

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H04686

研究課題名（和文）超高感度細胞膜抗原検出法の開発とがんコンパニオン診断への応用

研究課題名（英文）Development of ultrasensitive detection method for cell membrane antigen and its application to cancer companion diagnosis

研究代表者

片山 佳樹 (Katayama, Yoshiki)

九州大学・工学研究院・教授

研究者番号：70284528

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 31,200,000円

研究成果の概要（和文）：申請時に開発していた酵素増感法で検討したところ、感度向上を達成したが、内在する酵素活性によるバックグラウンドの上昇がみられ、そこれがさらなる感度向上を阻害することが分かった。そこで、ヒト細胞に内在活性が存在しない酵素を利用することを発想し、探索により細菌類や植物が保有し、哺乳類には内在活性のないヒト直交性酵素を8種取得することに成功した。これらの酵素のうち一つに対するクマリン型基質プローブを作成して検討したところ、バックグラウンドが抑えられることで感度が大きく向上できた。さらに多色化のため、キノンメチドが生じるユニットを蛍光基から独立させたプローブ構造を発案し、クマリン型で合成に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんコンパニオン診断は、個々のがんにおいて有効な制癌剤を選定するために必要不可欠であるが、現在、有効な手段がなく、薬剤の奏効率が低いことが大きな問題である。有効な診断法の開発を阻んでいる原因は、がんの機能(タイプ)を詳細に識別するために必要ながん細胞上の膜抗原の検出において、発現量が低く有効な検出法が存在しないことである。本研究の成果は、酵素増感法とバックグラウンドを抑える内在活性のないヒト直交性酵素の利用という新規な分析法の開発により、この問題を解決できたことであり、これにより原理的にはコンパニオン診断が可能になり、分析化学的にも社会的にも大きな意義がある。

研究成果の概要（英文）：When we investigated the enzyme sensitization method that we had developed at the time of application, we found that the background increased due to the endogenous enzyme activity, which inhibited further sensitivity improvement, although we achieved improved sensitivity. Therefore, we came up with the idea of using enzymes that do not have endogenous activity in human cells, and through a search we succeeded in obtaining eight human orthogonal enzymes that are possessed by bacteria and plants and have no endogenous activity in mammals. When we created and investigated a coumarin-type substrate probe for one of these enzymes, we were able to significantly improve sensitivity by suppressing background. Furthermore, in order to achieve multiple colors, we devised a probe structure in which the quinone methide generating unit is independent from the fluorescent group, and succeeded in synthesizing it in the form of a coumarin.

研究分野：分析化学

キーワード：がん診断 フローサイトメトリー 膜抗原 臨床診断 コンパニオン診断 蛍光法 酵素増感法 ELISA

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

制がん剤の投薬においてはその薬が、個々の患者のがんに有効であるかどうかを判断するコンパニオン診断が不可欠である。そのためには、細胞膜上のタンパク質である膜抗原は最良の診断標的であると期待できる。ところが、現状では、臨床サンプルで細胞膜抗原を正確に定量できる手法は現在のところほとんど存在しない。申請者は、この問題を解決するために、申請時までに加水分解酵素の反応により水溶性から疎水性に変化する独自の蛍光基質分子を用いる高感度検出法（CARP法・Catalyzed Reporter Penetration）（*Anal. Chem.*, **90**, 1059, 2018）や、酵素反応により細胞成分（タンパクなどのアミノ基）に対する反応性を獲得して、一度細胞内に集積した色素の再脱離を完全に抑制する CLAMP 法を開発するに至った（*Bioconju. Chem.*, **31**, 1740, 2020）（右図）。CLAMP 法では、実際に従来の FCM における蛍光抗体法では検出不可能な免疫チェックポイント抗原であるがん細胞上の PD-L1 などの膜抗原を高感度に検出でき、しかも、それ以外の細胞の混合物の中でも陽性細胞のみを色移りなしに検出することに成功し、商品化も決定した。ただ、膜抗原を用いてがんのタイピングを行う場合には、複数種の膜抗原を評価する必要がある、これを同時に行えるようにするためには、複数種の加水分解酵素とそれぞれに対する異なる蛍光波長の基質プローブが必要となる。他の波長の蛍光基に展開して多色化を目指す場合、申請時の設計では、蛍光基の疎水性の影響で酵素反応前からプローブが細胞に透過してしまう問題があり、多種類の酵素に適用する場合には、酵素反応により高水溶性から反応性の獲得すると同時に膜透過性に大きく性質を変換できる新しい普遍性のある分子プローブ設計指針の確立が急務であった。

