

**研究評価委員会**  
**「細胞アレイ等による遺伝子機能の解析技術開発」(事後評価) 分科会**  
**議事録**

日 時：平成22年8月6日(金) 13:00～18:10

場 所：WTC コンファレンスセンター 3階 Room A

出席者(敬称略、順不同)

＜分科会委員＞

分科会長	辻本 豪三	京都大学 薬学研究科	教授
分科会長代理	秋山 徹	東京大学 分子細胞生物学研究所	所長/教授
委員	倉田 博之	九州工業大学 情報工学研究院	教授
委員	民谷 栄一	大阪大学 工学研究科	教授
委員	永野 恵嗣	株式会社 スリー・ディー・マトリックス	代表取締役会長
委員	松田 秀雄	大阪大学 情報科学研究科	教授
委員	水口 裕之	大阪大学 薬学研究科/独立行政法人 医薬基盤研究所 創薬基盤的研究部 幹細胞制御プロジェクト	教授/チーフプロジェクトリーダー

＜実施者＞

杉山 雄一 (PL)	東京大学大学院 薬学系研究科	教授
三宅 淳 (SPL)	大阪大学大学院 基礎工学研究科	教授
堀本 勝久	(独)産業技術総合研究所 生命情報工学研究センター	生体ネットワークチーム長
三宅 正人	(独)産業技術総合研究所 細胞情報工学連携研究体	連携研究体長
藤田 聡史	(独)産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門	主任研究員
ワダワ レヌー	(独)産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門	研究グループ長
カウル スニル	(独)産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門	主任研究員
中村 吉宏	(独)産業技術総合研究所 幹細胞工学研究センター	招聘研究員
長棟 輝行	東京大学大学院 工学系研究科化学生命工学専攻	教授
袴田 和巳	大阪大学大学院 基礎工学研究科	助教
阿久津 達也	京都大学 化学研究所 バイオインフォマティクスセンター	教授
三木 義男	(財)癌研究会 ゲノムセンター	部門長
長崎 光一	(財)癌研究会 ゲノムセンター	
日下 英昭	協和発酵キリン(株) 研究本部 富士リサーチパーク	安全性研究所長
杉山 義宣	(株)カネボウ化粧品 価値創成研究所 皮膚科学研究グループ	主任研究員
山崎 恒平	(株)カネボウ化粧品 価値創成研究所	研究員
塚本 芳昭	(財)バイオインダストリー協会	専務理事
市川 茂彰	(財)バイオインダストリー協会	部長
村山 仁美	(財)バイオインダストリー協会	
(研究推進委員会委員として参加)		
菅野 純夫	東京大学大学院新領域創成科学研究科	教授

<推進者>

森田 弘一	NEDO バイオテクノロジー・医療技術部	部長
古川 善規	NEDO バイオテクノロジー・医療技術部	主任研究員
上村 研一	NEDO バイオテクノロジー・医療技術部	主査
林 智佳子	NEDO バイオテクノロジー・医療技術部	職員

<オブザーバ>

川崎 浩明	経済産業省製造産業局生物化学産業課	職員
-------	-------------------	----

<NEDO 調整>

水谷 善弘	NEDO 総務企画部	課長代理
-------	------------	------

<事務局>

竹下 満	NEDO 評価部	部長
寺門 守	NEDO 評価部	主幹
吉崎 真由美	NEDO 評価部	主査
松下 智子	NEDO 評価部	職員
橋山 富樹	NEDO 評価部	主査

一般傍聴者 1名

議事次第

【公開の部】

1. 開会、分科会の設置について、資料の確認
  - ・開会宣言（事務局）
  - ・事務局橋山主査より、分科会の設置について資料 1-1 及び 1-2 に基づき説明があった。
  - ・辻本分科会長挨拶
  - ・出席者（委員、推進者、実施者、事務局）の紹介（事務局、推進者）
  - ・配付資料の確認（事務局）
2. 分科会の公開について  
事務局より資料 2-1 に基づき説明し、今回の議題は全て公開とすることが了承された。
3. 評価の実施方法
4. 評価報告書の構成について  
評価の手順を事務局より資料 3-1～3-5 及び資料 4 に基づき説明し、事務局案どおり了承された。
5. プロジェクトの概要説明（公開）
  - 5-1 事業の位置付け・必要性、研究開発マネジメントについて
  - 5-2 研究開発成果、実用化の見通しについて  
推進者（NEDO 上村主査）及び実施者杉山 PL 及び三宅 SPL より資料 6-1 及び 6-2 に基づき説明が行われた。説明に対し以下の質疑応答が行われた。

(辻本分科会長) 技術の詳細についてはこれからということなので、コンセプトといいますか、分子標的を絞っていくことではなく、パスウェイとしてとらえるということで、パラダイムシフトがあったということは十分に理解できたのですが、その際に、例えばパスウェイとかある程度同定できたときに、そのときの、逆にいうと、創薬へのヒントというのは、パスウェイ全体をとらえているのか、それともそのパスウェイの中のハブとかをターゲットとするようなアプローチをイメージされているのか、そこらの考え方はどうでしょうか。

(大阪大学：三宅教授) それはどちらもありだと思います。まずパスウェイのサイズにもよりますので、一概にパスウェイ全体とはいえない。ただ、パスウェイ全体を押さえたほうが、理屈の上では効率が高いので、願わくばそうしたい。現実的には、薬というのは1つ1つのターゲットに効くことになると思いますので、比較的少数の、より効果の大きいブロックをすることになるとは思います。できたら、それは協和発酵さんの発表のときに、もう1度お尋ねいただけますでしょうか。

(辻本分科会長) 最後に胸を張って成果は十分に出了と言われましたが、このプロジェクトでは、簡易に抽出できる方式を確立するということを最終目標にされていますが、これから具体的な説明があるかと思いますが、実際はかなり大規模な装置とか、あるいは非常に高度な情報科学技術の解析手法だとか、そういうものの組み合わせで初めて達成できることではないかという印象を私は持っています。そうすると、そういう簡易に、例えば次の日からでも、どこか小さいラボでもできるパッケージとして、それは完成されたのかというのを知りたいのですが。

(大阪大学：三宅教授) あの、本質的なご質問をされまして、せっかく張った胸が少ししぼみそうなんです。まず、ソフトについていえば、これは間違いありません。後ほど堀本さんからお話がありますが、パッケージ化されます。それもかなり安価に買えるソフトになります。世界で最も売れているソフトの1つに入ります。事業原簿の169ページを見ていただきたいのですが、ここに装置の、装置といっても、具体的な生化学装置というよりも、データ処理の装置が描いてあります。おっしゃるとおり、ここのところはまだ巨大です。ハードディスクでも200テラバイトくらい使っていますし、細胞観察装置というのはかなり高額なものです。NEDOのこのお金でようやく何台か揃えていただきましたが、まだ高いものです。しかし、これからこういった細胞計測装置というのは売れ筋と思って、いろいろな企業さんは準備をしておられることを知っております。インセルアナライザーのようなものも、これから進歩することで、実はこの機能を持たせることができます。そうすると、我々が胸を張ったとおり、簡易に誰でもできるようになると、いますぐにはございませんが、2~3年後にはそういう状況が出現すると思っております。

(水口委員) 最初にNEDOさんのほうから事業の目的というところで、いろいろなアレイとかでターゲット遺伝子を網羅的に調べた後、絞り込みを行うための必要なための技術開発をするのを目的なんだと、ご説明の中で、絞り込みというよりは、ネットワークとしてとらえるんだということだったと思うんですが、現実問題として、ウェットのラボで、我々が直面している問題、あるいは製薬メーカーでも直面している問題は、RNA解析した後、いっぱい動く遺伝子があって、その中からどうしようか、次はどうしようかというところの答えをくれるのが、この事業なのかと思ってはいたんですが、そこはどうするんですか。

(大阪大学：三宅教授) できればそういうふうにお答えできるようになればと思います。ただ、いろいろな方法で取られた候補というのが散在しているわけです。それらは、測った方法も違うし、レベルも違うし、みんなまとめて面倒をみるということはなかなか難しいと思います。でも、ある程度の要件を備えているものについては、時系列分析が望ましいのですが、そういうものがあれば、堀本さんが作られたソフトに入れていただくだけで、データが出る可能性があります。しかし、そういうものがないとすれば、時系列解析を有望そうなものについてやっていただいて、その上でデータ処理をしていただく必要があるかと思えます。

(水口委員) こちらサイドからすると、時間を振ってRNA解析をして、そのデータを持ってものが言えるかもしれないということですか。

(大阪大学：三宅教授) そうですね、はい。

(永野委員) パスウェイ解析をすることによって、このオリジナルな、ユニークなターゲットが出てきたということで、素晴らしいことだと思いますが、これはどのアプリケーションでもユニークなものが出てきたということですか、それともいろいろやってみて、紫外線とパクリタキセルだけはユニークなターゲットが出てきて、他のものは出てこなかったという意味でしょうか。

(大阪大学：三宅教授) いや、まだそのコンビネーションがうまくいっていませんで、やっている最中の話が多くて、これまでの成果というのは、多くは時系列分析に至る前の段階、いま水口先生がおっしゃった段階でも見つかっていますよ。ただ、まだfine化されていませんので、これから時系列解析等をして、実際のパスウェイに持ち込むということを行いたいと思っています。その点では時間が不足していたというところがございます。

(民谷委員) 率直な感想は、大胆に、非常に重要な部分に切り込んだなという感覚であります。非常に素晴らしいマネジメントの展開をされている感覚は持ちました。いま1つお聞きしたかったのは、時系列という話がさんざん出てくるのですが、その時系列の時間スケールには「秒」、「分」、「時間」、「日」といろいろあるので、それに伴っていろいろな技術開発が求められます。今回のプロジェクトではどのスケールの時間をお考えでしたか？

(大阪大学：三宅教授) オーダーは「分」です。それで、10分とか15分間隔で測定をしています。このレベルでも、1回実験をすると、だいたい数テラバイトのデータになります。これが問題でして、実は画像データがでかいんですが、データをいかに圧縮するか、捨てるかという、実は経験を積み捨てるものは出てくるんですが、そのへんがうまくいくともっと早く、精密に測れるようになると思います。

(倉田委員) 研究課題は世界的な中心的な課題で、非常に面白いと思います。パスウェイの件ですが、パスウェイを見るための遺伝子を選ぶというところでいろいろとお話をされていたんですが、私は完全には理解できていないんですが、どのような遺伝子の範囲を絞り込む、どうやって絞り込むのかとか、あるいは絞り込まれた範囲のものが、既存のパスウェイ、データベースに入っているようなパスウェイと重なる部分があるのかとかですね。重なっていれば非常に安心して使えると思いますが、このパスウェイはまったく新しいもので、いわゆる分子生物学の論文には載っていないようなものが出てきた場合にも、あまり気にせず、そういうことも気にしないで使っていけるのかとか、そういったところをお聞きしたいんですが。

(大阪大学：三宅教授) いま、データベース化されている情報、そしてパスウェイの形というのは、実はさまざまなレベルでとらえているんです。単なる生化学データだけでとらえられているデータもあれば、遺伝子レベルで推測されているものもあります。ですから、文献上のパスウェイというのが、どこまで我々が測っているのとイコールなクオリティを持っているのかということについては、いまのところ言及しがたい。私どもとしては、実際に測ったものだけが、我々の実験、処理に使えるものというふうに考えておまして、データベースにあるパスウェイというものを、まず最初に考えているわけではございません。

