつ RNA 選択的な蛍光色素を開発するにあたり、モノメチンシアニン色素の活用に着目した。チアゾールオレンジ（図 2, TO）に代表されるモノメチンシアニン色素は、2つのヘテロ環がリンカーを介して自由回転できるため、単体ではほぼ無蛍光であり、核酸（DNA）と結合すると分子内回転が抑制されて蛍光を発するようになる。その off-on 型の蛍光応答特性は、核酸染色剤として群を抜いている。また、シアニン色素は構成されるヘテロ環構造やヘテロ環の連結の仕方を変えることで励起・蛍光波長を調節可能である。研究代表者らは、特に、benzo[*c*,*d*]indole 環を活用することで蛍光極大波長の長波長化を狙い、その対となるヘテロ環の組み合わせを検討した。その結果、TO を構成するヘテロ環である quinoline 環と連結することで、深赤色蛍光色素 BIQ（図 2）を開発した（*Anal. Chem.* **2019**, *91*, 14254）。

BIQ は、溶液中及び細胞中において明瞭な RNA 選択性を示し、赤色～深赤色蛍光色素としてトップの light-up 応答機能を示す（ $\lambda_{em} = 657 \text{ nm}$, $I/I_0 = 105$, $\Phi_{bound}/\Phi_{free} > 85$ ）言うまでもなく、生きた細胞の核小体 RNA を明瞭にイメージングすることができ、光耐性も良好で細胞毒性も低い。しかし、wash-free イメージングに対応できないこと、また、その暗さ（輝度： $\epsilon_{abs, max} \times \Phi_{bound} = 3.2 \times 10^2$; $\Phi_{bound} = 0.0085$ ）がイメージングプローブとしてネックと言える。

本研究では、モノメチン構造を有するシアニン色素を系統的に設計・合成することで、より優れた蛍光特性を示す RNA 染色蛍光色素の開発を進めた。その結果、DNA 染色色素として汎用されている TO（ $\lambda_{em} = 532 \text{ nm}$ ）が生細胞 RNA（核小体）染色色素として機能すること、TO を異性化することで機能がより向上することを見出した（図 2, 2TO）（*Analyst* **2023**, *148*, 636; *分析化学* **2024**, *73*, 79）。

いずれのプローブも、プローブ単体ではほぼ無蛍光（ $\Phi_{free} = 0.00009\text{-}0.00042$ ）であり、大腸菌 total RNA 存在下で明瞭な light-up 応答を示す（ $\Phi_{bound} = 0.11\text{-}0.16$ ）。ここで、驚いたことは、DNA 染色色素として汎用されている TO が RNA 選択的な蛍光応答を示すことで、2TO ではさらに RNA 選択性が向上している。合成核酸を用いた検討でも、確かに RNA 選択的な蛍光応答を示すことから、いずれのプローブも、本質的に RNA 選択性を持っていることが示唆される。特に、2TO は二本鎖 RNA（rG/rC）及び一本鎖 RNA（rG）に対してほぼ特異的な蛍光応答を示し、RNA に対する選択性は、異性化によって明らかに向上すると言える。

また、いずれのプローブも SYTO RNA select に匹敵する off-on 型の light-up 蛍光応答機能を示すことが分かった。TO の light-up factor（ I/I_0 ）及び蛍光量子収率比（ Φ_{bound}/Φ_{free} ）は、それぞれ 580、380 に達し、むしろ SYTO RNA select（ $I/I_0 = 530$, $\Phi_{bound}/\Phi_{free} = 16$ ）より優れていると言え、輝度（ $\epsilon_{abs, max} \times \Phi_{bound} = 1.1 \times 10^4$ ）も同等である。2TO の場合、輝度は半分程度に低下するものの（ 0.59×10^4 ）TO と同等あるいはそれ以上の light-up 蛍光応答を示すことが分かった（ $I/I_0 = 430$, $\Phi_{bound}/\Phi_{free} = 1200$ ）。