2. 研究の目的

そこで、本研究では、低発現量の膜抗原を複数種同時に定量可能な、一般性のある酵素増感法は実現可能か、それにより真に実用的ながんコンパニオン診断の創成は可能かという根源的な「問い」をたて、特に重要な未踏課題—①普遍的で高感度な蛍光プローブ分子の設計指針の確立、②それらを用いた膜抗原検出システムの確立に的を絞り、以下の内容を目的とした。

すなわち、これまで不可能であった FCM における多色酵素増感システムを開発し、従来法では検出・定量ができなかった低発現量膜抗原を複数同時に検出可能な新規分析法の開発と、実際のがんコンパニオン診断への適用可能な原理を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

蛍光基質プローブの開発

まず、申請時点で開発していた β -ガラクトシダーゼに応答するクマリン型蛍光基質の改良を行い、感度の向上を試みた。

これにより感度の向上を実現したが、従来の臨床診断で用いられてきた酵素は、細胞試料を想定されておらず、内在活性が存在するためこれが検出感度向上の妨げになることが明らかとなったため、ヒト細胞に存在しない新たな酵素（ヒト直交性酵素）を探索する必要性が生じた。ヒト直交性酵素の探索では、まず、基質特異性、多様性を鑑み、糖加水分解酵素に的を絞り、酵素データベースを用いて種々の生物種から必要な条件を満たす酵素を探索した。条件を満たした酵素に関しては、その遺伝子を手し、発現プラスミドに組み込んだ餅、大腸菌を用いて発現、HisTag 法を用いて精製した。さらに、選択された酵素に対する基質プローブを合成し、実際にヒト細胞での内在活性を評価した。また、多色検出のためには複数の酵素を同時に用いる必要があるため、同様のプローブを用いて、酵素間での交差反応性も評価した。

さらに選定されたヒト直交酵素基質の合成に関しては、まず、スルホキノボシダーゼに対する基質を設計し合成した。発色型基質の合成経路は以下のスキームによった。また、クマリン型蛍光基質についても同様の反応スキームに従った。他の酵素についても同様に合成した。ただし、スルホキノボシダーゼに関しては、酵素反応に問題があり、アルファホールドソフトを利用して、酵素基質ポケットと基質分子の結合モードを検討し、その結果から新規な基質を合成した。

当初、蛍光プローブ合成はクマリン型を採用して合成検討を上述の通り行ったが、その後、多色検出に展開するためフルオレセインやレゾルフィンに同様の分子設計を適用したが、合成に難があった。そこで、より一般的な蛍光基質を設計して、合成を検討した。

ヒト直交性酵素の探索

検討の途中で、従来の臨床診断用酵素では細胞の内在活性が検出を阻害することが明らかとなった。そこで、データベースを基に、必要な条件を満たす酵素を探索し、ヒト細胞に活性が存在しない9種のヒト直交性酵素を見出した。これらの酵素は大腸菌からの発現に成功し、活性評価、内在活性、交差反応性の有無の確認を行った。

フローサイトメトリーを用いた検討

調整したヒト直交性酵素は、ビオチン-ストレプトアビジンシステムを利用して抗体に標識した。すなわち、抗体及び酵素をビオチン標識剤(活性エステル)で標識して、標識数を評価後、両者をストレプトアビジンで連結して標識体を得た。混合比は、検出シグナル強度を用いて最適化した。CLAMP法の評価は、がん細胞をパラホルムアルデヒドで固定化してから、低発現膜抗原としてCD44を標的抗原として検出能を評価した。

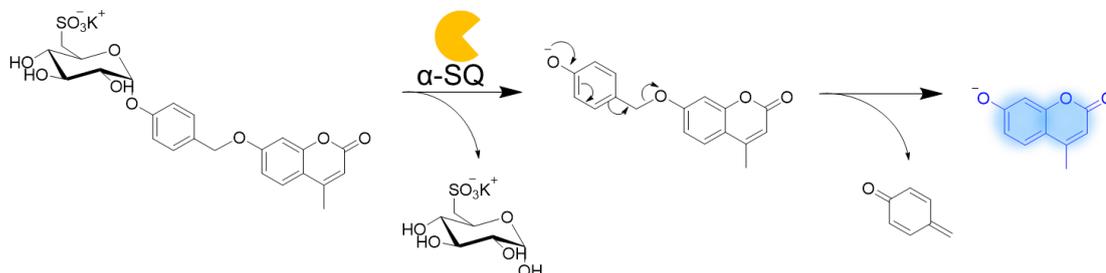
Cell ELIZAを用いた検討

CLAMP法では、酵素反応後生成する蛍光基が細胞に集積する必要があるが、Cell ELIZAでは、その必要がないため基質設計や合成がより簡便であるため、こちらも検討した。Cell ELIZA用の蛍光基質プローブは、前ページに占められた合成スキームに従って異なる蛍光基を導入することで合成した。

