

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：82626

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H04884

研究課題名(和文)細胞刺激応答の非破壊的モニタリングを実現するクルードタンパク質メトリクス法の創製

研究課題名(英文)Creation of crude protein metrics for nondestructive monitoring of cellular responses to stimuli

研究代表者

富田 峻介 (Shunsuke, Tomita)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任研究員

研究者番号：50726817

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,600,000円

研究成果の概要(和文)：細胞培養は、いまや再生医療や医薬品開発など広範な分野において欠かすことのできない技術である。細胞培養を利用するメリットを最大限に引き出すには、培養途中の細胞状態に関する客観的な情報を取得するための、汎用的な分析戦略が必要である。本研究は、細胞が分泌するタンパク質が細胞の状態を反映していることに着目し、培地中に分泌された‘クルード(粗雑)なタンパク質’の組成を特徴パターンとして出力する‘クルードタンパク質メトリクス法’を開発した。これによって非破壊的かつマーカー分子に頼らない細胞状態の同定を実現した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、クルードタンパク質メトリクス構築のための材料設計の指針や、評価系をマイクロ流体デバイスに搭載するための方法論を確立した。そしてこれらを基に、非破壊的かつマーカー分子に頼らない細胞評価のためのクルードタンパク質メトリクス系を構築し、それによって幹細胞の分化のほか、線維芽細胞の老化や抗がん剤による肺がん細胞の状態変化のモニタリングなどを実現した。本研究で確立した技術は、従来のエンドポイント的な細胞評価法と相補的に使える分析法として、再生医療や創薬、細胞生物学など幅広い分野に広く波及すると期待される。

研究成果の概要(英文)：Cell culture is now an indispensable technique in a wide range of research fields, including regenerative medicine and drug development. In order to maximize the benefits of cell culture, a versatile analytical strategy is required to acquire information regarding the state of the cells during culture. Focusing on the fact that the proteins secreted by the cultured cells reflect the state of the cells, this study aimed to establish the ‘crude protein metrics’ that can recognize the composition of ‘crude proteins’ secreted into the culture media as characteristic patterns, thereby successfully demonstrating the nondestructive and markerless identification of cell states.

研究分野：バイオ分析化学

キーワード：バイオメトリクス 機械学習 タンパク質 高分子 セルベースアッセイ マイクロ流体デバイス 表面プラズモン共鳴

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

細胞培養は、いまや再生医療や医薬品開発など広範な分野において欠かすことのできない技術である。細胞培養を用いる研究の基本的な手順は、「外部から刺激を与え」、「その応答を観察する」である。刺激に対する細胞応答を観察する主な方法として、以下の3つが挙げられる。(i) 顕微鏡による無染色観察、(ii) 目的の生理現象に特異的なマーカー分子の染色、そして、(iii) 抽出したマーカー分子の検出である。目利きに依存する(i)の顕微鏡観察は非破壊的ではあるものの精度が高いとは言えない。そのため、正確な評価が必要な場合は、(ii)または(iii)が用いられることが多い。しかし、特定の生理現象への特異性が保証されているマーカー分子は限られているため、一般には複数種類のマーカー分子を様々なアッセイ法によって検出する必要がある。さらに、染色用試薬への曝露やサンプル採取のための破碎によって細胞を損傷させてしまうので、通常はエンドポイントでしか使用できないという問題もある。刺激に対する応答を特定の時点でしか正確に評価できないようでは、細胞培養の利点が著しく損なわれる。したがって、細胞培養を利用するメリットを最大限に引き出すには、培養途中の細胞の状態に関する客観的な情報を取得するための、汎用的な分析戦略が必要である。

そこで本研究は、我々が推進してきたタンパク質分析法を発展させることで、この課題を解決することを目的とした。我々はこれまでに、機械学習を利用するバイオ分析‘タンパク質メトリクス法’の開発に取り組んできた。これは、指紋認証に代表されるバイオメトリクスの論理を応用した方法である。この方法では、タンパク質に対して多様な親和性を示す分子セットを用いる。この分子セットを分析タンパク質と作用させると各タンパク質の特徴を反映した‘応答パターン’を得ることができる。この応答パターンを機械学習によって解析することで、タンパク質を高精度に同定できる。本研究では、細胞が分泌するタンパク質が、細胞の状態を反映していることに着目し、このアプローチを応用することで、培地中に分泌された‘クルード(粗雑)なタンパク質’の組成を特徴パターンとして出力する‘クルードタンパク質メトリクス法’を確立し、これによって細胞状態を非破壊的かつマーカー分子に頼らずに同定できるようにすることを目指し、研究を推進した。

