

## 令和2年度 学術研究助成金〔社会実装研究〕実績報告書

令和 3 年 5 月 31 日

日本大学学長 殿

氏 名： 小 松 泰 喜  
資格・所属： スポーツ科学部・教授  
実施研究所： スポーツ科学部・スポーツ科学研究所

下記のとおり報告いたします。

### 1 研究課題

上田市鹿教湯地区での温泉とスポーツ・健康施策が及ぼす地域経済活性化への影響
---------------------------------------

### 2 研究期間

令和元年度～令和3年度 / 令和 年度

### 3 研究組織

研究代表者及び研究分担者

	氏 名	部科校・資格	役 割 分 担
研 究 代 表 者	小松泰喜	スポーツ科学部・教授	関係各所との連携協議、研究実施に向けた調整と研究の推進
研 究 分 担 者	小山裕三	スポーツ科学部・学部長・教授	研究組織の構築と管理
	加藤幸真	スポーツ科学部・専任講師	運動プログラムの立案試案
	高橋亮輔	理工学部・准教授	具体的運動プログラムの実施
	難波秀行	理工学部・准教授	アンケートの実施とデータ解析
	岡野雄司	短期大学部・教授	データ入力とその管理
	松原茂	スポーツ科学部・教授 (令和3年3月31日退職)	運動プログラムの立案試案
	洞口敬	医学部・講師(専任扱) (令和3年3月31日退職)	健康管理の指導

連携組織

組 織 名	役 割 分 担
鹿教湯温泉旅館協同組合	研究実施協力の連携、協議
上田市	研究実施協力の調整
リハビリテーションセンター鹿教湯病院	人材の派遣や研究実施に関する協力

※ホームページ等での公開( 可・否 ) いずれかをチェックしてください。  
否の場合は、理由書を別途添付のこと。

#### 4 現在までの達成度

当初の研究目的に対する達成度について研究期間全体を 100%として、以下の区分より自己評価を行ってください。  
<区分>①当初の計画以上に進展している。②概ね順調に進展している。③やや遅れている。

【区分： ②】・【達成度： 60 %】

#### 5 研究目的

研究の全体構想及び本研究の具体的な目的について記述してください。

<区分>②概ね順調に進展している。

長野県上田市鹿教湯地区は、昭和 31 (1956) 年に国民保養温泉地 (環境省指定) に指定され、周辺地域の農村医療を担った鹿教湯病院とともに大きく発展した。しかし、上田市の丸子温泉郷の中でもこの地は、かつては「健康の里」として賑わったが、近年は入込客減少や温泉供給施設等の老朽化といった課題に直面している。そのため、超高齢社会による生活様式の変容を主要因として、当時の活力が失われている現状がある。そこで既存施設による具体的な健康施策を実践し、地域住民のみならず、そこを訪れる方々の健康支援を推進し、超高齢化社会における健康長寿延伸が現代社会の課題解決に貢献することを本研究の目的とする。そのため、社会資源の活用と産学連携により開発した運動プログラムを提供し、睡眠と心身の健康を含めた、療養効果やデータの蓄積により温泉と健康に関する研究の推進がはかれることにより、繰り返し宿泊をする利用者が増え、地域経済活性化につながる可能性がある。温泉地の環境づくりに大学が連携協力し、地域資源の有効活用に寄与することは、社会的課題解決そのものに繋がり、有効な手段となる可能性がある。

#### 6 当該年度の実施状況の概要

次の点について、具体的かつ明確に記述してください。

- ①当初の研究計画, 具体的なマイルストーンに対する進捗状況
- ②進捗上の問題点と今後の対策

##### ①当初の研究計画, 具体的なマイルストーンに対する進捗状況

昨年度は対象者が 8 月期 15 名、2 月期 10 名であり、実施内容として、運動プログラムの提供前後に主観評価 (幸福感、健康度、睡眠、運動器痛、運動能力、バイタルなど) など、滞在中に睡眠段階の評価と合わせ、参加者に縦断的な成果の結果の一部をフィードバックした。特に、身体・精神的な機能評価とその結果を踏まえた運動介入による効果について、データ収集は順調であった。当該年度である令和 2 (2020) 年度は、前年の成果を踏まえ、具体的な健康施策が提言できることを目標としていた。前年度に研究協力に同意をした参加者を中心に、同様のアンケートや、共同研究として実施している環境省全国「新・湯治」療養効果測定調査プロジェクトから、温泉に入浴された方々に対し、調査を継続する予定となっていた。運動プログラムはスポーツ科学の観点から過負荷の原則に従い、加速度トレーニング機器 (パワープレートなど) を利用し、生体の適応性を利用した強度の運動を提供してきた。その成果についても、一定以上の負荷による効果を検討し、運動の強度、持続時間、頻度、期間などの適用量について再検討を行う予定としていた。