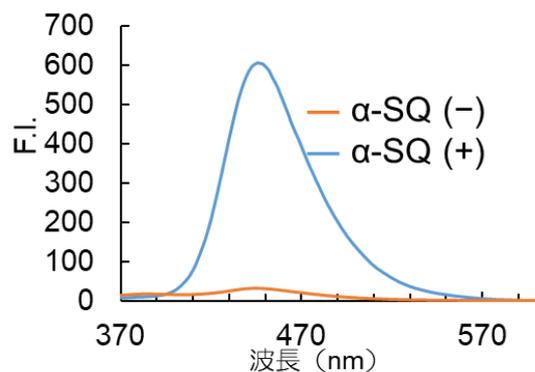
4. 研究成果

蛍光基質プローブの開発

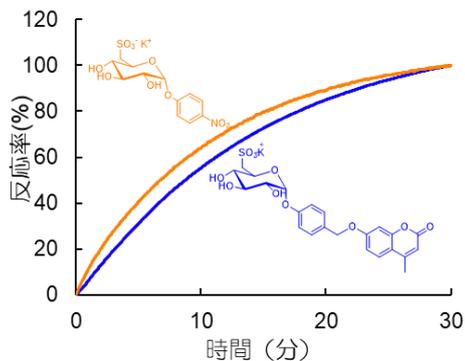
蛍光基質の合成に関しては、糖に蛍光基を直結させる合成は、発色型(ニトロフェノール型)及びクマリン型ではいずれに酵素に対する基質でも問題なく合成を達成した。しかしながら、酵素反応を検討したところ、 α -スルホキノボシダーゼに対する基質においてのみ、クマリン型(蛍光基質)とすると、酵素反応が進まないことが分かった。原因をアルファフォールドを用いて検討したところ、他の酵素と異なり、 α -スルホキノボシダーゼは基質ポケットが深く、しかも入口



が狭いため、比較的小さばらないニトロフェノール型基質ではポケットに収まるが、クマリン型では立体的に問題があることが明らかとなった。そこで、クマリンと糖の間に嵩張りの少ないフェニレンリンカーを挿入したプローブを設計合成した(下図)。この場合はクマリン骨格が基質



蛍光スペクトル変化



反応率の時間変化

ポケットの外に出た状態で糖が活性サイトに結合できる。しかも、糖が切断されると、フェニレンリンカーも自発的に解離するので、蛍光基を遊離できる。その結果、以下の図に示すように、ニトロフェノール型の遜色のない基質となることを見出した。すなわち、酵素反応前は無蛍光であるが、スルホキノボシダーゼを添加するとクマリンの蛍光が回復し(左図)、その蛍光回復のタイムコースもニトロフェノール型とほぼ一致した(右図)。

一方、CLAMP 型の基質では、クマリン以外の蛍光基に適用すると、蛍光基にフルオロメチル基をフェノール性水酸基のオルト位に導入せねばならず、合成が困難を極めた。そこで、下図のように蛍光基と CLAMP 反応により細胞に結合するキノンメチド体となるフルオロメチル基部分を分離した基質分子を設計成功した。