(秋山分科会長代理) 原理のところから、実際の成果まで大変な有意義なプロジェクトだと思いました。この資料を自分で読んでみると、いろいろなバラバラの話の集積みたいな感じを受けたんですが、三宅先生を聞いたら、「なるほど、プレゼンというのはこうやってやるものか」と思いました。有機的につながったような気がしました。僕がもった疑問は、いまの倉田先生の質問と同じような感じですが、インフォマティクスでパスウェイ解析をやると、既存の知識の中に落とし込むので本質的には新しいことは出てこない。それでもある立場としてはいいんですが、そう思うんですが、これから具体的なデータが出てきて、もうちょっと聞いてからとも思いますが、そのへんはどうで

しょう。

(大阪大学：三宅教授) 現在やっておられる方々の知識というのは、それぞれの目的でやられていますので、パスウェイ解析という目で見たとときに、それが完全なものということはあり得ないですね。1つの参考だろうと思います。パスウェイ解析という方法がもし有効であり、多くの方がお使いになり、成果があるならば、そういう目でパスウェイ解析の一般のデータベースができていくのではないのでしょうか。日本がそういうことの音頭をとれば、日本の製薬メーカーにとって非常に有利な状況が発生するのではないかと思います。

(秋山分科会長代理) 本質的に理解していないもので、あまりよく分からないのですが。例えば日常やっていて、いちばんよくあるのは、siRNA かなんかをスクリーニングしますね、この遺伝子をつぶしたら癌細胞が死んじゃうと。そして、そのタンパク、遺伝子の名前が出てきます。そうしたら Ras-MAP kinase の構成要素だったと、これはもういろいろなことが分かるわけですよ。でも、何だか今までそういう報告がないとか、Ras-MAP kinase とか、P53 とか、RB とか、主要な経路は出尽くしたという人はいますが、そういうところに落ちないように、あるいは非常に遠くからそこにつながるとか、何かそういったものはどうなのかなと。

(大阪大学：三宅教授) その推計をどうするかということについては、まさに P53 の話をこれから堀本先生がされます。具体的なことはそこで見たいと思います。ただ、先生がおっしゃることに大変もつともな点がありまして、まったくわからないパスウェイがあるとと言われると、それを明らかにするまでというのはかなり大変だと思います。決してデータベースを否定しているわけではなくて、ある程度予測を立てないと難しいかもしれません。

(秋山分科会長代理) それはもっと基礎の研究所でやることであると。

(大阪大学：三宅教授) そうですね。現象を見つけていただいた上で、工学的な使い方を我々は提供したい。

(辻本分科会長) ネットワークの、いまのご質問でもそうですが、私どももチップ解析とかやっても、アップとかダウンとか、経時的変化とかいろいろありますが、通常ネットワークの、線を引くことは比較的容易といえますか、できているパスウェイもあっていいんですが、その定量的な移動といえますか、変化まで入れた形の空間の変化ということまでとらえることというのは、かなり難しいのではないかと思います。私はあまり数学の情報科学とかは専門ではありませんが、この方程式で表される中で、time dependent なことはあっても、そういう定量的なコンスタントを入れるようなところはあまりなく、そこまで加味されたようなネットワークではないということでしょうか。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) 堀本でございます。今日、三宅先生がお示しになられた、時間も入っていますが、その時間の情報をフルに生かして、パラメータの、先生のおっしゃる重みの部分を求めるということをしていただきました。ですので、答えといたしまして、重みの部分まで考慮できるようになっております。

(民谷委員) 特許の件数が少ないことに関して、いろいろ理由はあったのですが、実際にはここには見えていないもので、潜在的なものはあるのでしょうか？ 研究成果のマネジメントにも関わると思うのですが、どうでしょうか？ 潜在的でも良いのですが、その数字がある程度あれば、我々としても評価しやすいのですが。

(大阪大学：三宅教授) 特許の問題については、長棟先生、東大のケースをちょっとお話いただけますか。

(東京大学：長棟教授) これは共同研究者の鷲津先生のケースですが、マイクロエレクトロポレーションという遺伝子を導入する技術を開発されて、それを特許化したいということで大学に申請をいたしました。いま東大は、そういう形で産学連携本部のほうに、いろいろな部局から上がってきた特許について、全部を特許にするわけではなく、その中から産学連携本部のレベルでいろいろリ

サーチをして、それで東大として特許化して、将来インカムがあるものかどうかといったところを評価した上で、それが有るとなれば東大として特許申請して維持していくということなんです。やはり件数が多いということもありまして、かなりそこはシビアに検討されていて、たまたま鷲津先生が今回のプロジェクトに関連して出てきた成果を申請したところ、東大としては特許を申請して、その後維持することはしないという、そういう評価があったということです。そういうケースの場合、もちろん我々の持っているファンドの範囲の中で、特許として申請すること自体は可能ではあるわけですが、その後ずっと維持していくということは結構な費用がかかりますので、なかなか個人的なレベルで特許を申請することが難しかったという例があります。すべてがそうかどうかということではないです。

(民谷委員) 大学の特許の事情はよく分かりました。昔と違って出せば、すぐに通してくれるという話ではなくなってきたというのは分かりますし、それに対してクレームするつもりもありません。例えば、数には見えてはいないけれども、ここに共同で加わっている企業の方が、ある特許を作るにあたって貢献したとかなどあれば、本プロジェクトの知財に対する貢献がそれなりに見えるわけです。実際的に参加企業の事業展開にいろいろ貢献すればいいなと思っているので、成果の出し方に何かあるといいなと思ったので聞いたわけです。私の質問の意味はそういうことです。

(辻本分科会長) 具体的には最後のほうで付けられていた、あの業績の中で、特許件数のことが出てきますが、例えば協和発酵キリンさん、カネボウさんで特許はまったくないということですが、その裏にあるのではないかというお話ですよ。

(民谷委員) そうです。あると言っちゃうと何か事情があるのであればあれだけ、表にしなくていいわけですから、我々だけの情報でもいいので。

(辻本分科会長) あるいは貢献したかということですね。そのへんはいかがでしょうか。

(大阪大学：三宅教授) いま問題の高齢者のようなもので、いるんですか、いないんですかって、聞いても分からないですって(笑)。

(永野委員) 大学のTL0でスクリーニングに落ちた原因は、技術の将来の市場性なのか、それとも特許性自体が低いというふうに認識をされたのか、どっちなんですか。

(東京大学：長棟教授) 本人ではないので正確な情報は持っていないので、はっきりしたことは申し上げられないのですが、私も別の件で特許申請をして、それでやはりダメで自分で出したというのが何件かありますが、基本的には、細かい情報は出さないにしても企業の方にヒアリングします。そして聞いた範囲の企業で、すぐにこれを使いたいというレスポンスがないと、いまは大学としては申請できないという状況です。ですから、市場性のほうがかなり、そちらのほうで判定されている例が多いと思います。

(辻本分科会長) 先ほどの如何でしょうか、企業の方々。

(協和発酵キリン：日下安全性研究所長) 協和発酵の日下でございます。先ほど長棟先生がおっしゃったように、なかなか技術で特許というのは難しいなというのが正直なところです。例えば企業にヒアリングされると、代替えとか、なかなか本当の技術で権利化するというのが難しいという状況です。企業としては、まだこの特許の中には入っていませんが、当然カネボウさんの遺伝子もありますし、癌研と協和で共同で実施された遺伝子というものがありますので、その見つけた遺伝子に対しての特許をどうするのかというところは、まだそのお話はプロジェクトの中でもしていませんが、恐らくそこで見つけたものというのは、恐らく共有の財産ということで、その遺伝子をクレームして、機能も付けられればいいのですが、そういう可能性が今後出てくるということは思っています。ただ、今の数字の中には入っていませんので、そこはプラスされる部分としての可能性はあると思っています。

(カネボウ化粧品：杉山主任研究員) カネボウ化粧品の杉山と申します。弊社も、今回は特許は出してはいないのですが、まだ出す前の段階です。今回は細胞レベルで紫外線感受性に大きく影響を

与える遺伝子というのを見つけてきたのですが、化粧品会社としてはその段階では特許出願はできなくても、今回の遺伝子をKB2 遺伝子と仮称していますが、その遺伝子の働きを高めたりするような素材が見つかってきて、初めてその素材で特許出願するという、基本的にはそういうスキームを考えています。ですから、出願はこれからという段階です。ただ、それでも難しいのは、権利行使の段階のところまで考えますと、ある遺伝子の活性化剤みたいなものを、私たちは「剤特許」という言い方をしますが、それはなかなか権利行使の段階になると、あまり強い特許ではありませぬ。その前にある植物エキスで化粧品への配合特許があった場合に、その後に剤特許を出してもなかなか権利行使ができないとか、そういう企業としての見方もあるのが現状でございます。

(協和発酵キリン：日下安全性研究所長) 追加ですが、我々もやはり物質特許が中心で、概念というのはなかなか難しい。だから、この遺伝子が見つかって、その阻害剤を取りましよう、やはりものが取れて特許出願なんですね。ですから物質特許を押さえにいきましょうという考え方が高いので、どうしてもそのへんは大学の先生方と出願のタイミングというところがありますが、企業側はものが取れてというところがあつて、後ろ、後ろで考えてしまうので、プロジェクトが終わった段階で、それで特許出願ということは、企業側からすればなかなか難しいのかなというのがございます。

(辻本分科会長) 医薬品開発なんかもそうですが、作用メカニズムもある程度明らかにしないと、なかなか認可のほうで問題になると思いますが、このような手法が、作用を含めて、実は私は副作用にもこれはかなり役に立つのではないかと思います、そういうことにはかなり貢献できるんじゃないかというような印象はお持ちでしょうか。

(協和発酵キリン：日下安全性研究所長) そうですね、私はこのプロジェクトに参画させていただいたのは、併用を予測できるシステムというとらえ方で入らせていただいている、先ほど先生の質問でありました、ハブを狙うんですか、そのパスウェイを狙うんですかっていうと、私としてはパスウェイ全部押さえる創薬をしたいなと思っています。今までの単純な静的な遺伝子発現解析をしていくと、真のターゲットも見つけれませぬし、例えば癌ですとヘテロですから、パクリと si をいまは網羅的にみんなスクリーニングをやっているんです。ただタキソールと併用したらいい si って何ですか、複数のラボがやっていて、おもしろいのはどのラボも同じ si を出してこないんです。でも、癌はヘテロだからでしよってというのは通るんですか、実はそれは創薬を考えるとあまり効率が悪い話ではなくて、こういった形でパスウェイが3つ出てきますよね。例えばAという患者さんは、パスウェイ A が活性化していてパクリが効かない、Bという患者さんはそうかもしれない、でもその3つを押さえてあげると、さっき言われていたレスポンスレートが上がるでしょう。それはいまの時代、癌というのはテーラーメイド医療というふうに言われていますが、私の考えの中では、癌も成人病みたいに、やはりこれからはレスポンスレートを求めていく創薬をしていかなければいけないと思うなど。ですから、そういうパスウェイ解析をすることで、そういうパスウェイが見えてきて、多剤併用という考えなんですよ。もう 1:1 の併用ではなくて、最初から多剤併用という——その先は臨床を考えなければいけないので、それは厚生労働省はどう考えますかと、そこまで行ってしまうんですが、でもやはりそういう創薬をこれからは考えていかないと、製薬企業は生きていけないというのが私の考えです。それが見えますか、それが見たいと思って、私は参画させていただいて、私の感覚としては、それは少し見えているなというのはこの5年間やらせていただいた、私の率直ないまの感想です。