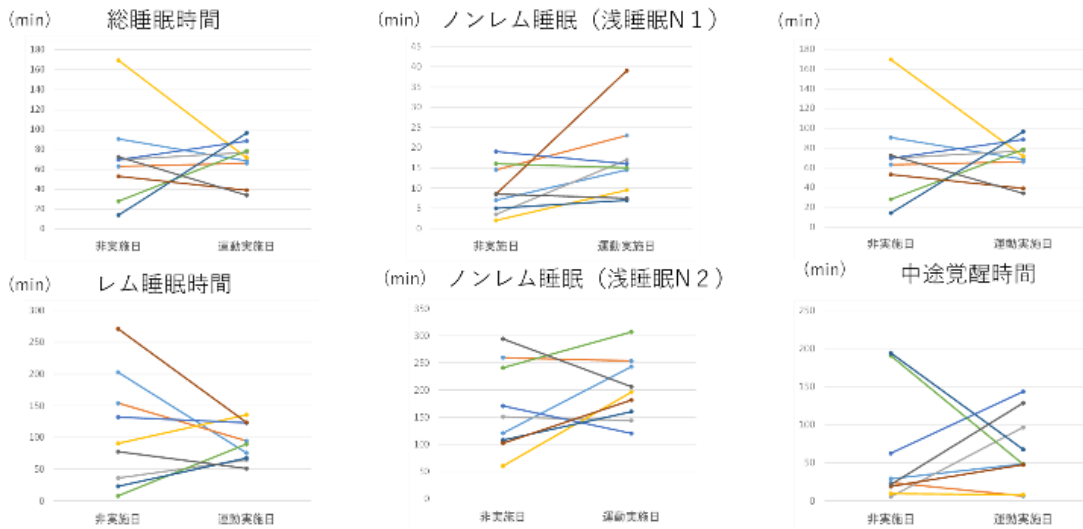
## 〔6 当該年度の実施状況の概要（つづき）〕

## ②進捗上の問題点と今後の対策

令和2年度は新型コロナウイルス感染症の影響により、研究実施等が困難であり、令和元年度の集積データに関して解析を推進し、さらなる分析等を実施した。その成果報告は、すでに第4回温泉を活かした新しい健康づくりフォーラム（令和3年3月17日（水）13:30～15:45）<http://www.env.go.jp/press/109076.html>が開催され、そこでそれまでの実績と中間報告を行った。

中でも、さらなる分析から以下のことが示唆された。運動プログラムの実施を目的変数とし、運動の非実施日と実施日の睡眠段階について解析を行った（下図）。

## 各睡眠指標の非実施日と運動実施日の比較



①レム睡眠時間に関しては、非実施日の個々のバラツキが大きいですが、実施日にはかなり小さくなっている。

②総睡眠時間は全体では長くなる傾向があるが、非実施日に長いものは、実施日に短くなる傾向にある。

③スポーツの技術（コーチング）指導、栄養指導と同様に個別指導が必要になってくる可能性がある。これらは先のフォーラムでも報告を行い、参加者から高い関心を示して頂いた。

今後は本研究課題として携帯用の脳波計を使用し、睡眠段階を評価し、運動強度の睡眠への有効性を報告することとする。また、運動プログラムの実施として、具体的な運動強度との関係から、実施時間等も含め睡眠評価をすることは有益であると考えている。本年度は業務委託費として近隣医療機関より運動プログラム支援員として協力要請を行っていた。研究遂行上の理由とデータ数の確保から、当該年度は参加者の増加を見越し、2名追加し、業務委託費として計上予定である。