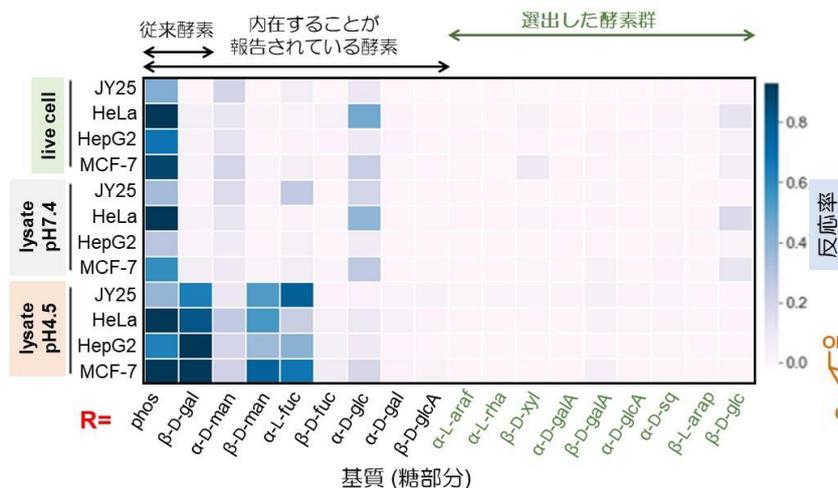
ヒト直交性酵素の探索

細胞での膜抗原検出を詳細に検討したところ、フローサイトメトリーにおいて、非常に低発現の抗原を検出する場合には、酵素標識抗体を加えなくても蛍光シグナルの上昇がみられバックグラウンドが上がってしまい感度が稼げない問題が生じた。この原因は、細胞に内在する酵素活性に基質型蛍光プローブが反応してしまうことによることが分かった。すなわち、細胞に内在活性のない酵素を用いることが本研究の目的達成には不可欠であることが明らかとなった。

そこで、まず、CAZypedia(酵素データベース)から糖加水分解酵素に着目し、ヒトに内在しない 61 種の候補を抽出した。さらに、同一の条件で高活性で使用できる酵素を Expaty, HUMAN PROTEIN ATLAS から探索して 20 種を見出した。この 60 種を対象に BRENDA から交差反応しない可能性の高い酵素を最終的に 9 種選別した。

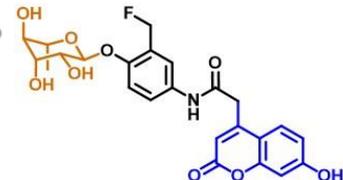
実際にこの 9 種の酵素を大腸菌から発現して生成することに成功し、種々の細胞で各酵素の発色基質を添加して内在活性を調べたところ、下に示すように従来の酵素や、内在が報告された酵素では大きな交差反応性が見えたが、今回の 9 種の酵素は事実上、内在活性がないことが分かった。さらに、9 種の酵素間での基質の交差反応性も見られず、酵素活性も kcat/Km が 10^5 オーダーと、臨床診断に最適な酵素であることが示された。

これらの酵素はいずれも細菌や植物由来の酵素であり、ヒトが基質として利用しない糖を基質としている。また、ヒト細胞への非特異吸着を評価したところ、酵素が由来する菌株によって性質が異なることが分かり、最終的に非特異吸着が無視できる 8 種の酵素を取得した。



このうち、 α -L-ラムノシダーゼ、 α -L-アラビノフラノシダーゼ、 β -D-キシロシダーゼの 3 種を選び、その蛍光基質を合成し、目的物を得た。

このうち、 α -L-ラムノシダーゼ、 α -L-アラビノフラノシダーゼ、 β -D-キシロシダーゼの 3 種を選び、その蛍光基質を合成し、目的物を得た。

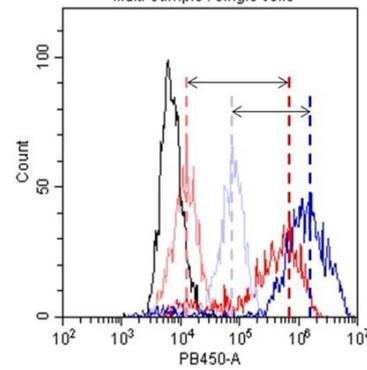


ヒト直交性酵素 従来酵素
 α -L-ラムノシダーゼ β -ガラクトシダーゼ
■ 検出シグナル ■ 検出シグナル
■ 内在活性によるシグナル ■ 内在活性によるシグナル
■ 非染色バックグラウンド

例として、下図にラムノシダーゼに対するクマリン型基質プローブを適用して、がん細胞上の CD44 を検出した例を示す。内在活性が存在する従来の β -ガラクトシダーゼを用いた場合と比較してバックグラウンドの大幅な低減の達成に成功した。すなわち、このヒト直交性酵素科学を追求することで、従来固定されてきた酵素の臨床診断に新たな道を拓き、細胞や組織でのこれまで不可能であった診断が可能になることが期待できる。