## 6. プロジェクトの詳細説明

### 6-1 デバイス関連技術開発

長棟東大教授より資料 7-1 に基づき説明が行われた。説明に対し以下の質疑応答が行われた。

(松田委員) 私も専門ではないので、的外れな質問かもしれませんが、例えば癌細胞の運動性評価で、現行の細胞運動性の方法というのは、例えば再現性がとりにくいか、そういうご議論があったんですけれども、ここで開発された運動性評価チップだと、これかなり再現性がとれるものではないでしょうか。

(東京大学：長棟教授) ここにエラーバーは明確に示してありませんけれども、いわゆるこういったレベルでの統計的なレベルで判別出来るくらいのエラーバーの小ささと見ていただければいいかと思うのですが、そういう意味で非常に高い再現性が得られていると思います。

(松田委員) これで運動性を見たときに、本当にトラッキングというか、1細胞レベルの運動性もはっきり見えていると思っていいんですか。

(東京大学：長棟教授) そうです。

(秋山分科会長代理) いまの細胞運動ですけれども、よく動く細胞を使っておられましたよね。あれを普通のHeLaとかHT1080とか、正常細胞みたいなものでも使えるのでしょうか。

(東京大学：長棟教授) この場合には、このときにはこのスピードというのはこれくらいの幅で振れているわけですが、例えばHeLa細胞でもこのくらいの、今回使ったNBT-L2bに比べればかなり運動性は低いんですけれども、運動していないわけではないので、基本的にはこういったものに対していろいろな薬剤であるとか、あるいはsiRNAであるとか、そんなものを加えて、実際のどのくらい、ここからこのエラーバーの、少なくとも統計的な意味の有意差が出る範囲で変化があれば検出することはもちろん可能であると思います。

(秋山分科会長代理) これは精度が高くて、スクリーニング用というわけではなくて、普通の個別の研究にも使える精度は十分あるということですよ。

(東京大学：長棟教授) そうです。

(秋山分科会長代理) 運動能に関係した遺伝子を8つピックアップされていました。浸潤能も同じようなことをされると思うんですけれども、そのあいだの相関というか、運動能を阻害するものは浸潤能のアッセイでも引っかかってくるのかとか、そのへんを教えていただければ。

(東京大学：長棟教授) これについては運動能のみを評価してまして、浸潤能は、この実験ではやっていません。ただデータベース的にどういった対応関係にあるかということは当然比較することは出来ると思いますが、これについては実際にこの実験をされた藤田さんのほうから何かコメントがありましたらコメントしていただきたいのですが、よろしいでしょうか。

(秋山分科会長代理) 例えば浸潤能のアッセイをしたらこの遺伝子が取れてくるのかとか、言える範囲でけっこうですけど。

(産総研：藤田主任研究員) 私実際に実験を担当した産総研の藤田と申します。いまのご質問ですが、浸潤と運動のほうに相関があるかという話ですが、これ、我々まだ浸潤との比較まではしておりません。ただ、運動だけで比較した場合でも明らかになってきたことは、アッセイの方法によって取れてくる遺伝子がかかなり違うということです。我々がやっている方法というのは、チップを使って細胞の単独遊走を見るような手法です。それ以外に今までやられている、Wound-healing assayというような手法では、細胞のあいだをスクラッチしまして、そのあいだの細胞の集団遊走を見るような手法で、集団運動、単独運動というような違いがあります。最近言われていますのは、癌の遠隔転移において単独運動が非常に重要であるということが言われておりますので、また、集団遊走、単独遊走によっても遺伝子が変わるというような事実が明らかになっており、その結果、先ほど長棟先生のほうで示されている82枚目の図、Wound-healing assayと、我々の手法でかなり違う遺伝子の種類が取れてきていると。一方でコントロールになるような遺伝子、PGF- $\beta$ などのレセプターなどは我々の手法でも取れてきているというので、手法としてはかなりいいものが取れてくるのではないかと期待しております。

(倉田委員) いまの質問に関連して、Wound-healing assayとかかなり異なっているんですけれども、



これはマイクロチップ上で足場としているような物質を変えていたり、環境、例えば酸素とか栄養も関係あるかもしれませんが、そういったものを変えたら出てくる遺伝子が変わってくると考えていいのでしょうか。

(東京大学：長棟教授) いろいろなファクターが運動性なんかに関与することは当然考えられますので、著しく例えば条件を変えれば、そこで出てくるものも当然変わってくる可能性はもちろんあると思います。ただそれが本当に運動性に関与しているものなのか、それとも周りの、例えば酸素濃度の影響を受けたかたちで出ているのかということは、きちっと分けて議論しなければいけないんだろうと思います。今回のこの結果について言うと、必ずしも培養条件というのはこちらの2つの実験では同じ条件になっているわけではないと思いますので、そういう意味ではそういったものの影響もこの中に含まれている可能性は否定出来ないと思います。

(倉田委員) 例えば私は癌細胞を実際に見たことはあまりないんですけども、患者さんによっても違うし、取ってくる場所によっても違うから、こういったチップでさまざまなヘテロな癌細胞をうまく分けてそれぞれの個性を見ていくというようなことを考えているのでしょうか。

(東京大学：長棟教授) それも当然範疇に入っています。今回のこういうアッセイの場合には1種類の細胞を使ってやっているわけです。それでいろいろな遺伝子を変えて、その影響を見ているわけですけども、こんど逆に、入れる遺伝子は基本的に同じにして、細胞の種類をいろいろ変えることによって、同じ遺伝子が、同じ癌細胞でもどのような、例えば運動性に影響するかしらないか、あるいはどの程度影響するかといったようなことを評価する系にもこういったものを応用することは当然可能であります。

(倉田委員) あと、細胞ごとにばらつきがあると言われていましたけれども、実際細胞何個以上あればアッセイとして成立すると考えられるのでしょうか。

(東京大学：長棟教授) たぶん現状で言いますと1個のスポットの中に細胞が数十個というオーダーだと思います。それで評価している系です。一応その中で意味のあるそういう時系列データは、多少の発現のタイミングとか、そういうものを同期化させるソフトウェア上でのいろいろな操作も必要ですけども、そういうことをやった中で、一応意味のあるデータが出てきていると。

(倉田委員) 例えば1個1個見た場合と100個で見た場合で違う結果になると思いますけれども。

(東京大学：長棟教授) 基本的にはやっぱり1個と100個では全然違うと思いますね。1個の場合には周りに全く相互作用する細胞がない条件で見ているわけですから、それに対して100個というと必ず、いまやっているような細胞アレイの条件であれば、周囲の細胞と基本的には相互作用が出来る条件でのアッセイということになります。

(民谷委員) 先生のそのすばらしい研究のどこがいちばん売りかというのをお聞きしたいと思います。運動性のところはもう議論があったとおりで、私も興味があるのですが、これとは別の2つの課題でお聞かせてください。1つは、遺伝子導入のところですが、これは鷺津先生のお仕事なので私もよく知っているのですが、このポイントは、電気的な方法はすでに開発されており、今回の独自チップを使って、数十%という高い遺伝子導入効率を得たわけですか？この結果は、ある程度満足のいく、もうこれ以上上げる必要がないというのか、もっと上げなければいけないのでしょうか？この技術を使ったから今までとは違って改良されたのでしょうか？先生の要素技術の他の技術と比べた位置付けみたいなものをまずお聞きしたいのですが、

(東京大学：長棟教授) まずこのマイクロエレクトロポレーションの手法というのは、ある意味では細胞を選ばないということで、細胞の種類が変わってもたぶんほとんど同じプロトコルで同じ程度の遺伝子導入効率を達成することが出来るという方法であろうと思います。それに対して従来のいわゆる遺伝子導入試薬を使った、いわゆる固相トランスフェクションの方法の場合には、先ほどちょっとお話ししましたように、間葉系細胞であるとか、繊維芽細胞なんかの場合には、比較的導入効率が低いとか、細胞の種類によってけっこう導入効率が変化するという例もあります。もちろん

んないろいろなトランスフェクション試薬の改良を重ねて、その導入効率を80%とか90%くらいまで上げてきているという背景はもちろんあるんですけども、やはりそれでも十分に上げることが出来ないといったような細胞も当然あるわけです。それに対してこのエレクトロポレーションの方法は、実際問題としていまのところまだ80%、90%というレベルがコンスタントに出るというレベルまではまだいっていませんけれども、やはり条件をもう少し、さらに検討することによって、そこを上げていくということが可能ではないかと。そのときに先ほど言いました細胞の種類にかかわらず、同じようなレベルの遺伝子導入効率が達成出来るだろうということで、そういう意味では対象が変わっても同じようなデータをこの条件で評価することが出来るという意味では非常にいい方法ではないかと思っています。

(民谷委員) そこまでは期待値ですね。間葉細胞でやって入ったというわけではないんですね。

(東京大学：長棟教授) そうです。少なくとも試した細胞の中で。

(民谷委員) それはよく分かります。

(東京大学：長棟教授) 今日はお話ししませんでしたけれども、例えば筋肉細胞なんかのように非常に遺伝子導入が難しいと言われる細胞にも、この方法でいまの20%、30%という最低レベルは入っておりますので、これも条件を先ほどのようにオリフィスの高密度化とか、そういった方法を併用することによって上げることが出来ると考えています。

(民谷委員) 電気条件である印加時間とか電圧条件を変えれば細胞膜の状態に応じて透過性を変えられるので、その可能性は分かります。それからもう1点、3つ目の課題で、フォローが出来なかったので1つだけお聞きしたいのは、先生の論文発表で、JACSの成果というのはここで言うところになるのですか。

(東京大学：長棟教授) JACSのほうは、遺伝子ではないんですが、その前の段階としてタンパク質にこういった光ケージドをしまして、それを細胞内に入れて、そのケージを光でもって切って、そのタンパク質の機能を制御するという研究をやっていました。それをJACSにパブリッシュしています。そういう意味で直接遺伝子というわけではないんですけども、関連の生体分子の機能の光ケージによる制御ということで、入れさせていただきました。たぶんそういった技術というのは遺伝子導入しただけではなくて、その細胞内の例えばいろいろな転写因子であるとか、そういったものの機能を直接例えば制御したいといったときに、遺伝子発現とからめてそういうタンパク質の活性の制御といったことも同時にするといったときに生きてくるのではないかということを考えています。

(水口委員) いちばん専門に近いところなので細かいところをお伺いするかもしれませんが、まず細胞の運動のところですけども、あれラットでやっておられますけれども、ヒトでやる、せめてマウスの細胞でやるということを考えられなかったんでしょうか。そのあとの実験のことを考えるとラットというのはやっぱりやりにくいと思うんですけども。

(産総研：藤田主任研究員) ラットであるということに特に際立った意味はないんですけども、実はNBT-L2bというのは非常に早く運動して、しかも直線的に運動する、実はそういうような細胞を探していたんですね。ラットに限らずヒトのT24とか、いくつかの細胞種を調査しまして、いちばんアッセイがしやすいもの、短時間でチップのアッセイをしやすいものというものを選んできました。時系列で解析もちろん、最終的にはするんですけども、最初の時点では、早く動き、かつ直線的に動くような細胞を用いることで、1時間とか2時間の、2時間後にチップの画像処理をするだけで、スポットからどれだけ細胞が移動したかというのを測ることができます。それによって単純に、非常にハイスピードに細胞運動にかかわる遺伝子を、細胞の距離の画像処理においてピックアップしてることが可能です。詳細な部分についてさらにまた、実際にはタイムラプスの経時的なアッセイをしていくというようなことをやっております。ご質問の答えには完全にはなっていないんですけども、おっしゃいますように、今後やはりヒトでのこのような細胞モデルというも