2. 研究の目的

本研究では評価系開発と材料開発を、互いにフィードバックさせながら連動させて進めることで、細胞状態を非破壊的かつマーカー分子に頼らずに同定可能なクルードタンパク質メトリクス法を確立することを目的とした。具体的には、①評価系開発：クルードタンパク質メトリクス法の適用範囲を明らかにするために、幹細胞の分化のほか、細胞老化や薬剤応答モニタリングなどへの応用を検討した。また、一般的な細胞培養では、培地には夾雑成分を多量に含む血清が添加される。そこで、こうした血清を含む培地に対してもクルードタンパク質メトリクス法が適用可能かどうかを調査した。②材料開発：これまでに実績のある酵素/ポリマーのポリイオン複合体セットに加え、より簡易に高精度なクルードタンパク質メトリクス法の構築を可能にする材料の設計を試みた。具体的には、ポリマーに対して出力ユニットと認識ユニットを導入する二機能化を利用した新規材料を開発した。

3. 研究の方法

(1)クルードタンパク質メトリクス法を利用した細胞老化のモニタリング

異なる分裂回数 (PDL) のヒト由来線維芽細胞株 (TIG-1) を 40000 cells/cm² の密度で 24 穴細胞培養用プレートに播種し、37°C (CO₂ 濃度 5%) でインキュベートした。16 時間後に無血清培地 (CD-CHO) に交換し、その 48 時間後に培養液を採取した。評価系構築のための材料として、ベンジルプロミドおよび 2-ヨードエタノールによって 4 級化した poly(ethylene glycol)-block-poly(*N,N*-dimethylaminoethyl methacrylate) (PEG-*b*-QPAMAs) を合成した。96 穴マイクロプレート中で、20 nM の PEG-*b*-QPAMAs を *A. oryzae* 由来 (5 nM) および *E. coli* 由来 (2 nM) の β -galactosidase と混合して、ポリイオン複合体 (PIC) を形成させた後、細胞培養液を加え、30 分間インキュベートした。その後、基質 *o*-nitrophenyl- β -galactopyranoside (5 mM) をさらに加えた後に、マイクロプレートリーダーを用いて 400 nm の吸光度をモニターし、各試料に対する酵素活性パターンを得た。得られた酵素活性パターンは線形判別分析によって解析した。

(2)高精度なクルードタンパク質メトリクス法構築のためのポリマー材料の設計

Poly(ethylene glycol)-block-poly-L-lysine (PEG-*b*-PLL) のアミノ基の一部に対して、フルオレセインイソチアネートを修飾した(P1)。さらに、P1の残りのアミノ基に対して、イソロイシン(P2)とチロシン(P3)を脱水縮合により導入した。10 mM MOPS (pH 7.0)に溶解させた P1~P3 の溶液 (2 μ g/mL) をそれぞれ 96 穴マイクロプレートに配置した。ここに 20 種類のタンパク質 (20 μ g/mL) および 10 種類の細胞株 (10000 cells/mL) 等の試料をそれぞれ加えた後の蛍光の変化を、マイクロプレートリーダーを用いて測定し、各試料に対する蛍光パターンを得た。得られた蛍光パターンは線形判別分析によって解析した。

Poly-L-lysine (PLL)のアミノ基の一部に対して、ダンシルクロリドを修飾した (PLL-Dnc)。18 mM MES (pH 5.5), 18 mM MOPS (pH 7.0), 18 mM EPPS (pH 8.5)に 25 mM NaCl を加えた/加えない 6 種類の水溶液に PLL-Dnc (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を加えた溶液を、それぞれ 96 穴マイクロプレートに配置した。ここに 8 種類の細胞株 (20000 cells/mL) 等の試料をそれぞれ加えた後の蛍光の変化を、マイクロプレートリーダーを用いて測定し、各試料に対する蛍光パターンを得た。得られた蛍光パターンは線形判別分析によって解析した。

(3)クルードタンパク質メトリクス系を搭載したマイクロ流体デバイスの開発と細胞の薬剤応答評価への応用

ヒト由来肺がん細胞株 (HepG2) を 50000 cells/well の密度で 96 穴細胞培養用プレートに播種し、37°C (CO₂ 濃度 5%) でインキュベートした。24 時間後に様々な濃度のタモキシフェンを加えた無血清培地 (CD-CHO) に交換し、その 0.5-12 時間後に培養液を採取した。マルチチャンネル型チップは、5 本の帯状の金薄膜上にそれぞれ異なるシステイン誘導体 (Cys, Ac-Cys, Cys-OEt, Boc-Cys, Pen) を認識プローブとして固定化したガラス基板、微小流路形成用のスペーサー、試料の導入・排出口を有するポリジメチルシロキサンを積層することで構築した。表面プラズモン共鳴 (SPR) 測定は、チップに対して流速 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ で無血清培地を 5 min 流入することでベースラインを得た後、同流速にて培養液を 5 min 流入することで行った。取得した SPR センサグラムから応答を数値化するために、結合曲線を Langmuir の吸着モデルに従って近似し、結合量と結合速度に対応するパラメータを算出した。続いて、得られた SPR 応答パターンを線形判別分析により解析した。