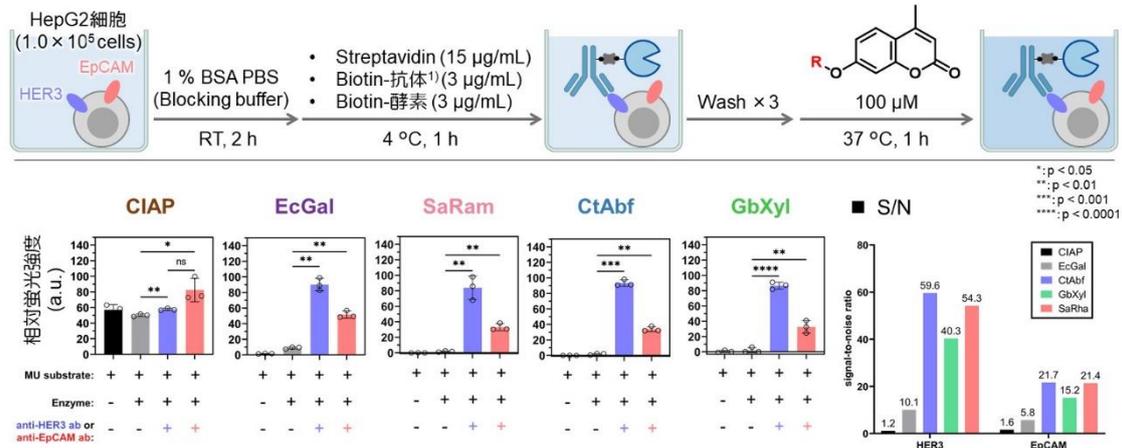
フローサイトメトリーでの検討

ラムノシダーゼを用いて、クマリン型蛍光プローブを適用してがん細胞上の CD44 の検出を行った。上述したようにバックグラウンドの低減が達成できた。また、HepG2 細胞をあらかじめフルオレセインで染色しておき、未染色のがん細胞 (HeLa) 上の CD44 を検出したところ、HeLa が青色の蛍光で染色され、緑の蛍光を有する HepG2 細胞へのクマリン蛍光の漏れ込みは見られなかった。すなわち、本検出系は、標的抗原を有する細胞のみを特異的に染色でき、染色後も蛍光分子は細胞から漏れ出して拡散することはないことを示すことができた。また、検出条件の最適化も検討したところ、これらの酵素では、pH を 6 程度にすることでさらに感度が向上することも明らかとなった。



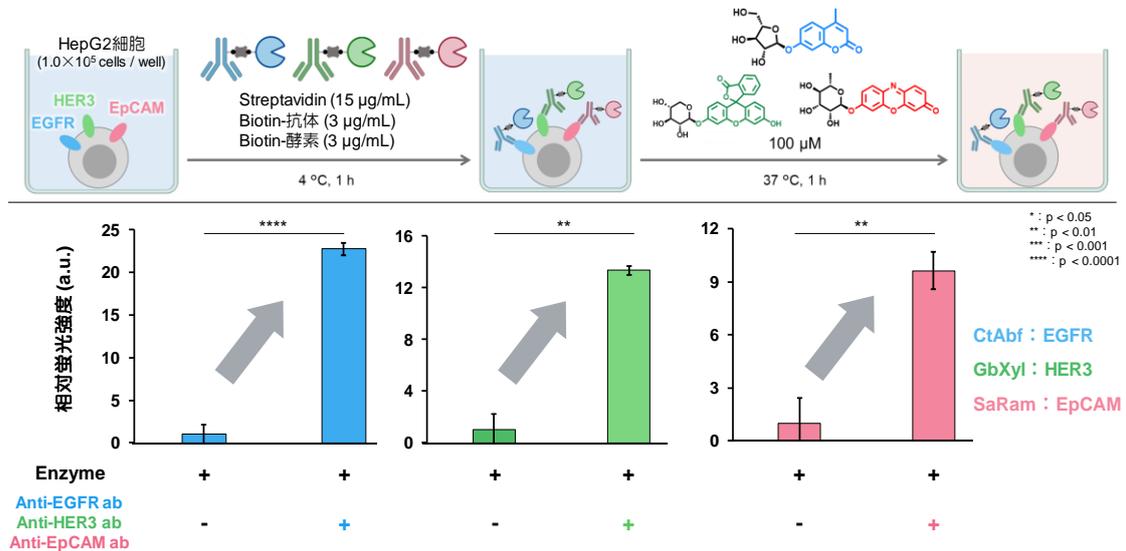
Cell ELISA への適用検討

Cell ELISA への適用では、開講基質型プローブは単純に対象となる糖を蛍光基に直結させることでデザインできるので、こちらも検討した。まず、クマリン型基質により、種々の酵素を用いた場合の HER3 と EpCAM の検出を検討した。下図に示すように従来の酵素であるアルカリホスファターゼでは大きなバックグラウンドが生じた(一番左)がラムノシダーゼ、アラビノフラノシダーゼ、キシロシダーゼでは、まったくバックグラウンドは生じず、良好な検出が達成された。