のを作っていかなければならないということは考えております。

(水口委員) ありがとうございます。デバイスの開発なのでそこはいいのかもしれないですけども、これ自身の研究のそのあとの発展を考えると、できる時期が限られてくるので、ヒトあるいはマウスのほうがいいかなと思った次第です。あと、リバーストランスフェクションのところ、73枚のところにありますけれども、いまいろいろなグループが随分前からリバーストランスフェクションをやっておられると思いますが、先生のところの売りになるところはどこなんですか。

(東京大学：長棟教授) たぶんリバーストランスフェクションで最初にやられたのはMITのグループですよ。あの場合には、ゼラチンのようなゲルの中に遺伝子を包埋して、その上に細胞を接着させるという方法で遺伝子を導入するという方法をとっていたと思います。この場合にはこういったDNAの複合体をゲルの中に包埋するというよりは、両方を基板の上にスポッティングしまして、このfibronectinがこういったアクチンファイバーというものを誘導して、この核を基板に近づける。それで、DNA複合体の取り込まれたものが非常に短時間に核に到達できるような、そういう状況をここで作ったというのが、効率を非常に高めることができた1つの売りだというふうに思います。さらにこれ以上たくさん売りがあると思いますが、これに関しては実際にリバーストランスフェクションのいろいろな条件の最適化をされました、三宅正人さんのほうから補足していただければと思います。

(産総研：三宅連携研究体長) 産総研の三宅です。リバーストランスフェクションは、先ほど長棟先生がおっしゃいましたとおり、MITが最初に発表したわけですけども、ゼラチンという物質で遺伝子を包埋するというような方式。この欠点は、効率が問題でした。私どもはリバーストランスフェクションというのは微小空間でのトランスフェクションを得意とするところなので、効率が必須だと考えて、効率向上のためにfibronectinとか、抗体といったような、リバーストランスフェクションの条件でトランスフェクション効率を上げるような物質を見つけてきた。そこは一部3極特許も取られているようなものもあり、そこが私どもの特徴になるかなと思っております。

(水口委員) fibronectinを使った細胞のマトリクスでやるというところがいちばんオリジナルなところだと。あと、エレクトロポレーションのところとかで、効率が数十%ということでしたけれども、数十%というのはMSCということを考えても決して高くないと思うんですけども。あと、どんな細胞でやるかということで、トランスフェクション試薬で入らないような細胞で検討されるのが一番と。例えばプライマリーの樹状細胞などは皆さん入らなくて困っている細胞だと思うんですけども、ぜひそういう細胞で、どれだけ早いのかというのをチェックしていただきたいなと思いました。あと、K562で浮遊細胞でやるというのがありましたけれども、それはどれくらい入るようになったんでしょうか。

(東京大学：長棟教授) これは、本当の意味で導入効率はきちっと評価できていません。といいますのは、細胞がちょうど穴の上にこないと導入できないということがありまして、いまのところの穴の上に細胞をきちっとコントロールしたかたちで1個1個配置するということが出来ていませんので、そういう意味ではまだきちっと評価出来ていないというところですよ。

(水口委員) K562では、普通のトランスフェクション試薬でもそこそこ入る浮遊系の細胞じゃないかなと思うんですけども、ちょっと細くなるのは、どこまで使えるのかなというのを判断したくて。

(東京大学：長棟教授) たまたまこのK562に関しては我々がよく使っていた細胞だったので使ったということがありますけれども、例えば浮遊細胞とか、ああいうpro-B細胞なんかですと、なかなか普通のトランスフェクション試薬なんかでは導入するのが難しく、エレクトロポレーションでも数%くらい、それからウィルスベクターなんかを使うと比較的高いトランスフェクション効率を得られるんですけども、普通のエレクトロポレーションであるとか、そういうトランスフェクション試薬では難しいものについても、こういったものを今後試していきたいと思っております。

(水口委員) やはりウィルスベクターに匹敵するくらい入るようになると、使う人も多くなって、それこそ先ほどの特許の話じゃないですけども、ユーザーが増えて、ということになると思いますが。あと、94枚目のところのプロモーターの配列特異的にというところ、これはPCRしているということですけども、これプラスミドに変えているんですけども、PCRをしたあとはリアのDNAでやっているのですか。

(東京大学：長棟教授) 基本的にここにはニックが入っています。ニックが入った状態でやっております。もちろんそのニックをつぶすというアプローチも当然あるんですけども、ここではあえてそこまでやらずにニックが残った状態でやっています。

(水口委員) これもおっしゃられましたけれども、光を当てないときがまだ半分くらいしか落ちていないと。ということは、例えばCMVプロモーターを使ってやると半分落ちたところでまだGFPはぎらぎら光っていると思うんですね。ですから、せめて10分の1くらいまで落ちないと使えないかなと。

(東京大学：長棟教授) これに関しては、そこまでいっていない理由としては、こういった光分解性のBhc基とビオチンの間にこれだけの長さのリンカーが入っていますが、これだけリンカーが入っていると、ちょっとここにストレプトアビジンをつけたとしても、プロモーター領域のところからの距離がやっぱりちょっとありまして、十分には転写因子なんかは阻害出来ていないという可能性があると思います。例えばこのアミノ基にビオチンをダイレクトに、要するに光分解性のこういうものなしに、直接的にビオチン化修飾して、それでストレプトアビジンをこれに修飾しますと100%抑制することが出来ます。ですからこのリンカーの長さとか、あるいはこれにつけるストレプトアビジンのサイズをもっと、ストレプトアビジンを多量化してもっと大きくするとか、そういったようなさまざまな改良によって、もっと効率よく抑制するといったことも可能になるのではないかと。

(水口委員) これはどの段階でトランスフェクションするのですか。

(東京大学：長棟教授) 基本的にはストレプトアビジンをつけた後です。

(水口委員) そうすると、ダイマーというか、マルチマーを作っている、巨大な……。

(東京大学：長棟教授) 例えばこういうケースも十分考えられます。

(水口委員) いま4つありますので。

(東京大学：長棟教授) ももちろん濃度比でもってある程度コントロールすることは出来るんですけども。

(水口委員) たぶんトランスフェクション効率が低くなっていくのではないかとと思うんですけども。

(東京大学：長棟教授) 基本的には、ビオチン化DNAに対してストレプトアビジンを過剰に加えれば、ストレプトアビジンにこれがたくさんつくという、そういう分子はずっと減らすことが出来ますので、そういった条件でいずれにしろ、この場合もやっております。

(辻本分科会長) いろいろなこれからの解析のための標準化ですとか、あるいはハイスループット化のこの技術の拡大だったと思うのですが、例えば運動性とかに関しては96wellベースで同じような手法でやっていて、1視野の中のいくつかを平均化してとかというような方法論とかありますが、この場合チップでかなり狭くて、ただし非常に多くの数がこなせる、基本的にはどのくらいまで1枚で出来るのですか。

(東京大学：長棟教授) ここで実際に行った例で言いますと、ここにありますようにトータルで1,476のスポットが乗るような条件ですね。これは普通のガラスプレパラート1枚のサイズですので、かなりの高密度化されたアレイです。

(辻本分科会長) あと具体的にいくつかのKinaseがこの手法で見つかったというお話ですけども、例えばWound-healing assayと異なるものが出てきている、先ほど聞き漏らしたかもしれま

せんが、いちばんの原因は何なんですか。この手法と Wound-healing の方法の違いは？

(東京大学：長棟教授) いちばん大きな違いはともかく細胞種が違うというのが1つ。それからあと、運動を誘導する手法がまず違っているということですね。基本的に、Wound-healing の場合にはかきとって、かきとったところのそういう刺激に対して細胞集団が増殖して、それで動いていく、集団運動する。

(辻本分科会長) 物理的なものとかの影響があるということですね。

(東京大学：長棟教授) そうですね。それに対してラットのほうでやった系では、コラーゲンコート上で細胞が一応うまく孤立したような状態の中で、どんなふうに動くかということを出している。

(辻本分科会長) 具体的に出てきた Kinase は1次スクリーニング、2次スクリーニングで siRNA で確認ばかりされていて、例えば逆に過剰発現したときとか、あるいは Kinase でいくつかは Kinase インヒビターとかも既知のものがあると思うのですが、そういうものでの検証とかはされていないのでしょうか。

(産総研：藤田主任研究員) いま遂行しているところでございます。

(辻本分科会長) 最後のケージド核酸というのは非常に興味深く聞かせていただきましたが、基本的に効率が悪いいちばんの原因は何ですか。

(東京大学：長棟教授) 基本的にはまだ、こういうストレプトアビジンをつけることによって、一種の転写因子がここに結合するのを、立体的障害的に抑制するといったことをねらってやっているわけですけれども、いまのリンカーの長さでは、これがふらふらして十分にプロモーター部分をブロック出来ていないということがいちばんの原因だと思っています。

(辻本分科会長) 非常に弱い光でもこういう反応が起こるということだと、非常に細胞培養中とかは、そこらへんは注意されているんですか。

(東京大学：長棟教授) もちろんそれは、一応遮光した状態で培養しています。

## 6-2 時系列測定技術開発

堀本産総研生体ネットワーク長より資料 7-2 に基づき説明が行われた。説明に対し以下の質疑応答が行われた。

(倉田委員) 今回時間変化の特徴を取り入れるという考えを持たれて、私としては非常におもしろい、いい方法だと思います。これ、第1方程式に変換したあと、その後はパラメータ推定はどのようにしていくのでしょうか。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) 既存のオプティマイゼーション方法に何でも乗っつけられます。ここは結局制約条件をインテグレーションしたことになるので、GA でも PSO でも普通のニュートン法でも何でも実装可能です。ただ、やはり相性もありまして、どちらかというところエボリューションナリーなあまりローカルなミニマムに落ち込まないようなかたちの従来の最適化法のほうが向いているというのは、計算結果で出ております。

(倉田委員) この式に変換することによって、いわゆる最適化の分野ではグローバルオプティマルのものを探そうというのが主流な考え方なんですけれども、これは時間微分の特徴を使って拘束条件が増えて範囲が狭まるというふうに考えてよろしいのでしょうか。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) おっしゃるとおりだと思います。

(倉田委員) 私はグローバルオプティマムというのに非常に興味があるんですけども、でも実際は生物のデータというのは非常にエラーが入っていて、あとネットワーク自身も不確かですから、いわゆるキネティックパラメータをあまり正確に求めるということにそれほど大きな重要性があるのかなというのは前から考えていて、最近私はグローバルオプティマムというよりは、ある生物条

