

伊藤ナノ医工学研究室
Nano Medical Engineering Laboratory

主任研究員 伊藤嘉浩 (工学博士)
ITO, Yoshihiro (Dr. Eng.)



キーセンテンス：

1. ナノ診断システムの構築
2. ナノ治療システムの構築
3. 先進「バイオものづくり」基盤技術の確立

キーワード：

人工臓器工学、医用材料、生体機能材料、再生医工学材料、薬物伝達システム、ナノ表面界面、分子デバイス、生体機能関連物質、生物活性分子の設計・合成

研究目的

当研究室では、化学的手法と生物工学的手法を融合させた「バイオものづくり」の方法論の確立と、それによる機能性材料の開発を目指している。方法論として、コンビナトリアル・ケミストリー、進化分子工学、高分子工学、有機合成化学、核酸科学、ハイブリッド材料工学、遺伝子・タンパク質工学、微細加工工学、ナノテクノロジーなどの手法を駆使して新しい材料、方法論を生み出し、その性能を評価するとともに、再生医療、遺伝子診断、遺伝子治療、ナノメディシン、バイオチップ、バイオエレクトロニクス、人工酵素、人工抗体、バイオマテリアルへの応用展開を図っている。

1. 診断用ナノ医工学

(1) マイクロアレイ・バイオチップの開発 (伊藤、田代、松下)

様々な生体高分子をマイクロアレイ固定化できる技術を開発し、その技術を用いてバイオチップの作成を行い、疾患診断用として役立つことを目標に研究を進めた。具体的には、自己免疫疾患診断用としての性能の評価を従来の測定法との比較として行い、高い相関性を明らかにした。マイクロチップの小型化や量産化を図るとともに、新規に多サンプル並行処理のための自動化学発光測定器を設計・製作した装置を用いて臨床応用を主眼にヒト・サンプルでの評価を行い、主に再現性の高いデータの取得を目指した。

(2) 生細胞内遺伝子および官能基検出法 (伊藤、阿部、柴田)

DNAプローブに化学反応基を修飾することにより、鋳型配列特異的に2つのDNAプローブの化学的連結反応を起こすことができる。本反応を用いて、遺伝シグナルの検出・増幅に成功し、細胞内イメージングのための新規蛍光化合物を様々な合成した。そして、遺伝子発現の異なる微生物分離に成功した。さらに、細胞内チオール検出のための新規蛍光化合物の合成に成功し、スウェーデンのカロリンスカ研究所との共同研究に発展した。

2. 治療用ナノ医工学

(1) 再生医療用幹細胞の調製 (伊藤、Gong、藤城)

核移植法や遺伝子導入法による作成以外の方法論で体細胞クローン化ES様細胞の調製を目指して検討を行った。具体的には、細胞融合法で作成される4倍体の体細胞由来ES様細胞からの脱核の方法を種々検討した。

(2) 結合性成長因子の創成 (伊藤、阿部、和田、北嶋、櫻木、白井)

組織接着性の成長因子、サイトカインを合成し、その組織接着性の評価を行うとともに細胞増幅の促進を評価した。また、無機・金属材料表面に結合する成長因子の合成のために新しい有機合成法と遺伝子組み換え法を融合したタンパク質合成法の開発、材料表面の処理方法について検討を行った。

(3) 新しい機能性核酸の合成 (伊藤、阿部、柴田、阿部奈保子)

ダンベル型の生体内安定性の高いRNA分子の合成に成功し、さらにRNA干渉効果の最適化を検討した。また、その他の環状RNAの合成に成功し、新たな機能を観測することができた。一方、プロドラッグ型DDSについても検討を行った。

研究年報

(4) バイオ接着材料の創成 (伊藤)

タンパク質や多糖のような生体高分子を主成分とする誘導体を合成し、その接着剤としての性能評価を行った。

3. シンセチック・バイオロジー手法による機能性分子の創製研究

(1) 光応答性分子認識核酸アプタマーの合成 (伊藤、阿部、和田、劉)