## 7 学会発表等

当該年度における研究成果の発表状況（学会発表，成果物展示，プレス発表等）について記入してください。  
 要旨集の抜き刷り，発表原稿のコピー等及び発表したことがわかるものを添付してください。

発表者名	学会，発表会名等	発表テーマ	発表年月
小松泰喜	第4回温泉を活かした新しい健康づくりフォーラム	上田市鹿教湯地区での温泉とスポーツ・健康施策が及ぼす地域経済活性化への影響	令和3年 3月17日

## 8 著書・雑誌論文

当該年度における研究成果の発表状況（著書，雑誌等）について記入してください。  
 著書，雑誌，抜き刷り等を添付してください。コピーの場合は掲載されたことが客観的にわかるものを添付してください。

著者・執筆者	著書名・雑誌名／論文名	巻・号	年月	出版社・発行所

## 9 本研究課題に関するその他の発表（新聞，一般雑誌掲載等）

第4回温泉を活かした新しい健康づくりフォーラム（令和3年3月23日付信州民報記事）

## 10 その他の成果

### 11 本研究課題による知的財産権の出願・取得状況

名称	知的財産の種類	発 明 者 (考案者・創作者)	権 利 者	出願・登録番号	出願年月日	取得年月日

## 1 2 今後の計画

実用化までの今後の計画について、当初計画からの変更点をふまえて記載してください。

「6 当該年度の実施状況の概要」で示した通り、令和元年度の運動プログラムに関しては、研究分担者および研究協力者らと、プログラムの見直しを実施し、主観評価（幸福感、健康度、睡眠、運動器痛、運動能力、バイタルなど）の結果や、加速度計から得られた運動プログラムの強度や睡眠段階との比較検討から、成果を共有することとする。そのうえで、当該年度の運動プログラムの再考のための資料と、実践に昇華させる予定である。特に、これまでの運動・生活指導を含めたプログラムについて、令和3年度は参加者に縦断的な成果をフィードバックする予定である。また、睡眠と心身の健康の観点から、滞在中に睡眠段階の再評価も実施する。これらの結果を踏まえ、提供する運動プログラムが普段から実践できるように、前年同様、加速度計を装着し、地域資源を活用した運動プログラムの際にそれぞれの強度について再確認ができるような、認知行動療法の手法を用いた検討をすることとする。

運動プログラムは最終的にはスポーツ科学の観点から、適切な負荷による生体の適応性を利用したプログラムとして運動の強度、持続時間、頻度、期間について検討した後、参加者へ縦断的な成果を令和4（2022）年1・2月期（予定）に最終評価として参加者へフィードバックを実施する予定である。また、第5回温泉を活かした新しい健康づくりフォーラムにて研究成果の公表を目指す。

当該年度で最終年を迎えるが、2（3）年間の研究成果は、縦断研究として検討を重ね、日本公衆衛生学会が提唱する地域診断ガイドラインに則った検討も実施することとしている。また、達成できなかった場合の対応策については、評価時期を年に複数回設けることとしており（前年度は8月期、2月期）、常に「官」、「産」、「学」の連携の下で参加者に働きかけることが可能な体制（鹿教湯温泉旅館協同組合、上田市（産業観光課を中心に）鹿教湯三才山リハビリテーションセンター鹿教湯病院）であり、その解消を図る予定である。参加者は長期滞在者として高いリピーター率があることから実現可能性は高いものと考えている。

本研究課題の成果により、温泉とスポーツ・健康施策を活かした結果から、運動プログラムによる運動強度と睡眠段階の改善との関係を明らかにすることもさることながら、鹿教湯地区における旅館・宿泊客のつながりを深め、高齢者だけではなく、各年齢層の人が「健康づくり」のため、地域に来ることにより、地域経済活性化にもつながることが示唆されることとなる。