生細胞 RNA（核小体）染色色素として、TO の優れた特性は、wash-free イメージングにも対応できることで、その SN 比は洗浄ステップ後に得られる画像と同等である。先述した BIQ が wash-free イメージングに対応できないことを考えると、off-on 型の light-up 応答機能に加えて、高い輝度が wash-free イメージングに不可欠であると言える。光耐性は比較的良好で、細胞毒性も低い。さらに、TO の位置異性体である 2TO を用いることで、遥かに良好なイメージング画像を得ることができる（wash-free に対応可）。TO と比較して 2TO は、溶液中及び生細胞中でより優れた RNA 選択性を示し、その off-on 型の light-up 応答機能は、これまでに報告されてきた RNA 染色蛍光色素の中でもトップクラスと言える。

また、benzo[*c,d*]indole 環と oxazolopyridine 環を連結することで、高い輝度 ($1.0\sim 1.1 \times 10^4$) と優れた off-on 型の light-up 応答機能を兼ね備えた黄色蛍光色素 BIOP ($\lambda_{em} = 570 \text{ nm}$, $I/I_0 = 770$, $\Phi_{bound}/\Phi_{free} = 1400$, $\Phi_{bound} = 0.52$) および BIOP [4,5-*b*] ($\lambda_{em} = 580 \text{ nm}$, $I/I_0 = 280$, $\Phi_{bound}/\Phi_{free} = 230$, $\Phi_{bound} = 0.46$) を開発した (図 2) (*ACS Omega* **2022**, *7*, 23744; *Talanta Open* **2024**, *9*, 100308; 特許第 7029841 号)。BIQ と同様に、光耐性は良好で細胞毒性も低い。さらに Wash-free イメージングに対応可能で、24 時間インキュベート後もコントラストの高い画像が得られることから、動態観察 (タイムラプスイメージング) への適用も期待できる。BIOP シリーズの蛍光特性は優れたもので、生細胞 RNA (核小体) イメージング色素として、最も明るい色素の一つと位置づけられる。

以上の結果を踏まえて、BIOP を RNA ウイルス粒子検出へ適用した。ここでは、ヒト風邪コロナウイルス (HCoV-229E) ($TCID_{50} = 10^6/\text{mL}$) に対する蛍光応答機能を評価した。その結果、0.00625-0.05 倍希釈サンプル ($6.3 \times 10^4 \sim 5.0 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{mL}$) に対して、迅速 ($< 5 \text{ min}$) かつ濃度依存的に明瞭な蛍光応答を示すことが分かった。得られた検出感度は、Syto82 とほぼ同等であり、BIOP が RNA 内包ウイルス粒子検出プローブとして機能しうることが示唆された。

現在、さらに、高輝度 RNA 染色蛍光色素の開発を進めている。新規に開発した RNA 染色蛍光色素は、off-on 型の優れた light-up 応答機能と膜透過性を併せ持ち、先に開発した BIOP シリーズと比較して、更に高感度な生細胞 RNA (核小体) イメージングが可能となった (仮出願番号: 63/560,774、2024 年 3 月米国出願)。今後、RNA ウイルス粒子検出プローブとしての機能評価を進める予定である。

(3) その他

本研究課題に関連して、RNA が脂質膜に内包された製剤 (ワクチン) の品質分析技術を提案した (PCT/JP2021/030716)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Nao Togashi, Masaaki Nagaoka, Kei Higuchi, Yukina Yoshino, Yawen Wu, Yusuke Sato, Seiichi Nishizawa	4. 巻 9
2. 論文標題 Fine-tuning of highly bright benzo[c,d]indole-oxazolopyridine cyanine dye for nucleolar RNA imaging in living cells	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Talanta Open	6. 最初と最後の頁 100308
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.talo.2024.100308	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 西澤精一, 芳野幸奈, 何夢夢, 樋口啓, 富樫奈央, 鈴木理志, 五十嵐友梧, 佐藤雄介	4. 巻 73
2. 論文標題 モノメチンシアニン蛍光色素による生細胞核小体RNAイメージング	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 分析化学	6. 最初と最後の頁 79-86
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2116/bunseki.kagaku.73.79	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 Kei Higuchi, Yusuke Sato, Nao Togashi, Michiyuki Suzuki, Yukina Yoshino, Seiichi Nishizawa	4. 巻 7
2. 論文標題 Bright and light-up sensing of benzo[c,d]indole-oxazolopyridine cyanine dye for RNA and its application to highly sensitive imaging of nucleolar RNA in living cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 23744-23748
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsomega.2c02408	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 Mengmeng He, Yusuke Sato, Seiichi Nishizawa	4. 巻 148
2. 論文標題 Classical thiazole orange and its regioisomer as fluorogenic probes for nucleolar RNA imaging in living cells	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Analyst	6. 最初と最後の頁 636-642
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/D2AN01804G	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 -