件にエラーを含めて近づいているものは全部解の候補となり得るのではないかと考えていて、その中からあとどうしようかなというふうに考えるようになってはいるんですけど、実は先生のグローバルオプティマムのほうが圧倒的に論文も出ていますし、私の言っている可能性をたくさん出してというのはあまりないんですけども、そのへんはどうお考えになるのでしょうか。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) 先生のおっしゃるとおりだと思います。今日はお示ししませんでしたでしたが、ネットワークスクリーニングという方法は、いろいろな候補の中で、どれがいちばんデータとフィッティングしているかということを見積もる方法になっておりまして、やはり1つの方法で全てというのはなかなか、これは釈迦に説法で先生方皆さんよくお分かりだと思うんですけども、それはそちらのほうでなるべくモデルをファインにしていって限定していこうということは、努力いたしました。ここでの開発といいますのは、まず前提といたしまして、モデルがあると、それは正しくて、かつそれについての時系列データは非常にファインにとる努力を皆さんがされていると、で、それが得られていると。その前提に立った上においても、まだこの部分で先ほどお示ししましたように非常にいろいろなパラメータで、見た目だけフィッティングしているという、フィッティングはしたけどパラメータはうそだったってよくあるパターンですけども、その部分を何とか解消しようということをいたしました。ですから、いろいろな方法で組み合わせていけるうちの1つの要素、まさに要素の技術として開発したつもりでございます。

(倉田委員) まずグローバルオプティマムを求める努力をされていると思いますけれども、でも実際のところいくつか解が、候補と考えられるものがあつた場合、例えば一部の方々よくセンシティブティアナリシスをやっていて、その中にたくさん解の候補があるからあとロバストネスを見たら、いちばんそこから考えてみようとか、いろいろそのあとあるんですけども、實際上、これはいわゆる本当にいちばんゼロに近い、最適化関数がゼロになるんですか。最小ゼロになるものを選んできたという。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) その設定は、オプティマイゼーションのときに1%、5%とか、オシレーションのときには25%も入れました。その後の解析につきましても、やはりこんな中でこっちはこっち、こっちはこっちでやるよりも、このへんのをやるよりも、やはりこの中から選んでいってファイナルな答えに近づいていくほうが非常に効率は、かなり圧倒的に上がるのではないかとこのように考えております。

(倉田委員) 分かりました。ありがとうございました。

(松田委員) お聞きして大変オリジナリティの高い、いいご研究だと思いました。ちょっと教えていただきたいのですが、全体のストラテジーをいろいろお聞きしていると、私もあまり専門じゃないんですけど、なんとなく現代制御理論の状態方程式を観測出来ないような状態をいろいろ導入してそれを使ってきちっと制御をするという話とかなり似ているような気がしたんですけど、それと同じようなことをしていると思ってよろしいのでしょうか。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) 無意識だったのでですけども、行き着いたところがそこになりまして、よくよく考えますと、最初に申しあげましたように、前提としていただきました課題が生きた細胞でパータベーション少なくということですので、そうしますと本当に数理のほうですと変数が限られているという状況に合ってまいります。結果的にはそうなってまいりました。工学的なアプリケーションの汎用性を認めていただいたので、Maple のほうも入れてやろうというか、入れようということになったのだと思っております。

(松田委員) そのときに、いろいろなパラメータを導入して最適化しようとしているわけで、その妥当性というか何というか、最終的にちゃんと観測データと合えばいいんだという立場もあると思うんですけども、何かの戦略というか、例えばよくやられているのは赤池のAICとかMDLとかいろいろなやり方があると思うんですけども、そういうもので縛るとか、そういうことはあるのでしょうか。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) 私がこんなにビジーなものを作っちゃったのでミスリードしちゃったんですけども、パラメータは1つも入れていません、新しいものは、ここの数式、いまこれは1次の微分での空間での現象を表した式になっておりますが、これは高次まで許して、4次微分まで許したかたちでの、空間での同等な式になっております。パラメータの数は同じです。ですから、何も新しいパラメータを入れていませんので、束縛を新たに考える必要は何もなくて、ちょっと付け加えたというだけです。非常にコロンブスの卵だったんですけども、こういう空間があるというのが、Differential Eliminationの方法を幸いにして知りましたので、これを導入してみて、うまくいったということです。

(松田委員) 出てきた結果の、シミュレーションの結果の定量値がいろいろあるのですが、現在のところは、それは他の条件のときとの比較にも定量値が使えたりするのでしょうか。言っているのは、要するにこのパスウェイがいちばん効いているという、その目安に使えるというのはもちろんそうだと思うんですけども、それ以外に定量的にその値が何らかの意味を持つとか、順位だけじゃなくて値としてちゃんときちんと説明出来るような、たぶんもっといいのは、その説明が出来てなおかつそのところで出てくるようないろいろなパラメータとか何とか、そういうものが生物学的にちゃんとこういう現象を反映しているという説明が出来るとすごくおもしろいと思うのですが、その点はいかがでしょうか。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) 定量的な値がここで得られております。ですからこの場合に私どもで使いますと、Elkのこのkの値はこの値で、あとJNKはこの値ですということが得られます。これは解釈の問題になると思うんですけども、インタラクションしている物質の持っている本質的なパラメータなのか、それとも環境に応答してまた変わっていくようなデータとして得られているのかというのは、もう少し違った条件での計測の結果と見比べて、その結果が分かってくると思っております。基本的に数理の立場ですと物性的なものを持っていて、唯一変わらない量であるということになっておりますけれども、それほど私は生物をなめていませんで、いろいろ時間によって変化するのがその特徴ですので、その部分はもう少し、これは言い訳になってしまいますが、もし実験の時間がたくさんございましたら、よりファインに出来てくる。2009年に初めて、去年の夏くらいに急いでProceedingで出したくらいですので、まだ、ようやくここにたどりついて1年ちょっとくらいですので、こんなもので止まっております。もう少しやってみようと思っております。

(水口委員) 106枚目ですけども、そもそもの系を作るところで、d1のVenusというのは半減期1時間のVenusの変異体と考えていいですか。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) そうです。

(水口委員) それを使われたのはなぜですか。今回インプットの反応しか見てないので、アウトプットを見るならd1のVenusでやる必要があるかと思えますけれども。インプットしか見てないんだったら、感度が悪くてという話をしていましたけれども、普通のやつを使ったら圧倒的に感度よく。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) 酵素反応で見ようということでしょうか。

(水口委員) はい。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) 先生が部分的におっしゃったとおりの意図がございまして、酵素反応ですとまさに酵素反応なので、反応の1つのものがきて、モデルがまた変わってまいります。つまり今日これで見なかったのは、1つの分子が本当に1つのものについてという、そういう反応の素過程の部分で求められるかということがございまして、ルシフェリン等々の酵素反応によるわーっとたくさん光るものではなくて、こちらのd1のVenusのほうにいたしました。d1d2、時間につきましては、半減期につきましてはいろいろ工夫はいたしましたが、そんなに変化がございませんでした。変化がございませんとするのは感度につきましては、ですから、Venusである理由につきましては特にございませませんが、酵素の反応を見ないで1つのくっついたものを見ていこうと

いう、インタラクションを見ていこうということについては、意図がございました。

(水口委員) ぼくは Venus を使ったことはないんですが、GFP の場合は少なくとも d2 のやつと、本当のワイルドタイプの GFP と圧倒的に感度が違いますので、感度よく見ようとすると、ワイルドタイプを使われたらきれいに見えたのかなと思ったのですけど。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) この部分はいろいろ試行錯誤して下さった部分のデータを暗いところを見て、光った、光らない、これは光っているということをやっておりますので、その選択につきましては不明な部分がございます。

(水口委員) 少なくとも GFP の場合は d2 で見えなかったやつがきれいにワイルドタイプで見えるくらい、劇的にちょっと違いますね。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) こんど教えていただいてそちらの部分でも。もう終わっちゃったんですけども。あとの部分の解析はしっかり出来ておりますので、時系列もとれるようになっておりますので、ここの部分の改良はどんどんしていくべきものがあるかと思っております。ありがとうございます。

(倉田委員) いい方法なので興味が細かいところに及んでいるんですけども、微分方程式モデルの 2 次とか 3 次の微係数は測定データから作るものでしょうか。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) ちょっとラフな書き方なんですけれども、これにつきましては測定データから数値的に差分法で作っていきます。ですから、100 次元のものを求めるためには 101 のポイントが必要だという、そういう制限はございますけれども、数に依存した次数ですので、そんなに高次のもの、多数の測定点を求める方法にはなっていないと思っております。トレードオフになっております。

(倉田委員) 分かりました。あと微分方程式ですけども、これはいわゆる GMA とか一般的なべき乗のついたものに対して、やはり第 1 方程式にきれいに変換出来ると考えてよろしいのでしょうか。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) 次数が整数ですと大丈夫です。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) 実数になりますと、数学的には出来ません。ただ、ブリーエの部分、その部分は彼の担当なんですけれども、彼に言わせると若干の改良もあって、可能になりつつあるということなので。かなりみんな意識している部分だとは思っております。

(倉田委員) あと、 $x_1 \times x_2$  とか、そういう掛け算は大丈夫ですか。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) 線型、非線形、クロスタームも何の問題もありません。

(民谷委員) こういうリアルタイムかつ定量性をバイオロジーに入れようという、Quantitative biology が注目され、アメリカなどで多く of 物理学者、情報学者が生物学分野に参入し、何年もたっている状況で、かつ慶応大の富田先生みたいに E-cell みたいな話もあります。門外漢なので変な質問をしますが、たぶん数学的にはいろいろな手法があつて、今回のケースにあうように手法を選択して組み上げたという感じかなと、素人ながら思うのですけれども、それでよろしいのですか？ その場合、先生のいちばんのポイントはどこにあるのか、素人に分かりやすく説明していただけますか？

(産総研：堀本ネットワークチーム長) かなり個人的な見方になってしまうんですけども、大規模なデータはどうしても変化を追いかけていくのになかなか難しいところもあって、ましてやこのようにタイムシリーズになって、いちばんファインな解析がダイナミクスの微分方程式系の解析ですので、その部分に非常に大きなものを持ち込むのはなかなか難しいなという感覚をぼくは持っております。その部分はまた別の、少しラフな見方の方法があるかと思ひまして、微分方程式系ですごく大きい系をやっている方もいらつしゃって、それは非常にいろいろなたくさんの工夫をされていらつしゃいます。私どもが与えられたのはローカルな部分ですので、これはもう自信を持っていいと思いますか、きちんとしたデータが得られるということですので、ファインにして



いったということです。

(辻本分科会長) 私も素人なので素人的質問ですが、要するにこのプロジェクトの中で先生の分担されているところというのは、リードアウトを実際の応用につなぐところでかなり要諦になるところではないかと思っています。そうすると、例えば最後のほうでこの理論に基づいて最も近いパスウェイのことが確実であるとか、そういうことが示唆されるというようなお話があったかと思いますが、逆にこのパスウェイが示唆されたときに、ウェットのほうでこれが検証されたり、あるいはこのプロジェクトの中で例えば併用薬をやったときに、先生の解析のほうで言われたモデルが実際に実証されたとかいうようなケースというのは具体的にあるのでしょうか。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) 残念ながら答えはございません。本当に最初に三宅先生もおっしゃいましたけれども、最終段階になっていろいろ出来たと、私どももその1つでして、繰り返しになりますが9年に初めてここにたどりつきまして、それまでに2つの方法で、論文は書けたんですけどもどうも汎用的になりませんで、オプティミスティックなぼくも時々胃が痛くなりまして。