## 令和2年度 学術研究助成金〔社会実装研究〕実績報告書

令和 3年 4月 8日

日本大学学長 殿

氏 名：綱 島 均

資格・所属：生産工学部・教授

実施研究所：生産工学部・生産工学研究所

下記のとおり報告いたします。

## 1 研究課題

IT 技術を活用した地方鉄道の高安全度化に関する研究

## 2 研究期間

令和 元年度～令和 2年度 / 令和 年度

## 3 研究組織

研究代表者及び研究分担者

	氏 名	部科校・資格	役 割 分 担
研 究 代 表 者	綱島 均	生産工学部・教授	研究統括, 軌道状態診断アルゴリズム開発, 踏切高安全度化スマートホンアプリの開発
研 究 分 担 者	高橋 聖	理工学部・教授	踏切高安全度化制御システムの開発
	保坂 成司	生産工学部・教授	軌道の予防保全プログラムの評価
	望月 寛	理工学部・准教授	踏切高安全度化制御システムの開発
	山内ゆかり	生産工学部・専任講師	機械学習による診断アルゴリズム開発
	永村 景子	生産工学部・専任講師	踏切高安全度化のための現地試験と評価

連携組織

組 織 名	役 割 分 担
1. 独立行政法人自動車技術総合機構 交通安全環境研究所	安全性, 信頼性評価および鉄道事業者との調整
2. 株式会社京三製作所	システムの製作
3. 山形鉄道株式会社, 銚子電気鉄道株式会社	実験フィールドの提供

※ホームページ等での公開(☑可・☐否) いずれかをチェックしてください。  
否の場合は, 理由書を別途添付のこと。

#### 4 現在までの達成度

当初の研究目的に対する達成度について研究期間全体を 100%として、以下の区分より自己評価を行ってください。  
<区分>①当初の計画以上に進展している。②概ね順調に進展している。③やや遅れている。

【区分： ③】・【達成度： 70%】

#### 5 研究目的

当初の研究目的に対する達成度について研究期間全体を 100%として、以下の区分より自己評価を行ってください。  
<区分>①当初の計画以上に進展している。②概ね順調に進展している。③やや遅れている。

車輪がレールで案内されて走行する鉄道にとって、軌道の安全管理は重要である。しかし、地方鉄道では、施設の経年劣化が著しい一方で、費用の確保や技術力の維持が難しく、十分な検査が行えない事業者も少なくない。このような問題を解決するためには、地方鉄道の営業車両の走行データを一括収集・管理し、軌道の状態を診断・予測するセンターが有効であると考えられる。これにより、多くの地方鉄道事業者における軌道保守に関する問題を解決できるものと考えられる。また、地方鉄道では、遮断機も警報器もない第4種踏切が多くあり、踏切の安全対策が喫緊の課題となっている。

本社会実装研究では、地方鉄道の安全性を向上させるため、IT 技術を活用して、1) 予防保全による軌道の高安全度化、2) 踏切の高安全度化、を達成するための技術開発を実施する。本研究では、軌道状態診断システムと踏切警報システムの情報伝送・分析機能を共通・共有化することで、コストの大幅な削減を実現することが可能である。

#### 6 当該年度の実施状況の概要

次の点について、具体的かつ明確に記述してください。  
①当初の研究計画、具体的なマイルストーンに対する進捗状況  
②進捗上の問題点と今後の対策

##### (1) データセンターの増強と複数路線における車両走行データの自動収集

山形鉄道に設置し検証を行った小型プローブ装置1台を、銚子電鉄車両へ移設し、データセンターと銚子電鉄車両を、京三製作所本社サーバを経由して、携帯電話回線で接続する。また、銚子電鉄用のデータサーバ1台を追加設置する。山形鉄道および銚子電鉄車両の位置、速度、動揺データをリアルタイムで伝送し、収集データを一元管理する。

進捗状況：銚子電鉄車両用小型プローブ装置1台を新規製作し、2020年11月に銚子電鉄車両へ搭載を完了した。データセンターにおいて、山形鉄道、銚子電鉄の2路線に対して、列車の位置、速度、動揺データをリアルタイムで伝送し、収集データを一元管理できるようになった。コロナウイルス感染拡大の影響により、日大生産工学部、京三製作所、交通安全環境研究所のいずれも出張ができず、銚子電鉄車両への設置が6ヶ月遅れたため、銚子電鉄の動揺データ収集が計画から6ヶ月遅れることになった。この6ヶ月間のデータ収集は、令和3年度に実施する。

(達成度80%)

## (2) 軌道常時診断システムの運用

山形鉄道、銚子電鉄において自動収集したデータを分析、診断し、軌道状態を適宜フィードバックして、軌道の予防保全を実施してもらう。保守結果をセンターで評価し、鉄道事業者に報告する。