〔学会発表〕 計25件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 山崎友裕、佐藤雄介、櫻井遊、秋田英万、西澤精一
2. 発表標題 蛍光応答性プローブを用いたmRNA内包脂質ナノ粒子製剤の品質管理技術開発
3. 学会等名 第83回分析化学討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 長岡正朗、樋口啓、鈴木理志、佐藤雄介、西澤精一
2. 発表標題 生細胞核小体イメージングを指向したBenzo[c,d]indole環含有モノメチンシアニン色素の機能改良
3. 学会等名 第83回分析化学討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岡野琴羽、大平魁斗、畑中優作、佐藤雄介、西澤精一
2. 発表標題 エンベロープ構造を標的とした両親媒性 α -ヘリックスペプチド型蛍光プローブの機能向上
3. 学会等名 第83回分析化学討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山崎友裕、佐藤雄介、櫻井遊、秋田英万、西澤 精一
2. 発表標題 高曲率性膜応答性蛍光プローブを用いたmRNA 内包脂質ナノ粒子製剤の品質解析
3. 学会等名 令和5年度東日本分析化学若手交流会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 長岡正朗、樋口啓、鈴木理志、佐藤雄介、西澤精一
2. 発表標題 生細胞核小体イメージングを指向した置換基導入によるbenzo[c,d]indole 環含有モノメチンシアニン色素の機能改良
3. 学会等名 令和5年度東日本分析化学若手交流会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岡野琴羽、大平魁人、畑中優作、佐藤雄介、西澤精一
2. 発表標題 長鎖アルキル鎖を導入したシアニン色素 両親媒性ペプチドプローブの合成と機能評価
3. 学会等名 令和5年度東日本分析化学若手交流会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 畑中優作、佐藤雄介、長名シオン、永富良一、西澤精一
2. 発表標題 ヒト風邪コロナウイルスのエンベロップ構造を標的とした蛍光性プローブの合成と機能評価
3. 学会等名 みちのく分析科学シンポジウム2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 長岡正朗、樋口啓、鈴木理志、佐藤雄介、西澤精一
2. 発表標題 生細胞核小体イメージングを指向した置換基導入によるbenzo[c,d]indole 環含有モノメチンシアニン色素の機能改良
3. 学会等名 第11回 Chem-Bio Joint Seminar 2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山崎友裕、佐藤雄介、櫻井遊、秋田英万、西澤 精一
2. 発表標題 高曲率性膜応答性蛍光プローブを用いたmRNA 内包脂質ナノ粒子製剤の品質解析
3. 学会等名 第11回 Chem-Bio Joint Seminar 2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岡野琴羽、大平魁人、畑中優作、佐藤雄介、西澤精一
2. 発表標題 長鎖アルキル鎖を導入したシアニン色素 両親媒性ペプチドプローブの合成と機能評価
3. 学会等名 第11回 Chem-Bio Joint Seminar 2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yusaku Hatanaka, Yusuke Sato, Shion Osana, Ryoichi Nagatomi, Seiichi Nishizawa
2. 発表標題 Development of envelope-binding fluorescent probes for virus detection
3. 学会等名 RSC Tokyo international conference 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐藤雄介、畑中優作、西澤精一
2. 発表標題 エンベロープ構造を標的としたウイルス粒子応答性蛍光プローブの設計と応用
3. 学会等名 日本分析化学会 第72年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 長岡正朗、樋口啓、鈴木理志、佐藤雄介、西澤精一
2. 発表標題 Benzo[c,d]indole - Oxazolo[5,4-c]pyridine シアニン色素による生細胞核小体イメージング：置換基導入による機能改良
3. 学会等名 日本分析化学会 第72年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岡野琴羽、大平魁人、畑中優作、西澤精一、佐藤雄介
2. 発表標題 長鎖アルキル鎖を導入したシアニン色素-両親媒性ペプチドプローブの合成と機能評価
3. 学会等名 日本分析化学会 第72年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 西澤精一
2. 発表標題 細胞外小胞解析のための分子プローブの創成