定量性についても検討したが、いずれの酵素も標的タンパク質を定量的に検出可能であることもわかった。

そこで、最後に、ラムノシダーゼ、アラビノフラノシダーゼ、キシロシダーゼに対する 3 色の異なる蛍光波長の基質型蛍光プローブを合成した。これらのプローブを用いて、EGFR、HER3、EpCAM の 3 種の膜抗原の 3 波長同時検出を検討した。その結果、下図に示す通り、3 種のタンパクを良好に検出することに成功した。さらに、がんの悪性化と転移に関係する上皮・間葉転移における抗原の発現量変化を分析できるかを検討したところ、細胞の機能変化位に応じた抗原発現量の変化を捉えることにも成功し、本研究の当初の目的を達成した。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 金子 諒右, 森 健, 片山 佳樹	4. 巻 71
2. 論文標題 細胞・組織のバイオ分析における増感酵素	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 分析化学	6. 最初と最後の頁 101-107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/bunsekikagaku.71.101	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 A. Koga, C. Tateishi, R. Kaneko, N. nii, A. Kishimura, T. Mori, Y. Katayama	4. 巻 148
2. 論文標題 A human cell orthogonal enzyme beta-D-galacturonidase for sensitive detection of antigen proteins	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Analyst	6. 最初と最後の頁 1237-1244
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D3AN00314K	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 T. Nobori, A. Kishimura, T. Mori, Y. Katayama	4. 巻 21
2. 論文標題 A FRET-based Protein Kinase Assay using Phos-tag-modified Quantum Dots and Fluorophore-labeled Peptides	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anal. Sci.	6. 最初と最後の頁 1361-1366
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.20P443	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 R. Kaneko, T. Oda, R. Yoshida, C. Tateishi, K. Tanito, T. Nii, A. Kishimura, N. Kamiya, T. Mori, Y. Katayama	4. 巻 50
2. 論文標題 , -L-Arabinofuranosidase as an orthogonal enzyme for human cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chem. Lett.	6. 最初と最後の頁 1493-1495
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.210231	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 R. Kaneko, M. Kawamura, A. Kishimura, T. Mori, Y. Katayama	4. 巻 37
2. 論文標題 Effect of chloroacetyl modification on the suppression of dissociation of a fluorescent molecule from cells for antigen-specific cell staining	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anal. Sci.	6. 最初と最後の頁 529-532
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.20SCN03	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 金子諒介、森 健、片山佳樹	4. 巻 71
2. 論文標題 細胞・組織のバイオ分析における増感酵素	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 分析化学	6. 最初と最後の頁 101-108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計33件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 片山佳樹
2. 発表標題 超清潔社会で急増する慢性炎症性疾患を標的とする免疫制御システム
3. 学会等名 アジア機構・ブラウンバックセミナー (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 片山佳樹
2. 発表標題 慢性炎症疾患を対象とする免疫制御システム
3. 学会等名 未来医学研究会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 古賀朗寛、立石宙也、松浦淳紘、金子諒右、新居輝樹、岸村顕広、森健、片山佳樹
2. 発表標題 バイオ分析に適したヒト直交性酵素 ガラクツロニダーゼの開発
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 立石宙也、金子諒右、谷戸謙太、山中皓太、新居輝樹、岸村顕広、森健、片山佳樹