4. 研究成果

(1)クルードタンパク質メトリクス法を利用した細胞老化のモニタリング

はじめに、クルードタンパク質メトリクス法の応用範囲の拡大を目指し、細胞老化のモニタリングへの適用を検討した。細胞老化は加齢とともに起こる細胞増殖停止状態であり、医学をはじめ様々な研究分野において注目されている生命現象である。しかし、マーカー分子の検出のような細胞老化を評価するための従来法は、細胞の破壊や染色が必要な侵襲的な手法であるため、評価後の継続的な培養ができないなどの問題点がある。そこで本研究では、細胞の老化度合いを非侵襲的に評価する新規分析法の開発を目的とし、細胞の分泌タンパク質の総体‘セクレトーム’をクルードタンパク質メトリクス法によって認識することを試みた (図 1)。

はじめに側鎖構造の異なるカチオン性の PEG-*b*-QPAMAs を合成し、これを由来の異なる 2 種類のアニオン性酵素 β -galactosidase と混合して、4 種のポリイオン複合体 (PIC) セットを調製した。この複合体セットに対し、異なる分裂回数 (PDL) のヒト由来線維芽細胞株 (TIG-1) の培養に使用した無血清培地 (CD-CHO) を混合し (図 1A)、その後、酵素活性の変化を調べることで、線維芽細胞の特徴パターンを取得した (図 1B)。この特徴パターンを線形判別分析によって解析することで、PDL の異なる細胞を簡便かつ非破壊的に判別することに成功した (図 1C) (*Anal. Chem.*, 2018, 90, 6348-6352)。

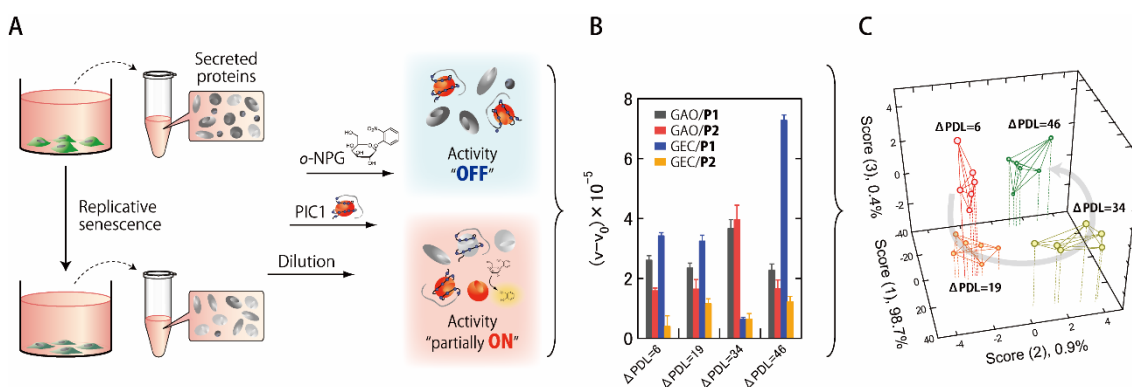


図 1. クルードタンパク質メトリクス法を利用した細胞老化のモニタリング。(A) 異なる PDL の細胞の培養に使用した培地に PIC セットを混合し、酵素活性を測定することで、(B) 酵素活性変化量のパターン情報が得られる。(C) これを線形判別分析で解析することで、細胞の PDL の変化をモニターすることが可能となる。

(2)高精度なクルードタンパク質メトリクス法の構築のための高分子材料の設計

上述のクルードタンパク質メトリクス法では異種材料からなるポリイオン複合体を用いた。しかし、複合体調製に伴う手順の煩雑化や、それに起因するエラーの増幅のために、複合体の利用はセンサー精度の低下に繋がるという課題があった。そこで、より簡易に評価が可能なクルードタンパク質メトリクス法の構築を目的に、1 つのポリマーに対して、①認識ユニットと②出力

ユニットを導入する二機能化を利用した新規材料設計を試みた。

はじめに、PEG-*b*-PLL を骨格とした設計を検討した。PEG-*b*-PLL のアミノ基の一部に対して、タンパク質の結合に応答して蛍光が変化するフルオレセインを出力ユニットとして、さらに、相互作用能を多様化するために疎水性アミノ酸を認識ユニットとして導入した。この得られたポリマーセットを用いることで、タンパク質や細胞の特徴を反映した蛍光パターンを迅速かつ簡易に取得することができ、線形判別分析によって高精度な識別が可能であることを示した (図 2) (*ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2019, 11, 6751-6758)。