側鎖にアゾベンゼンをもつヌクレオチドを用いた進化分子工学の適用を可能にし、ターゲット分子に結合し、光に応答して吸脱着するアプタマーの合成に成功した。

(2) 有機合成用触媒の開発 (伊藤、阿部、和田、劉、阿部奈保子)

オリゴ核酸を用いて部位特異的や光学活性な化合物を有機合成するためのテーラーメイド型触媒を創成することを目指した。オリゴ核酸をポリエチレングリコールで修飾すると有機溶媒に可溶化して、有機溶媒中で水中とは異なるコンフォメーションを形成することが明らかとなり、触媒活性をもつことがわかった。ポリエチレングリコール修飾抗体も有機溶媒可溶化でき、抗原-抗体反応が起こることが明らかとなった。進化分子工学手法を用いたテーラーメイド分子ロボットの実現にむけた方法論の検討を行った。

(3) ディスプレイ法を用いた新しいペプチドアプタマーの開発 (伊藤、和田、阿部、劉、白井)

非天然アミノ酸を導入したペプチドアプタマーを、リボソーム・ディスプレイ法を用いて作成することができるようになった。この方法論により、新しい可能性を検討した。

4. ソフトナノテクノロジーの基盤研究

(1) 生体不活性表面を創出する両性高分子の合成 (伊藤、櫻木)

両性イオンをもつビニルモノマーと光反応性基をもつビニルモノマーを共重合し、両性電解質で光反応性の高分子を合成した。合成した高分子は様々な基材表面へ共有結合固定化が可能で、光リソグラフィ法でマイクロパターンニングを行うことができた。高分子で修飾した表面は、タンパク質吸着や細胞接着を阻害することができた。

(3) 温度応答性高分子 (伊藤)

温度応答性高分子を1ブロックとするブロック共重合体の材料表面への吸着性と表面性質の変化を検討するとともに幹細胞培養への応用を検討した。

Key Sentence :

1. Development of Nano Diagnostic System
2. Development of Nano Therapeutic System
3. Methodology for Advanced Bio-Fabrication

Key Word :

Artificial Organ Engineering, Biomaterials, Biofunctional Materials, Regenerative Medical Materials, Drug Delivery System, Nano Surface and Interface, Molecular Device, Bio-Related Compounds, Design and Synthesis of Bioactive Molecules

Purpose of Research

In this laboratory the aim is to create new functional materials by a new method which will be developed by combination of chemical and biotechnological methodology. We use combinatorial chemistry, molecular engineering, polymer engineering, hybrid materials engineering, gene and protein engineering, micro-fabrication technology, and nanotechnology to synthesize new materials and the systems for development of regenerative medicine, artificial organs, drug delivery systems, nano-medicine, biochips, bioelectronics, artificial enzymes, and artificial antibodies.

1. Diagnosis by nano medical engineering

(1) Development of microarray biochip (Ito, Tashiro, and Matsushita)

In order to develop a new diagnostic system using micro-array biochip, we devised a pho-immobilization method. By using this technology, auto-antigens were micro-arrayed for diagnosis of auto-immuno diseases. Automated measurement machine was also developed for the micro-array

chips. For utilization in clinical analysis, the quality of chip and machine, such as reproductivity and stability, was investigated.

(2) Development of molecular sensors working in living cells (Ito, Abe, and Shibata)

DNA probes ligate in the presence of target oligonucleotide without any enzymes or reagent, where probes have reactive functional groups. DNA chemical ligation method for sensing and amplifying target oligonucleotide were developed. New fluorogenic compounds were designed and synthesized for imaging gene expression in living cells. In addition, thiol detection in living cells was also developed and the investigation is now collaborated with Kalorinska Institute of Sweden.

2. Therapy by nano medical engineering

(1) Preparation of stem cells for regenerative medicine (Ito, Gong, and Fujishiro)

In order to prepare stem cells derived from somatic cells, some methods were investigated using cell fusion of embryonic stem cells with somatic cells, without the nuclear transfer or gene transfection.