(辻本分科会長) その一番の原因は何だと思えますか。なぜそれがフィットされていないのか。数式上はフィットされていると思うんです。あともう1つ聞きたかったのは、例えば任意にパスウェイをこちらで描いた場合に、もちろんそれも計算していただけるんでしょうけれども、実証との違いとかが出てきた場合にどういうふうに説明されることになるんですか。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) まず実証のほうが正しくて、こちらが間違っているんだと、ぼくは思います。そのときに何が間違っているのかというのはこちらで人為的な原因はありまして、もともとの微分方程式系を、少しタームが違っていたとか、そのへんは出てまいります。ですから、それはもうキャッチボールでやっていくのが、これは最近のシステムバイオロジーはみんなそうですから、私どもがデータを解析いたしましてキャンディデートを出して、それを先生方とのコラボの中でデータをいただいて、矛盾点があればまたお互いに再考しながらブラッシュアップしていくという、そういうスタイルであろうと思っております。それが望むべき姿であろうと思うんですけども、私の力不足でなかなかファイナな決定打の方法を出すのが遅れましたので、ちょっとキャッチボール出来る時間がなかったというのが現状でございます。

(辻本分科会長) 分かりました。他に先生方、何かございませんか。

(大阪大学：三宅教授) 装置というのがなかなか難しいところがありまして、先ほどお見せしたような装置を作ってやっております。インセルアナライザーが果たしてどこまで作っているか正確には知りませんが、いまバイオリジカルな計測機器ってほとんど日本製ですよ。ブランドはアメリカかもしれませんが、日本の優れたメーカーがいいものを作っていると思うんですけども。我々はこういう解析システムを組み込んだ装置というものを売ってほしいと願っています。こういうことをプロジェクトでより進めていただければと思います。あともう1つは、先ほど水口先生からもご質問がございましたけれども、細胞の状態をいかにナチュラルな状態に保つかというのはけっこう難しく、ただただ光らせればよいということであればいろいろ方法はあるかもしれないんですけども、いろいろなものをどんどん放り込むということは細胞には違うパスウェイを作ってしまうおそれがありますので、かなり抑えた条件でぎりぎりのところで測るということもやっております。GFPについてはやっぱり分解してもらわないと分からないので、それで暗くなってしまったという現状がございます。それは測定の難しさということをただ語っただけなのですが、いろいろな条件を統合的に見て1つの測定系として纏めるというようなことを我々としてはしたいと思つたと。そちらをやっているうちに、これを創薬に応用するまでの時間はなかなかなかったんですけども、これからパスウェイに興味を持っておられる企業さんもいろいろいらっしゃるんで、我々はこういう技術を提供させていただきたいと思っております。

(東京大学：杉山教授) 辻本先生の研究バックグラウンドと、私は似ているので、全く同感に思う

んですね。内部の推進委員会を、数多く行ってきたわけですが、堀本先生の今日のご発表のようなすばらしい数学的なアプローチは、まだこの形で始められてから1年くらいしか経ておりません。それ以後の推進委員会では、辻本先生と同じようなコメントをよくしたのですが、モデル上でリファインしなければだめなところが幾つかあり、辻本先生が言われるような、他の条件での実験による実証をすることによるモデルの妥当性の確認が出来ていません。複数のパスウェイをブロックしたときに、この数理モデルで予測出来るようなアウトカムが得られるとか、それを何回か繰り返していきながら、もしモデルによる予測性が悪ければ、そこでまた数理モデルをリファインしていく、そういうプロセスが最終的にはバイオロジーと一体化するためには必要だろうというふうに、我々ももちろん思っています。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) そのためにきちんとした、数値的なデータを先生方にお返し出来るような要素技術は出来たという自信は持っております。

(辻本分科会長) いまの杉山先生のコメントで私も思い出したんですけれども、例えばDNAチップとかの中でパスウェイ解析をやっていくと、例えばグローバルなネットワークの中のどういう部分がかなり抑えられているかとかいうことがある程度、ぼやっと見えてくるとかいう程度でもかなりヒントを与えてくれるわけですけれども、例えば先生のパスウェイの解析で非常に詳細な、1個1個の連結まででなくてもいいんですけれども、例えばあるパスウェイがかなりある薬物では反応していそうだとか、そういうこともある程度シミュレーション出来る可能性はあるんでしょうか。

(産総研：堀本ネットワークチーム長) 方法をプロポーズしておりまして、先生のおっしゃったそのままを、つまり全体の中でアクティベートしている、いま制御ネットワークだけに限っておりますけれども、その部分でどこの制御ネットワーク、TFのレギュレートしたネットワークのサブネットがアクティベートしているのかということを検出する方法は開発いたしました。ちょっと違うプロジェクトで実データにも応用いたしましたし、外国でもちょっとやってもらっております。ですから、最終的に、本当に限られて絞り込まれて、さらに絞り込むときの部分としては、かなり精度の高いものがこの部分に出てきているというふうに思っております。

### 6-3 応用研究（臨床応用、創薬、機能性化粧品等）

がん研究会長崎氏、協和発酵キリン日下安全性研究所長及びカネボウ化粧品杉山主任研究員より資料7-3に基づき説明が行われた。説明に対し以下の質疑応答が行われた。

(倉田委員) 細胞のアッセイはどうやって、生死を判別するというのでしょうか。

(癌研：長崎研究員) 細胞の生死の判別でやっています。増殖アッセイなので、カルセインで染色して、そのデンシティでコントロールに比べて細胞死を判定しています。

(倉田委員) 最初の研究開発にあった、微弱な蛍光タンパクという話がありましたけれども、そちらの技術はあまり有効には使えなかったんですか。

(癌研：長崎研究員) 今回はパクリタキセルの感受性ということで細胞死をターゲットとしたので、とりあえずセルカウントというのを中心に、どのくらい生きているか死んでいるかという、薬剤に対する影響を見るために、細胞死を指標にしたのでそういう方法で構築しました。

(倉田委員) siRNAでパスウェイをいくつかノックダウンすると効果が上がっていますが、実際siRNAは薬剤にはならない。そのあとは、siRNAで得られた知見を実際に薬にするときはどういうことになるんでしょうか。

(協和発酵キリン：日下安全性研究所長) 先ほど私が申しましたように、できればカクテルみたいなイメージで臨床試験が出来ないかと。ただ、siの場合ですとある意味共通な配列というのがありますから、単純に、siが認識しているターゲットを阻害する阻害剤を3つとりましたと。3つを

カクテルというのはなかなかハードルが高くて、それぞれのPKなりそれぞれの毒性、相互作用とか全て網羅していかなければいけないので、いまのレギュレーションも含めてなかなか難しいなど。ただ si であればそこは何か可能性はあるのかなと思っています。ただ、si の場合はアルナイラムとかベンチャーが精力的に si の研究をやっているんですけども、いまデリバリーの問題がいちばん大きなところでして、やはり固形癌をねらったときに本当に固形癌に運べてちゃんと細胞の中に入ってターゲットをノックダウンするという技術が、やはり世界的にまだそこに到達していないので、できれば si のカクテルが理想なんですけれども、デリバリーという技術的なハードルがまだクリア出来ていないというところで、まだ本当に si カクテルというのは現実味が見えていないというのがサイエンスのレベルだというふうに認識しています。

(倉田委員) 分かりました。あともう1つ、カネボウさんの話で、セルアレイは使われていたんですか。

(カネボウ化粧品：杉山主任研究員) はい、使っています。いちばん最初の段階でKB1、KB2に着目するまで、すなわちいちばん最初のきっかけとなる実験がセルアレイの実験になります。

(倉田委員) それぞれのアッセイ系は何を見るんですか。

(カネボウ化粧品：杉山主任研究員) 今回96wellベースのセルアレイシステムを使いまして、siRNAをリバーストランスフェクションして、UVを当てて、MTTアッセイという方法でセルバイアビリティを指標に評価しました。

(倉田委員) それは薬剤で染色するとかそういうことですか。

(カネボウ化粧品：杉山主任研究員) 染色というよりは、ミトコンドリアの活性をみる試薬があって、それでセルバイアビリティを測ることが出来ます。

(秋山分科会長代理) パクリタキセルの細胞アレイなんですけれども、使った細胞は何が使われたんですか。

(癌研：長崎研究員) 既存のATCCから売っている乳癌のセルラインなんですけれども、1種類じゃなくて5種類くらい全部で確認して、複数で同じ動きをしたのを選定してきています。

(秋山分科会長代理) 薬剤耐性遺伝子の発現を調べると、患者の組織と癌と、いわゆる細胞株とで発現パターンが全然違って細胞株はだめだという話がありますよね。そのへんはいかがですか。

(癌研：長崎研究員) 細胞によって全然違うので、1つは複数のを調べたんですけれども、それで共通して動いてくるもの。今回我々が樹立した細胞株というのも既存のものももうかなり継代もさかれていて変わっているし、それでも検証して同じことが得られたと。実際には初代培養細胞で最終的には確認したかったんですけど、ちょっと今回間に合わなかったんですけれども、そこまでして検証していけば間違いないのではないかと考えています。

(秋山分科会長代理) 今度使った細胞の発現パターンというのはけっこう臨床検体に近い。

(癌研：長崎研究員) 近いです。それはマイクロアレイとかと比べて。

(秋山分科会長代理) 血清とか入れないで飼っている？

(癌研：長崎研究員) 入っています。ちょっと特殊なオリジナルなものですけど。

(秋山分科会長代理) その培地にミノがあるわけですか。

(癌研：長崎研究員) そうですね。樹立するときにオリジナルな、癌研でオリジナルに作っているものでやっています。

(秋山分科会長代理) 増殖因子を外から入れたり。

(癌研：長崎研究員) 入っています。

(秋山分科会長代理) 乳癌もそうですけど、いま癌幹細胞の培養は脳腫瘍以外はあまりうまくいかないんですが、どのくらい含まれているとか。

(癌研：長崎研究員) 既存の乳癌細胞でスクリーニング的に調べてみたんですけれども、例えば15株くらい調べたときに、5株くらいは10%とか20%とか、けっこう多いやつもありました。

- (秋山分科会長代理) 今回作られたのはいかがですか。
- (癌研：長崎研究員) 今回作られたのはまだやってないです。
- (秋山分科会長代理) やっぱりずっと飼っている培養細胞株はどうもなんかへんてこりんになっちゃって、ちょっと癌幹細胞が。
- (民谷委員) カネボウさんの成果ですけど、化粧品の開発をする際に動物代替が求められているじゃないですか、ヨーロッパなんか全部規制がかかって実験動物を使えない状況ですね。その場合にこういう手法で効果が証明されたら動物実験をしなくていいようになるという可能性はあるのですか。
- (カネボウ化粧品：杉山主任研究員) やらないです。ヨーロッパで2013年に8次規制改正ということで、原料ベースでも動物実験をしたものは、ヨーロッパでは必ず販売禁止になってきます。基本的にはヨーロッパの考え方がグローバルスタンダードになるという方向になってきますので、これから植物エキスとかを細胞レベルでまず見つけていきますけれども、効果検証を動物でやるということはしません。やり方としては、ヒトで効果検証というのはなかなか難しいところもありますけれども、皮膚の場合は3次元モデル皮膚というものがございまして、要は、よりヒトの皮膚に近い培養系がありますので、そういう培養系を使って効果検証を考えています。
- (民谷委員) そういうヨーロッパの動きに対して、こういうデータの出し方をすると、非常にポジティブにいいというふうに言えるかなと思ってお聞きしたんですが。
- (カネボウ化粧品：杉山主任研究員) おっしゃるとおりです。まさに私ども、プロジェクトに入るときに、細胞レベルで機能を解析出来るということが、動物代替という意味でも非常に魅力があった参加させていただいた次第です。
- (永野委員) パクリタキセルの実験を拝見させていただいたんですけども、siRNAの例えば薬剤耐性を取り除くような遺伝子と、抗がん剤のコンビネーションでシナジーが出るというのはすごくよく分かるんですけども、既存の抗がん剤を2種類、3種類使って本当にシナジーが出てくるかなというのはちょっと疑問なんですけれども。例えばケモセラピーですとファーストチョイスでやって効かなくなってセカンドチョイス、それもだいたいもう一緒に、同時に使ってもあまりサバイバルレートは変わらないみたいなデータもちょっと見ているんですけども、それはいかがでしょうか。
- (癌研：長崎研究員) 併用という意味ではsiと既存のやつとの併用という意味ですけども、先生がおっしゃっている、既存の抗がん剤の併用ですね。
- (永野委員) はい。
- (癌研：長崎研究員) いまもうスタンダードとして3種類、4種類の併用療法が実際にファーストチョイスとして行われていて、実際に今回パクリタキセル単剤というのは、今回臨床試験で組んでいますけれども、実際には単剤でというのはほとんど使われていないのが現状で、いまは併用で普通に行われています。
- (永野委員) そうするとこれから3種類、4種類組み合わせるともっといいものが出来ると。
- (癌研：長崎研究員) 抗がん剤同士でということですか。それは、いろいろな臨床試験を組みながら、組み合わせでその効果を見て決めていくというかたちになっていますけれども、いまのスタンダードは併用療法というふうになっています。我々は、ここでパクリタキセルの結果を出しましたけれども、実際にモデルケースとしてパクリタキセルをやりましたけれども、他にいま乳癌で併用とかで使われているエピルビシンとかドセタキセル、また併用でやったときの治療効果の候補遺伝子も全部出しているのです、こういった方法でやっていくと、どれが効かかで組み合わせるとまた役に立つかもしれないと考えております。
- (松田委員) あまりこのへんは詳しくないので素人質問で申しわけないんですけども、薬の開発でももちろんターゲットを抑えるというか、そういうところは非常に大事ですけども、それと同じ