進捗状況：山形鉄道に対しては、自動収集したデータを分析、診断し、軌道状態変化を報告して、保守に活用してもらっている。銚子電鉄に対する分析を令和3年4月中に完了して、令和3年5月から6月に第1回の報告会議を実施する予定である。

(達成度60%)

## (3) 列車接近警報スマホアプリの改善

平成30年度に実施した実験から明確になった問題点を改善したスマホアプリを開発し、実装する。

進捗状況：プロトタイプของスマホアプリを開発し、実装を行った。コロナウイルス感染拡大の影響により、日大生産工学部、京三製作所、交通安全環境研究所のいずれも出張ができず、また、山形鉄道からも訪問の自粛を要請されたため、現地での問題点の抽出が十分実施できなかった。未実施部分については、令和3年度に実施する予定である。

(達成度80%)

## (4) 列車接近警報システムの実証実験（4種踏切対応）

銚子電鉄沿線、山形鉄道において、4種踏切に対応した列車接近警報システムの実証実験を実施する。

進捗状況：令和2年12月に、山形鉄道における第4種踏切において、プロトタイプของスマホアプリの動作確認を実施した。その結果、列車接近警報の基本機能は確認できたが、接近時の時間のばらつきが大きく原因究明が必要であることがわかった。コロナウイルス感染拡大の影響により、日大生産工学部、京三製作所、交通安全環境研究所のいずれも出張ができず、また、山形鉄道からも訪問の自粛を要請されたため、実証実験を前記の1回しか実施できなかった。令和3年度においては、山形の感染状況にも大きく依存するが、現地での実証実験を複数回行う予定である。銚子電鉄に対しては、山形鉄道での実験結果によって、実施の可否を判断する。

(達成度60%)

## (5) その他のマイルストーンに対する進捗状況

- 1) 鉄道技術連合シンポジウム(J-Rail2020)（東京）、日本機械学会交通・物流部門大会(TRANSLOG20120)（東京）において成果を発表する。



進捗状況：計画通り成果発表を行った。

(達成度 100%)

2) 国際鉄道シンポジウム Railway2020 (欧州) においてこれまでの成果を発表する。

進捗状況：シンポジウムが 2022 年 9 月に延期されたため、成果発表が行えなくなった。代替として、令和 3 年 11 月に開催される鉄道技術国際会議(STECH2021) (幕張メッセ、オンラインのハイブリッド開催) にて成果を発表する。

(達成度 0%)

3) 最終的な成果発表として、鉄道工学リサーチ・センターが主催する第 3 回 NU-Rail Innovation を日本大学生産工学部において開催する。この際に、データセンターの見学会を実施し、開発したシステムの一般公開を実施する。

進捗状況：津田沼キャンパスへの入構が規制されたため、実施を見送った。令和 3 年度において開催できるように準備を進める。

(達成度 0%)

## 7 学会発表等

当該年度における研究成果の発表状況（学会発表、成果物展示、プレス発表等）について記入してください。  
要旨集の抜き刷り、発表原稿のコピー等及び発表したことがわかるものを添付してください。

発表者名	学会、発表会名等	発表テーマ	発表年月
篠田憲幸, 佐藤安弘, 緒方正剛, 網島均, 松本陽	日本機械学会関東支部 第 27 期総会・講演会	列車動揺検査における GPS 速度の補正方法について	2021/3/11
篠田憲幸, 佐藤安弘, 緒方正剛, 網島均, 松本陽, 朝山翔太	第 27 回鉄道技術・政策 連合シンポジウム (J-RAIL2020)	列車動揺検査における GPS 速度を用いた位置同定手法の提案	2020/12/15
篠田憲幸, 佐藤安弘, 緒方正剛, 網島均, 松本陽	第 27 回鉄道技術・政策 連合シンポジウム (J-RAIL2020)	小型汎用情報端末を活用した列車動揺検査手法の開発	2020/12/15
鈴木湧也, 網島均, 森裕貴, 高田哲也	第 27 回鉄道技術・政策 連合シンポジウム (J-RAIL2020)	地方鉄道を対象とした軌道状態診断システムの開発と運用	2020/12/15
滝川将司, 網島均, 森裕貴, 高田哲也	第 27 回鉄道技術・政策 連合シンポジウム (J-RAIL2020)	畳み込みニューラルネットワークを用いた軌道状態診断に関する研究	2020/12/15