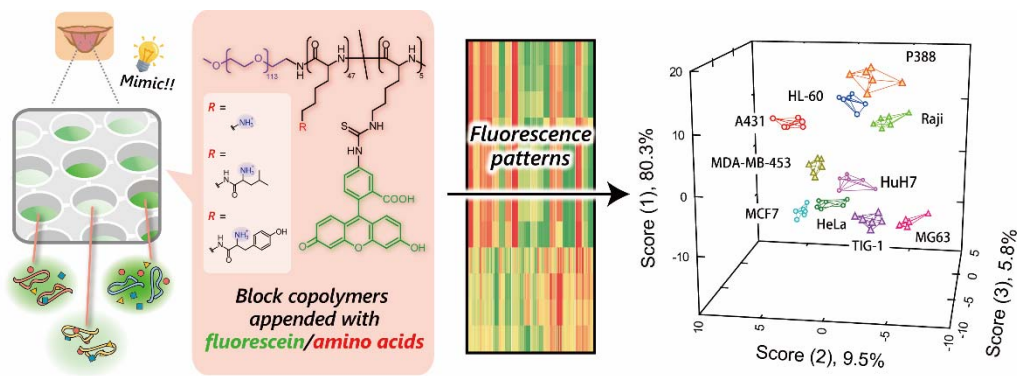


図 2. PEG-*b*-PLL 誘導体を用いたクルードタンパク質メトリクス法の構築。フルオレセインと疎水性アミノ酸を導入した PEG-*b*-PLL を細胞株と混合し、蛍光強度を測定することで、蛍光パターン情報が得られる。これを線形判別分析で解析することで、正常細胞/がん細胞を含む由来の異なる細胞などを高精度に識別することが可能となる。

続いて、さらに簡易に特徴パターンを得るための評価系を構築するために、‘分子の構造を変える’のではなく、‘溶媒環境を変える’という方策を検討した。具体的には、PLL のアミノ基の一部に環境応答性のダンシル基を導入したポリマーを合成し、これを様々な pH およびイオン強度の水溶液中に溶解させた。ここにタンパク質や細胞を加えると、溶媒環境に応じて応答が変化し、その結果、試料の特徴を反映した蛍光パターンが得られることを見出した (図 3) (*ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2017, 9, 22970-22976; *ACS Sens.*, 2019, 4, 827-831)。こうしたダンシル基を導入したポリマーセットを用いて構築したクルードタンパク質メトリクス法を利用することで、夾雑成分を多量に含む血清が培地に添加されている場合でも、細胞分泌物の組成を認識できることが判明し、その結果、細胞株の種類の同定に加え、幹細胞の分化過程をモニタリングすることにも成功した (PCT/JP2017/040542)。

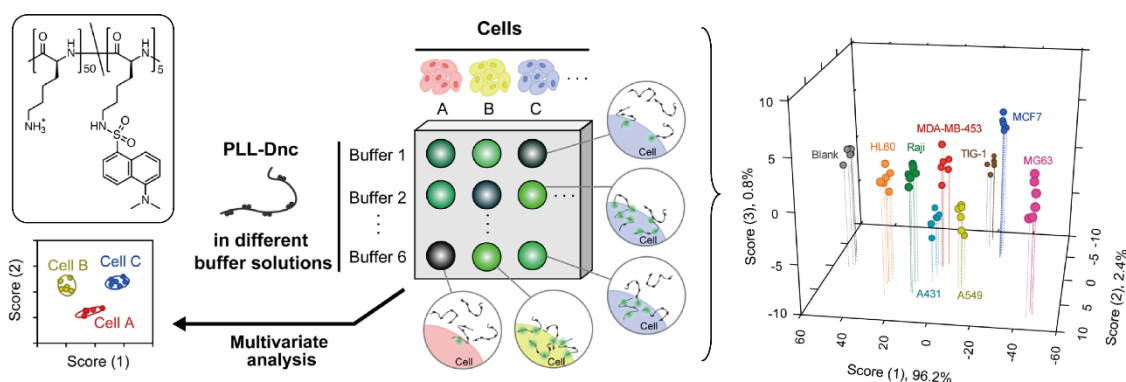


図 3. ダンシル基を修飾したポリリジン (PLL-Dnc) を用いたクルードタンパク質メトリクス法の構築。PLL-Dnc を様々な溶媒中で細胞株等と混合し、蛍光強度を測定することで、蛍光パターン情報が得られる。これを線形判別分析で解析することで、正常細胞/がん細胞を含む由来の異なる細胞を高精度に識別することが可能となる。

(3)クルードタンパク質メトリクス系を搭載したマイクロ流体デバイスの開発と細胞の薬剤応答評価への応用

近年、創薬・毒性評価における動物実験の代替として、臓器チップが注目されている。チップ内の細胞を流路上で連続的に評価できる分析技術の開発は、細胞状態のリアルタイム分析を可

能にするため、臓器チップの普及に向けた重要な課題である。特に、マイクロ流体デバイスを用いた分析系は可搬性に優れており、場所を選ばずに臓器チップを評価することができるため、関心を集めている。本研究では、持ち運び可能な小型の検出系として表面プラズモン共鳴 (SPR) 装置に着目し、流路上での細胞分泌物評価を目指したクルードタンパク質メトリクス系搭載型マイクロ流体デバイスの開発を行った (図 4)。