ようにいろいろ、アドメトックス (ADME/Tox) とかそういったことがかなり出てくると思うんですけども、組み合わせたときに思わぬ毒性が出たりとかそういったことは、特に抗がん剤ですともともかなりそういう毒性とかが潜在的にあるような気がするんですけども、そのへんはどうなんでしょうか。

(協和発酵キリン：日下安全性研究所長) ぼくが答えるのがいいかどうか。おそらくいまの併用を考えると、もともとサイトトキシックなやつが多くて、ある意味毒と毒との組み合わせ。先ほど少し私出しましたが、いま分子標的薬剤という、グリベックが CML で効いてから、創薬の流れというのはサイトトキシックから、すべてと言ってくらい分子標的な世界に入ってきていて、分子標的薬剤というのはサイトトキシックな抗がん剤と、成人病の間くらいのイメージなんですよね。だから当然毒性も弱いでしょうし、あるターゲットにやっぱりスペシフィックな。ただ、その中心となってきたのがキナーゼ阻害剤ですので、もともとある何とか阻害剤という看板を背負っているんですけども、やっぱりマルチなんですよね。そういう意味だといろいろなキナーゼを阻害して行って、ただ、最初の創薬って看板を背負ったものっていうんですけども、いまはマルチのほうがいいよね。それはだからもともと複数のターゲットを阻害するほうが臨床効果が強いよね、というのがあって、いまの既存の抗がん剤を併用するとなるとそういう、合わせてみて初めて起きる毒性ですよ。動態面というのはすごく進歩していて、動的な相互作用ですとか、どちらかの曝露が上がると当然毒性が出やすくなりますので、そういう予測とかのシステムはすごく進歩しているんですけども、それでは分からない併用した毒性というところはいちばん怖いですね。私が言っていた、多剤併用にもっていきますというのは、例えばタキソールに対しての併用相手をいまから考えましようということなんですよね。そのときに絶対クリアしなければいけないのは、それぞれ単剤では毒性はないとか、むしろ成人病に近い安全域を持っていないと、これから併用の相手にはならないと思っていますので、併用をねらって新しい何とか阻害剤をとっていくというものを併用したときの、その併用したときのリスクは当然小さいものをとっていきましょうということなので、既存の抗がん剤で言われている毒性なりトータル面の課題というのではないものをとっていきましょうということで、解消とか、リスクは小さく出来るのではないかと考えています。

(松田委員) カネボウさんのほうですけど、パスウェイは基本的に分かっていると思ってよろしいんですか、この TCR のほうの。質問したいのは、一応 KB2 のほうで注目されていますけれども、パスウェイの周辺でもうちょっと見ていったほうがいいのかなんか、化粧品なのでどういう戦略をとられるかというのがよく分かってないんですけど、かなりもう少し広い範囲で見るとか、そういったことは予定はありますでしょうか。

(カネボウ化粧品：杉山主任研究員) 今日はデータは出してはいませんが、KB2 が見つかって、1 つはウェットの実験でご紹介した TCR の活性を測ったりとかそっちのほうをやりながら、素材評価系を作っていました。もう 1 つやっていたのは、文献をベースにしたパスウェイのデータベースがありますので、KB2 とインタラクションするような遺伝子を探してきてそれをノックダウンしたら紫外線感受性はどうなるのかという、そういう視点でも実験をやっていました。つまり、TCR に影響を与えそうな新規パスウェイを見つけようという、そういう戦略もあって、やってはいたのですが、今日はデータはお出ししなかったという、そういう経緯です。

(辻本分科会長) いろいろ教えていただきたいんですけども、カネボウさんの、まず最初から UV に関係するパスウェイの遺伝子群というのはある程度限定されていて、それでこの中から出てきたということでよろしいんですよね。

(カネボウ化粧品：杉山主任研究員) そうです。スタートは、ある程度 UV を意識して、UV にかかわりそうな遺伝子を文献ベースで、今回は 300 強を選んできて、それをスタートにしました。

(辻本分科会長) そうすると例えば私みたいな素人は P53 関係だとか、DNA リペアだとかそこらへんの周辺のを全部集まっています、そうするとこの KB1、KB2 というのも同じようなグループに属する

ようなものじゃないかと予測するんですけど、それで絞りあげてきて最後に化粧品の素材のところまでいかれていますよね。ということは逆にいうともう素材のほうで、そういうものをターゲットにするものをご存じだったんじゃないかなとぼくは思ったんですけど。要するに素材の効果をターゲットがすでに分かっていたか、データベースとかお持ちなんですか。

(カネボウ化粧品：杉山主任研究員) 私どもが化粧品に配合している成分で、例えばマイクロアレイ解析等の網羅的解析で、何に効くのかとか、それをデータベース化したものは実際には持っておりません。確かにNERという経路が、紫外線によるDNAダメージを修復するということは分かっているのですが、それをノックダウンして発現量を下げたときに本当に紫外線の感受性が影響を受けるのかとか、そういうのは実は分かっておりません。繰り返しになりますが、NERのパスウェイの中には約40弱くらいの遺伝子があって、どの遺伝子の発現量をノックダウンしたら紫外線の感受性に影響を与えるのかということは実は分かってないです。ですので、私たちはサイエンティフィックにもニューな知見だと思っています。

(辻本分科会長) 先ほどから同じような質問をしています、パクリタキセルの、要するに耐性といいですか、効かないところにsiRNAを用いて2つのほうのパスウェイが、3つですか、見つかったということですが、これは別ものと考えていいんですか。同じパスウェイに属する遺伝子が見つかったんじゃないかと。

(癌研：長崎研究員) 全然別なパスウェイとして3つ。

(辻本分科会長) ちょっとものが分からないので。そうすると、その3つのパスウェイというのは、例えば薬物の耐性が出てくるとか、あるいは効かない患者さんのほうではかなりそのパスウェイが主になっているというのは変ですけど、というような逆のエビデンスみたいなものはあるんですか。

(癌研：長崎研究員) 例えばパクリタキセルについての感受性に影響を与えるという報告はまだないです。今回ハブとなっている3つの遺伝子に関しては、先ほどお出ししましたけれども、マイクロアレイのデータから言うと効かない患者で発現が上昇しているという現象はとらえています。ただ、今回パスウェイ上の遺伝子も新たに機能解析で、結局マイクロアレイはノイズが多いですからあまり拾ってこれないんですけど、そういった新しい遺伝子もパスウェイとして持ってきて、同じような現象で確認したという新しい考えです。

(辻本分科会長) プレゼンだと、マイクロアレイとsiRNAを使ったセルアレイと結果が大きく違ったような。マイクロアレイも一応それは。

(癌研：長崎研究員) 結果は同じです。

(辻本分科会長) 分かりました。トリプルネガティブをscidに入れられて、それで検証されていますけど、最近例えば乳癌でまさにされていたと思うんですけど、移植をした場合とかあるいは転移した場合ですね。原発とかなりフェノタイプが変わるというふうに、癌自身の。というようなチップだとかの結果から出てきていますけれども、そうするとこの検証結果とsiRNAを併用された場合というのは、原発のキャラクターをそのまま持っているとは考えにくいのではないかと考えたんですけど。

(癌研：長崎研究員) まずその患者が実際にパクリタキセルで治療されているわけではないんですけど、本来だったら治療されてその結果と合わせるというのがいちばんいいんでしょうけれども、それは照らし合わせることは出来ません。それと、臨床での原発巣ですね。それと自立した細胞に関してはCGHもしくはマイクロアレイによって発現の違い、大きく変化しているかどうかというのを確認して、いろいろなところに混ぜても、他の癌種に混ぜてもうまくペアリング出来るので、比較的良好な状態というものは保っていることは確認しております。

(辻本分科会長) 分かりました。他にはよろしいですか。

## 7. 全体を通しての質疑

(辻本分科会長) 先ほど堀本先生のほうからも、暗闇のところでもいろいろと議論したという、かなり密にウェットの方と議論されながら進めていったというようなお話がありましたけれども、他の、要するに本日成果発表があった、各グループ間あるいはグループの中でもいいのですが、いちばん最初に冒頭で全体のどういう何回ミーティングをやったとかそういうようなお話がありましたけれども、もう少し具体的な、チームの中での、あるいはグループ間での、何か推進していく上で工夫された点とかがありましたら教えていただければと思うんですけど。

(大阪大学：三宅教授) まず、公式の話としては年2回の推進委員会がありますが、それ以外に2回以上、グループ内の推進委員会をやっています。それから随時何らかのテーマで会合を持っておりまして、少なくともその回数は100回くらいになっているだろうと思います。テーマごとに、例えば堀本先生のところでしたら我々のグループとか長棟先生のグループとか、そういうところがいろいろなかたちで連携をとって、共同研究の実際深いところをやっているわけです。ではもっと広い範囲でどうだということ、最初はかなりみんな孤立していました。それがだんだんだんだん融合してきたというのがいまの姿です。もう少し長ければもっと完全な融合になったんじゃないかと我々期待しているのですが、今のところは先生がご覧になったとおりのレベルでございます。

(辻本分科会長) 先ほどのお話じゃないですけど、リードアウトするグループと計算のグループ、けっこう密にされていたという印象を持ったんですけど、それと、siRNAを使ったセルアレイの実際の応用とかに関して、かなり技術的なノウハウがまだけっこうあると思いますので、そういう意味では開発された人たちと実際の応用研究をやられている人たちはかなりタイトにされていたんじゃないかと思うんですけど、大きく分けてそういうグループ間同士でもかなりコミュニケーションされていた。