2. 発表標題 生細胞上の複数種タンパク質の同時検出を可能にする酵素増感法の開発
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 金子諒右、立石宙也、谷戸謙太、山中皓太、神谷典穂、竹川薫、新居輝樹、岸村顕広、森健、片山佳樹
2. 発表標題 「ヒト直交性酵素」の酵素・基質群の開発と細胞のマルチカラー相関分析への応用
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 山中皓太、金子諒右、立石宙也、谷戸謙太、新居輝樹、岸村顕広、神谷典穂、竹川薫、森健、片山佳樹
2. 発表標題 細胞膜たんぱく質の同時多色検出を可能にする「ヒト細胞直交性」加水分解酵素の開拓
3. 学会等名 第59回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山中皓太、金子諒右、立石宙也、谷戸謙太、新居輝樹、岸村顕広、神谷典穂、竹川薫、森健、片山佳樹
2. 発表標題 細胞膜たんぱく質の同時多色検出を可能にする「ヒト細胞直交性」加水分解酵素の開拓
3. 学会等名 第82回分析化学討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 片山佳樹
2. 発表標題 ヒト直交性酵素とシグナル増感システムを用いるコンパニオン診断のための膜抗原検出システム
3. 学会等名 ものづくり技術交流会2022（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鬼澤諒介、榎井美咲、小野啓一郎、野口克也、下村隆、大内雄也、石山宗孝、志賀匡宣、上野右一郎、新居輝樹、岸村顕広、森健、片山佳樹
2. 発表標題 フローサイトメトリーに適した酵素増感用蛍光基質の開発と白血病診断への応用
3. 学会等名 第82回分析化学討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金子諒右、立石宙也、谷戸謙太、山中皓太、神谷典穂、竹川薫、新居輝樹、岸村顕広、森健、片山佳樹
2. 発表標題 バイオ分析に適した「ヒト細胞直交性酵素」群の開拓
3. 学会等名 第82回分析化学討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 立石 宙也・榊井 美咲・小野 啓一郎・野口 克也・下村 隆・大内 雄也・石山 宗孝・志賀 匡宣・上野 右一郎・岸村 顕広・森 健・片山 佳樹
2. 発表標題 フローサイトメトリーに適した励起波長を有する蛍光性基質を用いた酵素増感による抗原検出
3. 学会等名 第81回分析化学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金子 諒右 織田剛史 吉田良祐 立石宙也 岸村 顕広 森 健 片山 佳樹
2. 発表標題 生細胞の低発現膜タンパク質の複数同時検出を目指した酵素抗体法の開発
3. 学会等名 第81回分析化学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金子諒右、織田剛史、吉田良祐、立石宙也、谷戸謙太、新居輝樹、岸村顕広、神谷典穂、森健、片山佳樹
2. 発表標題 バイオ分析に利用可能なヒト細胞直交性の加水分解酵素の開拓
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 立石宙也、金子諒右、織田剛史、吉田良祐、岸村顕広、森健、片山佳樹
2. 発表標題 細胞上の複数種タンパク質の同時多色蛍光検出を可能にする酵素増感法
3. 学会等名 第58回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金子諒右、立石宙也、谷戸健太、新居輝樹、岸村顕広、森健、片山佳樹
2. 発表標題 バイオ分析に利用可能な「ヒト細胞直交性」の加水分解酵素の開拓
3. 学会等名 第15回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 立石 宙也・金子 諒右・新居 輝樹・岸村 顕広・森 健・片山 佳樹
2. 発表標題 生細胞上の複数種タンパク質の同時多色検出を可能にする糖加水分解酵素を用いた酵素増感法の開発
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 榊井 美咲・野口 克也・下村 隆・大内 雄也・石山 宗孝・志賀 匡宣・上野 右一郎・新居 輝樹・岸村 顕広・森 健・片山 佳樹
2. 発表標題 酵素増感反応を利用するキノメチド型蛍光基質の白血病コンパニオン診断への適用
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 片山佳樹
2. 発表標題 免疫を標的とする診断法・治療法
3. 学会等名 第4回ナノ理工学情報交流会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金子諒右、立石宙也、谷戸健太、山中皓太、新居輝樹、岸村顕広、森健、片山佳樹
2. 発表標題 ヒト直交性酵素による細胞状態の多色定量分析と上皮間葉転換の評価への応用
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 古賀 朗寛、立石 宙也、松浦 淳紘、金子 諒右、谷戸 謙太、新居 輝樹、岸村 顕広、森 健、片山 佳樹
2. 発表標題 高親水性分子を基質とするヒト直交性酵素 -ガラクトツロニダーゼ：ヒト細胞中の抗原検出への適用
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 金子諒右、立石宙也、谷戸謙太、山中皓太、新居輝樹、岸村顕広、森健、片山佳樹
2. 発表標題 ヒト直交性酵素とturn on 型蛍光基質を用いたワンポットマルチカラー細胞分析
3. 学会等名 第34回生体機能関連化学部会若手の会サマースクール
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 古賀 朗寛、立石 宙也、松浦 淳紘、金子 諒右、谷戸 謙太、新居 輝樹、岸村 顕広、森 健、片山 佳樹
2. 発表標題 高親水性分子を基質とする新規ヒト直交性酵素の開発
3. 学会等名 第34回生体機能関連化学部会若手の会サマースクール