はじめに特徴パターンを得るための検出部として、マルチチャネル型チップを構築した (図 4A)。このチップは、5本の帯状の金薄膜上にそれぞれ異なるシステイン誘導体を認識ユニットとして固定化したガラス基板、微小流路形成用のスペーサー、試料の導入・排出口を有するポリジメチルシロキサンからなる。デバイスの微小流路内に培養液を流入させると、細胞分泌物は電荷や疎水性度が異なるシステイン誘導体と多様に相互作用し、その結果、細胞状態を反映した SPR 応答の特徴パターンが出力された (図 4B)。線形判別分析を用いた解析により、抗がん剤であるタモキシフェン処理に伴って変化するヒト由来肝臓がん細胞 (HepG2) の状態を判別することに成功した (図 4C) (*Anal. Chem.*, 2020, 92, 14939-14946)。

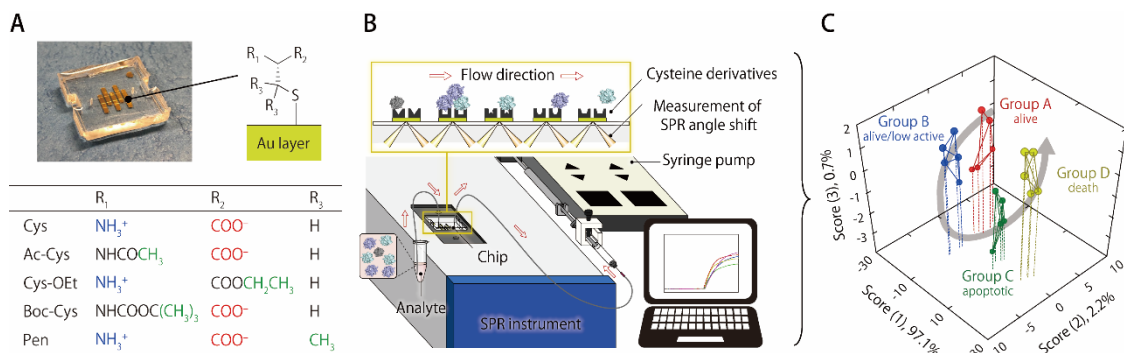


図 4. クルードタンパク質メトリクス系を搭載したマイクロ流体デバイス。(A) 異なるシステイン誘導体を固定化した金薄膜を組み込んだマイクロ流体デバイス。(B) 構築したマルチチャネル型チップに培養液を流入させることで取得した細胞状態固有の SPR パターンを、(C) 線形判別分析によって解析することで、抗がん剤による HepG2 の状態変化を検出することが可能となる。

以上のように、評価系開発と材料開発を、互いにフィードバックさせながら多角的に推進した結果、クルードタンパク質メトリクス構築のためのポリマーセットの設計指針を得ることに成功した。さらには、本技術をマイクロ流体デバイスに搭載する方法論の確立も実現した。こうした材料を利用することで、非破壊的かつマーカー分子に頼らない細胞評価のためのクルードタンパク質メトリクス系を構築し、それによって幹細胞の分化のほか、線維芽細胞の老化や抗がん剤による肺がん細胞の状態変化のモニタリングなどを実現した。本研究で確立した技術は、従来のエンドポイント的な細胞評価法と相補的に使える分析法として、再生医療や創薬、細胞生物学など幅広い分野に広く波及すると期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 5件）