(大阪大学：三宅教授) 具体的なことをやっていないかぎりには、あまり深いお付き合いはなかったかもしれません。ただストラクチャーでもう一度ご理解いただきたいのですが、先ほどの癌研さんのお話にもありましたけれども、我々のグループはかなりヒトの生の細胞を使っているんですね。それをもともとのねらいにしていきました。癌研さんはヒトの特性をすべて持った癌細胞の樹立株を作るということを目指して、それはいくつかがやられました。山口大では実際ヒトのプライマリーセルで実験をされました。こういうグループはなかなか少ないんじゃないでしょうか。生の細胞から、堀本先生の理論的な話まで統合していたと。次第にこの文化がお互いに共有される状況になってきた。堀本先生の話を実際の方が聞いてもギョッと言わないというレベルにはいまあるわけです。

(辻本分科会長) 他の先生方、全般的なことでは何か。

(倉田委員) 私としてはセルアレイは期待しているんですけども、実際のところ国際的競争という観点でどういう位置付けと考えたらよろしいのでしょうか。

(大阪大学：三宅教授) それはきっと先生方が判断される問題かと思いますが、我々が考えているのは、聞いたことがないので、我々が断トツ1位とかオンリーワンだろうと思っています。

(永野委員) その時系列解析というのは世界ではどこもやられてないんですか。

(大阪大学：三宅教授) 時系列解析に近い考え方はあるんです。あるからこそインセルアナライザーのようなものが売られているわけです。しかし、ここまで本格化したというのはない。先ほども申しましたけれども、インセルアナライザーのような細胞解析機器というのは、多くは中身は日本製なんです。日本がやはり突出した精密加工技術を持っているということが、我々の背景にあります。

(辻本分科会長) 私もインセルアナライザーを使っている側からいきますと、過去、先生が言うよ

うに確かに日本が優れているんですけど、iPad みたいなのは作れないというのは常によく言われますけど、やっぱりインテグレーションというところに問題があって、冒頭でも質問させていただいたように、やっぱりパッケージとして作る方向性というのをぜひ、ユーザーがすぐ使えるようにやっていただくといいかなと。

(大阪大学：三宅教授)　ぜひ杉山先生をスティーブン・ジョブズにしてください。あと数年やれば、iPad 並に世界を席卷します。

(松田委員)　時系列で緻密にデータをとっていくというのは、その中でダイナミックな変化がとらえられるというのは非常に魅力的なんですけど、いまの成果でこういう時系列というか、こういうタイムコースで細かいデータをとったからこそ、こういう成果が得られたという、はっきり言えるようなことというのはどういう点がありますでしょうか。

(産総研：堀本ネットワークチーム長)　ちょっと抽象的なことになるんですけど、やはりいちばんの、このタイトルのような細胞アレイの、細胞が本当に変化しておりますので、その変化をいかに忠実にとらえるかということで、これは私も先生もドライのほうの立場なので、とっていただくデータが緻密なものであるということで期待して、私はそのとおりのものをいただいたので、非常にやりがいがあった仕事だったと思っております。変化をきちんとしたかたちでとらえていく、それを内包した情報が私どものほうに得られる、そしてそれをフィードバックしながらキャッチボールが出来ていくということではないでしょうか。ちょっとドライ寄りの、数理寄りの立場のお話でしたけど。

(東京大学：杉山教授)　それは途中で辻本先生がご質問されて私がコメントしたことにまさに尽きるんですけども、そこまでももちろん行いたかったわけです。ただ、いまの段階では時系列のデータを細胞レベルでダイナミックに解析するために、まずきちんとしたデータをとれるということ。それを画像処理して、さらに数理モデルで解析するというところがやっと出来てきた。このあと、この方法論でしかわからないことをやろうとすると、例えば先ほどもコメントしましたように、複数のノックダウンをすることにより新たな分子が見えてくるというようなことが出来るのが最も理想だったのですが、ちょっと時間が足りなかったという現状でしょうか。ただし、解析において新しい要素技術は堀本先生が言われたようなところで間違いなく出てきています。

(大阪大学：三宅教授)　実は堀本先生とレヌーさんのグループは共同研究をはじめまして、インドの薬草であるアシュワガンダがどうして抗がん作用を持つかという研究はすでに時系列の解析を使って始まっています。他にも堀本先生のところにそういうお話がありますので、いくつかの例がここ、遠からず出てくることになると思います。それから、こういう状態、我々はいま始まったところです。しかし、おそるべきは欧米の力です、Maple のような有名な汎用ソフトが堀本先生に目をつけて組み込んだと。その部分はある程度やられるおそれがあるので、日本としては精密加工技術で計測のほうを上手にやる必要があるんじゃないかなと思っています。

(水口委員)　せっかくの技術ですので、広く多くの方に知っていただくために、シンポジウムとか、そういったものを企画するとかというお考えはどうなんでしょうか。

(大阪大学：三宅教授)　ぜひやりたいと思っております。どういう機会にやればいいのか、学会等でもシンポジウムを組ませていただければ我々としては大変ありがたいと思っております。

(水口委員)　今年はもう間に合いませんけど、例えば分子生物学会のシンポジウムに出されてやられるというのが1つのアイデアじゃないかなと思うんですけど。

(大阪大学：三宅教授)　それは大変ありがたいです。今年は評価のために緊張しております、なかなかそこまで手がまわらなかったんですが、来年考えさせていただきます。ありがとうございます。



## 8. まとめ・講評

各評価委員から以下の講評があった。

(水口委員) 最後に申しましたように、せっかくいいものが出来て、その理論から最後の応用例の成功例まで、纏めて多くの人に知っていただく機会をぜひ作っていただいて、多くの人に知ってもらって、また広めていただく努力を今後していただきたいと思います。

(松田委員) 非常に総合的に全体を聞かせていただいて、大変感銘を受けたというか、非常に大きなお仕事をされたという気がします。本当にこういうプロジェクトはこれまで私自身が見た中でも珍しい、本当に要素技術からきちんと実験系から、きちんとドライな理論的なインフォマティクスの部分まで組み込んであるというのは非常にいいプロジェクトではなかったかと思います。ぜひともこういう、全部きちっとチームを組んだというのは大事ということ、先ほど水口先生が言われたように、シンポジウム等を出していただければという気がします。個人的な感想なんですけど、やはり我々のようなインフォマティクスの人間から見ると、全体のバックグラウンドがそろった、きちっとしたデータがたくさんそろって出てくるというのは非常にうれしい状況なので、ぜひそういうところで、今後も努力していただければという気がします。どうもありがとうございました。

(永野委員) テーマとして非常に野心的なテーマだというふうに感じました。短期間で達成するのは非常に野心的なテーマで難しいのかなと思っておりますので、早急に応用例なんか、プロダクトで出すというよりも、やっぱり息を長く続けていただきたいなというふうに感じております。

(民谷委員) 国プロとして1社では出来ないような共通の課題を創薬技術という中で設定されて、非常にいいテーマを設定されて進められたということは、まず評価出来ると思います。それから、途中であえてパスウェイの展開を勇断された点は、非常に評価をします。私はデバイスのほうの専門なのですが、特に、細胞デバイスの専門で、今回の成果で開発された細胞デバイスの技術に関しては少なくともすばらしい技術であると思います。それから、応用のほうは非常にすばらしい例が出ていますが、私が個人的に思うのは、機能的な食品などの効果も単一ではなく複合的な効果であり、創薬以外の展開も非常に期待出来るような気がします。ぜひともこの成果をオープンにさせていただくのと同時に、途中で方針の修正があったこともあって、まだ未成熟なところもあるので、ぜひ次につながるような大きな展開になればと思います。以上です。

(倉田委員) 今回ゲノム創薬ということで、ゲノムから始まって、トランスクリプトーム、その他、プロテオームも含めていろいろと研究されてきたんですけど、いまひとつうまくいってなかった状況で、今回セルアレイが提案されて、私としては改善されていくなという印象をもちました。ですからゲノムから始まって、オミクス的な部分を持ちながらも、システムとして生物の細胞を理解するという観点で、学問的にもいい筋道だなと思いました。あとは、国際的競争力ですかね、そういう点で、汎用的な技術ですから、もっと盛り上げていって、国際的に勝っていきたくて、そういうことを考えていただければより一層いいと思います。あと、情報のほうで今回、第1方程式に変えるという非常に理論的というか数学的にしっかりした方法で行われていますので、その点は学問的にはよかったんじゃないかと思います。

(秋山分科会長代理) 大変有意義なプロジェクトだったと思います。創薬のための技術開発と銘打ってありますけれども、バイオロジー一般にとっても非常にキーになる部分をとらえているいろいろな開発がされていて、ですから自分の不勉強ですけど、このプロジェクトのことを全く知りませんで、いろいろな開発された技術についても知りませんでした。考えてみると、例えば長棟先生が出される雑誌、たぶん我々ベーシックなバイオロジーの研究者は読まないですよ。読まないほうが悪いんですけど、サービスとして、さっきシンポジウムとかいろいろな話が出ましたけれども、もうちょっと宣伝をしていただいてもよかったかなと。ホームページなんかも見ましたが、ぺらっ

と2ページあるだけで、いろいろ書いたりするのは面倒くさいですし、ぼくもいろいろなこういうお金をもらうといろいろなオブリゲーションがついて、シンポジウムをやれとか報告書を書けとか、簡便してくれと思うんですけど、立場が逆になるとそう思う。最低限研究者のホームページにリンクを張るとか、そのくらいはよかったかなと思いました。あとは、こういうプロジェクトが終わったあとは、金の切れ目が縁の切れ目で雲散霧消するということがよくありますけど、ぜひ続けて、さらにいい仕事にしていっていただきたいと思いました。

(辻本分科会長) もうすでに皆さんの言われたとおりだと思うのですが、私も NEDO プロジェクト、ややもするとけっこう総花的で雑多なグループが集まってただやったというだけのことがけっこうありますが、その中では規模的にも非常によく纏まっていたらよかったと思いますし、セルアレイを中心にウェットとドライの方がうまくかみ合っていたかなという印象をもちました。あと、やはり出口をはっきりと見据えて、マネジメントがうまく作動したのではないかと聞かせていただきました。おしむらくは、成果として先ほども議論がありましたが、特許が何かのかたちでもう少し具体的なところが伸びるといいなということが印象です。

## 9. 今後の予定、その他

事務局より資料8に基づき説明した。

## 10. 閉会

### 配布資料

資料 1-1	研究評価委員会分科会の設置について
資料 1-2	NEDO技術委員・技術委員会等規程
資料 2-1	研究評価委員会分科会の公開について (案)
資料 2-2	研究評価委員会関係の公開について
資料 2-3	研究評価委員会分科会における秘密情報の守秘について
資料 2-4	研究評価委員会分科会における非公開資料の取り扱いについて
資料 3-1	NEDOにおける研究評価について
資料 3-2	技術評価実施規程
資料 3-3	評価項目・評価基準
資料 3-4	評点法の実施について (案)
資料 3-5	評価コメント及び評点票 (案)
資料 4	評価報告書の構成について (案)
資料 5	事業原簿 (公開資料)
	資料 6-1～資料 6-2 プロジェクトの概要説明 (公開資料)
資料 6-1	「事業の位置づけ・必要性について」、 「研究開発マネジメントについて」
資料 6-2	「研究開発成果について」、 「実用化の見通しについて」
	資料 7-1～資料 7-3 プロジェクトの詳細説明資料 (公開資料)
資料 7-1	デバイス関連技術開発
資料 7-2	時系列測定技術開発
資料 7-3	応用研究 (臨床応用、創薬、機能性化粧品等)

資料 8

今後の予定