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 金子諒右、立石宙也、谷戸謙太、山中皓太、新居輝樹、岸村顕広、森健、片山佳樹
2. 発表標題 細胞状態の迅速かつ精密な定量分析を可能にする「ヒト直交性」酵素群の開拓
3. 学会等名 第39回若手研究講演会、第41回夏季セミナー
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山中 皓太・金子 諒右 ・立石 宙也・谷戸 謙太・新居 輝樹・岸村 顕広・森 健・片山 佳樹
2. 発表標題 ヒト細胞に活性が内在せず非特異吸着もしない「ヒト直交性酵素」による Cell-ELISA の S/N 比改善
3. 学会等名 第39回若手研究講演会、第41回夏季セミナー
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 金子諒右、立石宙也、谷戸謙太、山中皓太、古賀朗寛、新居輝樹、岸村顕広、森健、片山佳樹
2. 発表標題 細胞上でのダイレクトな増感分析を可能にする「ヒト直交性酵素」によるマルチカラー解析と上皮間葉転換の評価への応用
3. 学会等名 第17回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 古賀 朗寛、黒田 晃大、宮崎 裕之、金子 諒右、山中 皓太、新居 輝樹、岸村 顕広、森 健、片山 佳樹
2. 発表標題 「ヒト直交性酵素」に应答して標的細胞を染色する共有結合型蛍光性基質の開発
3. 学会等名 第17回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 片山佳樹、金子諒右、山中皓太、立石宙也、古賀朗寛、谷戸謙太、新居輝樹、岸村顕広、森健
2. 発表標題 ヒト直交性酵素の探索と細胞膜抗原の多色検出応用
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 山中 皓太、金子 諒右、立石 宙也、谷戸 謙太、新居 輝樹、岸村 顕広、森 健、片山 佳樹
2. 発表標題 ヒト細胞に活性が内在せず非特異吸着もしない「ヒト直交性酵素」によるCell-ELISAのS/N比改善
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 黒田 晃大、古賀 朗寛、宮崎 祐之、金子 諒右、山中 皓太、新居 輝樹、岸村 顕広、森 健、片山 佳樹
2. 発表標題 ヒト直交性酵素に反応して抗原タンパク質を検出するキノンメチド沈着型蛍光プローブの開発
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 金子諒右、立石宙也、谷戸謙太、山中皓太、古賀朗寛、新居輝樹、岸村顕広、森健、片山佳樹
2. 発表標題 ヒトが持たない糖加水分解酵素の探索とその基質特異性を利用したマルチカラー分析システムの構築
3. 学会等名 日本応用糖質科学会2023年度(第72回)大会・応用糖質科学シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 金子諒右、立石宙也、谷戸謙太、山中皓太、古賀朗寛、新居輝樹、岸村顕広、森健、片山佳樹
2. 発表標題 Multi-colored quantification analysis directly on cell by human-orthogonal enzymes
3. 学会等名 2023 Kyushu-Seibu / Pusan-Gyeongnam (KSPG2023)Joint Symposium on High Polymers(20th)and Fibers(18th (国際学会))
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 古賀 朗寛、黒田晃大、宮崎祐之、金子諒右、山中皓太、新居 輝樹、岸村 顕広、森 健、片山 佳樹
2. 発表標題 「ヒト直交性酵素」に应答して細胞を標識可能な蛍光性基質の開発
3. 学会等名 第23回フロンティア生命化学研究会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 片山佳樹
2. 発表標題 新しい自立型社会保障システムを目指すラーニングヘルスシステムとオープンサイエンスプラットフォーム
3. 学会等名 日本化学会第104春季年会 (招待講演)
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 片山佳樹(共著)	4. 発行年 2022年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 648
3. 書名 高分子材料の事典(2-13 ドラッグデリバリーシステム)	

1. 著者名 片山佳樹(共著)	4. 発行年 2021年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 10
3. 書名 創薬研究者・アカデミア研究者が知っておくべき最新の免疫学とその応用技術	

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 哺乳類直交性酵素群及びその利用	発明者 片山佳樹・森健	権利者 九州大学
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2022/19229	出願年 2022年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 哺乳類直交性酵素群及びその利用	発明者 片山佳樹・森健	権利者 九州大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-084190	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	馬場 英司 (Baba Eiji) (00315475)	九州大学・医学研究院・教授 (17102)	
研究分担者	森 健 (Mori Takehsi) (70335785)	九州大学・工学研究院・准教授 (17102)	

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