3. 学会等名 第10回日本細胞外小胞学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 畑中優作、佐藤雄介、長名シオン、永富良一、西澤精一
2. 発表標題 脂質二重膜構造を標的としたエンベロープウイルス応答性蛍光性プローブの合成と機能評価
3. 学会等名 第10回日本細胞外小胞学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山崎友裕、佐藤雄介、櫻井遊、秋田英万、西澤精一
2. 発表標題 蛍光応答性プローブを用いたmRNA内包脂質ナノ粒子製剤の品質解析技術開発
3. 学会等名 第10回日本細胞外小胞学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 He Mengmeng, Yusuke Sato, Seiichi Nishizawa
2. 発表標題 Synthesis and Evaluation of Thiazole Orange Derivatives for Nucleolar RNA Imaging in Living Cells
3. 学会等名 みちのく分析科学シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 畑中優作、佐藤雄介、長名シオン、永富良一、西澤精一
2. 発表標題 ウイルスのエンベロープ構造を標的とした蛍光性プローブの合成と機能評価
3. 学会等名 第10回 Chem-Bio Joint Seminar 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 畑中優作、佐藤雄介、長名シオン、永富良一、西澤精一
2. 発表標題 ウイルスのエンベロープ構造を標的とした蛍光性プローブの設計と機能評価
3. 学会等名 第16回 バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 畑中優作、佐藤雄介、長名シオン、永富良一、西澤精一
2. 発表標題 エンペロープ構造を標的としたウイルス応答性蛍光プローブの合成と機能評価
3. 学会等名 日本分析化学会第71年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西澤精一
2. 発表標題 生命現象を分子レベルで解明するためのケミカルプローブの創成と応用
3. 学会等名 日本分析化学会北海道支部講演会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西澤精一
2. 発表標題 生細胞RNAイメージング・検出プローブの開発
3. 学会等名 日本分析化学会第70年会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木理志、佐藤雄介、西澤精一
2. 発表標題 カチオン性ペプチドを基盤としたRNA検出プローブの合成と機能評価
3. 学会等名 日本分析化学会第70年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kei Higuchi, Yusuke Sato, Seiichi Nishizawa
2. 発表標題 Design of bright yellow fluorogenic probes based on benzo[c,d]indole-containing cyanine dyes for RNA imaging in living cells
3. 学会等名 ISNAC2021 第48回国際核酸化学シンポジウム 日本核酸化学会第5回年会（国際学会）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 COMPOUND, FLUORESCENT DYE CONTAINING THE COMPOUND, USE OF THE COMPOUND, DETECTION METHOD USING THE COMPOUND, AND KIT USING THE COMPOUND	発明者 西澤精一, 佐藤雄介, 長岡正朗	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、63/560,774	出願年 2024年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 RNAが脂質膜に内包された製剤の品質管理技術の開発	発明者 佐藤雄介、西澤精一、永富良一	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2021/030716	出願年 2021年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 RNA検出用蛍光色素及びその使用方法	発明者 西澤精一, 佐藤雄介, 芳野幸奈, 富樫奈央, 樋口 啓	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、第7029841号	取得年 2022年	国内・外国の別 国内

〔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
研究分担者	永富 良一 (Nagatomi Ryoichi) (20208028)	東北大学・医工学研究科・教授 (11301)	

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
---------	---------