(2) Synthesis of fusion protein for regenerative medicine (Ito, Abe, Wada, Kitajima, Sakuragi, and Shirai)

Extracellular matrix-adhesive or inorganic materials-adhesive growth factor proteins or cytokines were prepared by combination of protein engineering and organic synthesis. The activities of prepared proteins were investigated *in vitro* and *in vivo*.

(3) RNA interference method using chemically modified RNA molecule (Ito, Abe, Shibata, and N. Abe)
Dumbell-shape RNA molecule was synthesized to enhance the tolerance against enzymatic degradation. Some chemical modifications of the RNA molecules were investigated for enhancing the activity. Pro-drug sensing gene expression was also designed and investigated.

(4) Bio-adhesive derived from biopolymers (Ito)

Bio-adhesives were investigated by chemical modification of proteins or polysaccharides.

3. Creation of functional molecules by synthetic biology

(1) Synthesis of photo-responsive aptamers (Ito, Abe, and Liu)

A nucleotide carrying azobenzene moiety was synthesized and it was employed for *in vitro* selection method. By this methodology, some oligonucleotides which bound to a target molecule in response to photo-irradiation were developed.

(2) Development of catalysis for organic synthesis (Ito, Abe, Wada, Liu, and N. Abe)

By using the combinatorial bioengineering tailor-made catalysis for site-specific or optically active organic synthesis was aimed. It was found that oligonucleotide conjugated with polyethylene glycol (PEG) was soluble in organic media and have a specific conformation, which is different from that in water. It was also found that PEG-modified antibody was soluble in organic media and recognized the corresponding antigen.

(3) Development of novel *in vitro* selection system for creation of functional peptides (Ito, Wada, Abe, Liu, and Shirai)

In vitro selection system of functional peptides was investigated by ribosome display technology and combinatorial peptide libraries containing non-natural amino acids.

4. Fundamental investigation on soft nanotechnology

(1) Synthesis of polymer carrying zwitterions for anti-biofouling surface (Ito and Sakuragi)

By copolymerization of vinyl monomers containing zwitterion residues and photo-reactive moiety, photo-immobilizable polymers were synthesized. Photo-immobilization of the polymers reduced protein adsorption or cell adhesion onto modified materials.

(2) Thermo-responsive surface (Ito)

Poly(N-isopropylacrylamide) having LCST around 30 °C was incorporated into a block copolymer which adsorbable onto various types of surfaces. The polymer-coated materials were used for stem cell cultures.

Head

伊藤 嘉浩 Yoshihiro Ito

Members

阿部 洋 Hiroshi Abe
阿部 奈保子 Naoko Abe
北嶋 隆 Takashi Kitajima
松下 晴彦 Haruhiko Matsushita
柴田 綾 Aya Shibata
和田 章 Akira Wada

Special Postdoctoral Researchers

劉 明哲 Mingzhe Liu
櫻木 誠 Makoto Sakuragi

Visiting Members

宮本 寛治 Kanji Miyamoto
田代 英夫 Hideo Tashiro

Trainees

阿部 祥子 Shoko Abe
安藤 高史 Takashi Andou
古川 和寛 Kazuhiro Furukawa
原 秀太 Shuta Hara
原田 充 Mitsuru Harada
伊藤 圭司 Keiji Ito
伊藤 美香 Mika Ito
姜 延和 Jeonghwa Kang
近藤 裕子 Yuko Kondo
村瀬 比左思 Hisashi Murase
長尾 厚志 Atsushi Nagao
高橋 佐和 Sawa Takahashi
烏田 美和子 Miwako Uda
王 偉 Wei Wang
許 牧野 Muye Xu
岳 曉珊 Xiaoshan Yue
湯山 広崇 Hirotaka Yuyama

Assistant and Part-timer

藤城 雅子 Masako Fujishiro
木村 晶子 Akiko Kimura
能瀬 紹子 Akiko Nose
白井 晴奈 Haruna Shirai