| | |
|---|-----------------------------|
| 1. 著者名 Sugai Hiroka, Tomita Shunsuke, Ishihara Sayaka, Kurita Ryoji | 4. 巻 4 |
| 2. 論文標題 One-Component Array Based on a Dansyl-Modified Polylysine: Generation of Differential Fluorescent Signatures for the Discrimination of Human Cells | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 ACS Sensors | 6. 最初と最後の頁 827 ~ 831 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acssensors.9b00247 | 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 Tomita Shunsuke, Sugai Hiroka, Mimura Masahiro, Ishihara Sayaka, Shiraki Kentaro, Kurita Ryoji | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 Optical Fingerprints of Proteases and Their Inhibited Complexes Provided by Differential Cross-Reactivity of Fluorophore-Labeled Single-Stranded DNA | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 ACS Applied Materials & Interfaces | 6. 最初と最後の頁 47428 ~ 47436 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsam.9b17829 | 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 SUGAI Hiroka, TOMITA Shunsuke, KURITA Ryoji | 4. 巻 36 |
| 2. 論文標題 Pattern-recognition-based Sensor Arrays for Cell Characterization: From Materials and Data Analyses to Biomedical Applications | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Analytical Sciences | 6. 最初と最後の頁 923 ~ 934 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.20R002 | 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 Sugai Hiroka, Tomita Shunsuke, Ishihara Sayaka, Yoshioka Kyoko, Kurita Ryoji | 4. 巻 92 |
| 2. 論文標題 Microfluidic Sensing System with a Multichannel Surface Plasmon Resonance Chip: Damage-Free Characterization of Cells by Pattern Recognition | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Analytical Chemistry | 6. 最初と最後の頁 14939 ~ 14946 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.0c02220 | 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 Mimura Masahiro, Tomita Shunsuke, Shinkai Yoichi, Shiraki Kentaro, Kurita Ryoji | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Quadruplex Folding of DNA Promotes the Condensation of Linker Histones via Liquid-Liquid Phase Separation | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 ChemRxiv | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.26434/chemrxiv.11822076.v2 | 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 Tomita Shunsuke, Nomoto Hiroki, Yoshitomi Toru, Iijima Kazutoshi, Hashizume Mineo, Yoshimoto Keitaro | 4. 巻 90 |
| 2. 論文標題 Noninvasive Fingerprinting-Based Tracking of Replicative Cellular Senescence Using a Colorimetric Polyion Complex Array | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Analytical Chemistry | 6. 最初と最後の頁 6348 ~ 6352 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.8b00795 | 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 MIMURA Masahiro, TOMITA Shunsuke, KURITA Ryoji, SHIRAKI Kentaro | 4. 巻 35 |
| 2. 論文標題 Array-based Generation of Response Patterns with Common Fluorescent Dyes for Identification of Proteins and Cells | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Analytical Sciences | 6. 最初と最後の頁 99 ~ 102 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.18SDN01 | 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 Sugai Hiroka, Tomita Shunsuke, Ishihara Sayaka, Kurita Ryoji | 4. 巻 31 |
| 2. 論文標題 Fingerprint-based Protein Identification in Cell Culture Medium Using Environment-sensitive Turn-on Fluorescent Polymer | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Sensors and Materials | 6. 最初と最後の頁 1 ~ 11 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18494/SAM.2019.2032 | 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 Tomita Shunsuke, Ishihara Sayaka, Kurita Ryoji | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 Biomimicry Recognition of Proteins and Cells Using a Small Array of Block Copolymers Appended with Amino Acids and Fluorophores | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 ACS Applied Materials & Interfaces | 6. 最初と最後の頁 6751 ~ 6758 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsami.8b18118 | 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 Tomita Shunsuke, Ishihara Sayaka, Kurita Ryoji | 4. 巻 17 |
| 2. 論文標題 A Multi-Fluorescent DNA/Graphene Oxide Conjugate Sensor for Signature-Based Protein Discrimination | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Sensors | 6. 最初と最後の頁 2194 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/s17102194 | 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 Tomita Shunsuke, Matsuda Ayumi, Nishinami Suguru, Kurita Ryoji, Shiraki Kentaro | 4. 巻 89 |
| 2. 論文標題 One-Step Identification of Antibody Degradation Pathways Using Fluorescence Signatures Generated by Cross-Reactive DNA-Based Arrays | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Analytical Chemistry | 6. 最初と最後の頁 7818 ~ 7822 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.7b01264 | 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 Tomita Shunsuke, Ishihara Sayaka, Kurita Ryoji | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Environment-Sensitive Turn-On Fluorescent Polyamino Acid: Fingerprinting Protein Populations with Post-Translational Modifications | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 ACS Applied Materials & Interfaces | 6. 最初と最後の頁 22970 ~ 22976 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsami.7b05360 | 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 Kurinomaru Takaaki、Kuwada Kengo、Tomita Shunsuke、Kameda Tomoshi、Shiraki Kentaro | 4. 巻 121 |
| 2. 論文標題 Noncovalent PEGylation through Protein?Polyelectrolyte Interaction: Kinetic Experiment and Molecular Dynamics Simulation | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B | 6. 最初と最後の頁 6785 ~ 6791 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.7b02741 | 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38件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 3件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 富田 峻介、石原 紗綾夏、栗田 僚二 |
| 2. 発表標題 交差反応性相互作用を活用したアレイ型タンパク質フィンガープリンティング |
| 3. 学会等名 第68回高分子学会年次大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 菅井祥加、富田峻介、石原紗綾夏、栗田僚二 |
| 2. 発表標題 生体試料の特徴パターンを出力する表面プラズモン共鳴センサチップの開発 |
| 3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第39回研究会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 菅井祥加、富田峻介、石原紗綾夏、栗田僚二 |
| 2. 発表標題 細胞の特徴パターンを出力する表面プラズモン共鳴センサの開発 |
| 3. 学会等名 Chem-Bio Joint Seminar 2019 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 岡田摩利、菅井祥加、富田峻介、栗田僚二 |
| 2. 発表標題 蛍光色素修飾 DNA を用いたマルチチャネル型センサアレイによるタンパク質の識別 |
| 3. 学会等名 Chem-Bio Joint Seminar 2019 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 岡田弘毅、三村 真大、富田峻介、栗田僚二 |
| 2. 発表標題 交差反応型ポリアミノ酸アレイ：相互作用調節因子の添加による応答パターンの多様化 |
| 3. 学会等名 Chem-Bio Joint Seminar 2019 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 富田 峻介 |
| 2. 発表標題 ブラックボックスのまま生物試料を認識する：ヒトの感覚機能を模倣したバイオセンシング |
| 3. 学会等名 第32回バイオメディカル分析科学シンポジウム（招待講演） |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 富田 峻介, 三村 真大, 白木 賢太郎, 栗田 僚二 |
| 2. 発表標題 DNA四重鎖構造によるヒストンの液-液相分離制御 |
| 3. 学会等名 第14回ナノ・バイオメディカル学会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 富田 峻介, 菅井 祥加, 三村 真大, 石原 紗綾夏, 白木 賢太郎, 栗田 僚二 |
| 2. 発表標題 蛍光DNAアレイを利用したプロテアーゼ複合体の生体模倣検出 |
| 3. 学会等名 第14回ナノ・バイオメディカル学会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 菅井祥加, 富田峻介, 石原紗綾夏, 吉岡恭子, 栗田僚二 |
| 2. 発表標題 表面プラズモン共鳴チップによるパターン認識に基づく培養細胞の非破壊的評価 |
| 3. 学会等名 第14回ナノ・バイオメディカル学会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 菅井祥加, 富田峻介, 石原紗綾夏, 吉岡恭子, 栗田僚二 |
| 2. 発表標題 マルチチャンネル表面プラズモン共鳴チップによる細胞特徴パターン情報の獲得 |
| 3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第40回研究会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 岡田摩利, 菅井祥加, 富田峻介, 栗田僚二 |
| 2. 発表標題 マルチカラーDNAプローブ群を用いたミニチュア化タンパク質認識システム |
| 3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第40回研究会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Hiroki Okada, Masahiro Mimura, Shunsuke Tomita, Ryoji Kurita |
| 2. 発表標題 Cross-reactive polyamino acid array: Diversification of response patterns by adding modulator molecules |
| 3. 学会等名 第29回日本MRS年次大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Shunsuke Tomita, Hiroka Sugai, Masahiro Mimura, Sayaka Ishihara, Kentaro Shiraki, Ryoji Kurita |
| 2. 発表標題 Biomimicry recognition of proteases using an array of fluorophore-modified DNAs |
| 3. 学会等名 第29回日本MRS年次大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Tomita Shunsuke |
| 2. 発表標題 Chemical tongue: Biomimicry sensing using arrays of synthetic polymers. |
| 3. 学会等名 2nd GLowing Polymer Symposium in KANTO (招待講演) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 菅井祥加, 富田峻介, 石原紗綾夏, 吉岡恭子, 栗田僚二 |
| 2. 発表標題 特徴パターンを出力可能な表面プラズモン共鳴チップによる非破壊的な細胞の評価 |
| 3. 学会等名 2019年度細胞アッセイ研究会シンポジウム |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 富田 峻介、松田 あゆみ、西奈美 卓、白木 賢太郎、栗田 僚二 |
| 2. 発表標題 抗体の劣化情報をフィンガープリントとして出力するDNA/酸化グラフェン複合体アレイ |
| 3. 学会等名 第67回高分子学会年次大会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 富田 峻介、松田 あゆみ、西奈美 卓、白木 賢太郎、栗田 僚二 |
| 2. 発表標題 DNA/酸化グラフェン複合体アレイによる抗体劣化経路の指紋ベース同定 |
| 3. 学会等名 第78回分析化学討論会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 富田 峻介、石原 紗綾夏、栗田 僚二 |
| 2. 発表標題 交差反応性相互作用を活用したアレイ型タンパク質フィンガープリンティング |
| 3. 学会等名 第18回日本蛋白質科学会年会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 三村 真大、富田 峻介、栗田 僚二、白木 賢太郎 |
| 2. 発表標題 治療用タンパク質の劣化状態を検出できるプローブアレイの開発 |
| 3. 学会等名 第18回日本蛋白質科学会年会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 富田 峻介 |
| 2. 発表標題 生体試料の多変量データセット獲得を可能にする分子ライブラリの設計 |
| 3. 学会等名 平成30年度 東日本分析化学若手交流会（招待講演） |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 三村 真大, 富田 峻介, 栗田 僚二, 白木 賢太郎 |
| 2. 発表標題 市販の蛍光色素を利用したパターン認識に基づくタンパク質および細胞識別法の開発 |
| 3. 学会等名 平成30年度 東日本分析化学若手交流会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 菅井 祥加, 富田 峻介, 石原 紗綾夏, 栗田 僚二 |
| 2. 発表標題 交差反応型蛍光ポリマーアレイを用いた培地中タンパク質の同定 |
| 3. 学会等名 平成30年度 東日本分析化学若手交流会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 富田 峻介 |
| 2. 発表標題 ヒトの認知機能をヒントにしたバイオ分析技術 |
| 3. 学会等名 第7回Chem-Bio Joint Seminar 2018（招待講演） |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---------------------------------------|
| 1. 発表者名 富田 峻介 |
| 2. 発表標題 生体試料の指紋様応答パターンを出力する高分子群の設計 |
| 3. 学会等名 日本分析化学会第67年会 (招待講演) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 三村 真大, 富田 峻介, 栗田 僚二, 白木 賢太郎 |
| 2. 発表標題 交差反応性蛍光色素アレイ: 応答パターンを利用する生体試料センシング |
| 3. 学会等名 日本分析化学会第67年会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 菅井 祥加, 富田 峻介, 石原 紗綾夏, 栗田 僚二 |
| 2. 発表標題 交差反応性蛍光ポリマーを用いたパターン認識に基づく培地中タンパク質の識別 |
| 3. 学会等名 日本分析化学会第67年会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Shunsuke Tomita, Sayaka Ishihara, Ryoji Kurita |
| 2. 発表標題 Optical fingerprint-based sensing of proteins using an environmentally-responsive fluorescent polymer |
| 3. 学会等名 9th ISAJ Symposium 2018 (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 菅井祥加、富田峻介、石原紗綾夏、栗田僚二 |
| 2. 発表標題 交差反応型蛍光性ポリマーを用いたパターン認識に基づく細胞の識別 |
| 3. 学会等名 細胞アッセイ研究会シンポジウム2018 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 富田 峻介、石原 紗綾夏、栗田 僚二 |
| 2. 発表標題 環境応答性高分子アレイによる生物試料の特徴パターン情報の出力/Generating characteristic patterns of biological samples using arrays of environmentally-responsive polymers |
| 3. 学会等名 日本化学会第99春季年会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 富田 峻介 |
| 2. 発表標題 タンパク質の特徴情報を出力できる高分子アレイを利用したバイオメトリクス技術 |
| 3. 学会等名 JST新技術説明会（招待講演） |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 富田 峻介 |
| 2. 発表標題 機械学習を活用したタンパク質分析法の開発と細胞評価への応用 |
| 3. 学会等名 日本分析化学会第66年会（招待講演） |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 非特異的な相互作用を活用する タンパク質の特徴パターンを出力できる分子群による生体試料メトリクス |
| 2. 発表標題 富田 峻介 |
| 3. 学会等名 蛋白研セミナー：産業応用を志向するタンパク質溶液研究（招待講演） |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 アレイ型タンパク質フィンガープリント技術を利用したバイオセンシング |
| 2. 発表標題 富田 峻介 |
| 3. 学会等名 第2回TIA-TLSKライフイノベーションWS（招待講演） |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 富田 峻介、石原 紗綾夏、栗田 僚二 |
| 2. 発表標題 タンパク質の特徴情報を出力する環境応答性蛍光ポリアミノ酸の開発 |
| 3. 学会等名 第66回高分子学会年次大会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Shunsuke Tomita, Sayaka Ishihara, Ryoji Kurita |
| 2. 発表標題 Environment-sensitive polymers for fingerprinting of protein characteristics |
| 3. 学会等名 ISPAC2017（招待講演）（国際学会） |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 富田 峻介、石原 紗綾夏、栗田 僚二 |
| 2. 発表標題 タンパク質の特徴パターンを出力可能な交差反応性ポリマー群の開発 |
| 3. 学会等名 第11回バイオ関連化学シンポジウム |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 富田 峻介、石原 紗綾夏、栗田 僚二 |
| 2. 発表標題 交差反応性蛍光ポリアミノ酸群を用いたタンパク質フィンガープリンティング法の開発 |
| 3. 学会等名 第32回高分子学会関東支部茨城地区若手の会交流会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Shunsuke Tomita, Sayaka Ishihara, Ryoji Kurita |
| 2. 発表標題 An environment-sensitive fluorescent polyamino acid for fingerprint-based protein profiling |
| 3. 学会等名 ACS National Meeting & Expo (国際学会) |
| 4. 発表年 2017年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 Vincenzo Piemonte (Editor), Angelo Basile (Editor), Taichi Ito (Editor), Luigi Marrelli (Editor) | 4. 発行年 2018年 |
| 2. 出版社 John Wiley & Sons, Inc | 5. 総ページ数 256 |
| 3. 書名 Biomedical Engineering Challenges: A Chemical Engineering Insight | |

〔出願〕 計2件

| | | |
|---------------------------------------|-----------------------|------------------|
| 産業財産権の名称 マルチチャンネル型センサチップを用いた試料評価方法 | 発明者 菅井祥加、富田峻介、栗田僚二 | 権利者 産業技術総合研究所 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-093043 | 出願年 2019年 | 国内・外国の別 国内 |

| | | |
|-------------------------------------|----------------------------|----------------------|
| 産業財産権の名称 タンパク質を含有する試料の分析方法 | 発明者 富田峻介、石原紗綾 夏、栗田僚二 | 権利者 産業技術総合研 究所 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2017/040542 | 出願年 2017年 | 国内・外国の別 外国 |

〔取得〕 計0件

〔その他〕

| |
|---|
| Bio/synthetic polymer team https://staff.aist.go.jp/s.tomita/ |
|---|

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 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|