## 8 著書・雑誌論文

当該年度における研究成果の発表状況（著書、雑誌等）について記入してください。  
著書、雑誌、抜き刷り等を添付してください。コピーの場合は掲載されたことが客観的にわかるものを添付してください。

著者・執筆者	著書名・雑誌名／論文名	巻・号	年月	出版社・発行所
Hitoshi Tsunashima and Ryota Hirose	Condition monitoring of railway track from car-body vibration using time-frequency analysis, Vehicle System Dynamics	58	2020/11	Taylor & Francis
篠田憲幸, 佐藤安弘, 緒方正剛, 森裕貴, 網島均, 松本陽	小型情報端末を活用した地方鉄道における軌道管理手法の構築, 鉄道工学シンポジウム論文集	24	2020/7	土木学会

9 本研究課題に関するその他の発表（新聞，一般雑誌掲載等）

本社会実装研究の内容が，ネット配信サイト「鉄道チャンネル」のコラム記事に掲載された。  
 (2021年4月4日)

<https://tetsudo-ch.com/11341533.html>

10 その他の成果

本社会実装研究の成果について，国土交通省江口技術審議官に説明したところ，国土交通省としても注目しており，データセンターを見学したいとの要望があり，見学をできるように準備中である。

11 本研究課題による知的財産権の出願・取得状況

名 称	知的財産の種類	発 明 者 (考案者・創作者)	権 利 者	出願・登録番号	出願年月日	取得年月日

## 1 2 今後の計画

実用化までの今後の計画について、当初計画からの変更点をふまえて記載してください。

### 1. 令和3年度の実施計画

#### (1) 車両走行データの自動収集

山形鉄道山形鉄道および銚子電鉄車両の位置、速度、動揺データをリアルタイムで伝送し、収集データを一元管理する。

#### (2) 軌道常時診断システムの運用

山形鉄道、銚子電鉄において自動収集したデータを分析、診断し、軌道状態を適宜フィードバックして、軌道の予防保全を実施してもらう。保守結果をセンターで評価し、鉄道事業者に報告する。

#### (3) 列車接近警報システムの実証実験（4種踏切対応）

山形鉄道において、4種踏切に対応した列車接近警報システムの実証実験を実施する。銚子電鉄における実験可能性は、山形鉄道での実証実験結果を踏まえて、可否を判断する。

### 2. 実用化に向けた具体的なマイルストーン

#### (1) データセンターの運用

データセンターを長期的に稼働させ、軌道状態診断を実施して、山形鉄道および銚子電鉄に対して、診断結果を高頻度にフィードバックする。また、令和3年度に、踏切位置において列車の接近を知らせ、注意を喚起するシステムの改良を行い、有効性を確認する。

#### (2) 研究成果発表計画

2020年度：1) 鉄道技術連合シンポジウム(J-Rail2020) (東京)、日本機械学会交通・物流部門大会(TRANSLOG20120) (東京)において成果を発表する(発表済)。2) 国際鉄道シンポジウム STECH2021 (日本)においてこれまでの成果を発表する(2021年11月)。3) 最終的な成果発表として、鉄道工学リサーチ・センターが主催する第3回鉄道工学リサーチ・センターを日本大学生産工学部において開催する。この際に、データセンターの見学会を実施し、開発したシステムの一般公開を実施する。(開催未定) 4) 国土交通省幹部のデータセンター視察(2021年5月に江口技術審議官が訪問予定)

#### (3) 実用化計画

上記の内容により、開発したシステムの有用性を公表した上で、2022年度以降は、鉄道工学リサーチ・センターにおいてデータセンターの管理運営を行い、交通安全環境研究所と連携して、山形鉄道、銚子電鉄の軌道状態診断を継続する。さらに、システムの低コスト化が可能なスマートフォンを活用した診断システム(科研費により開発予定、2020年度から2022年度、採択決定)の開発と連携させて、多くの地方鉄道事業者が採用可能なシステムに進化させる。

## 令和2年度 学術研究助成金〔社会実装研究〕実績報告書

令和3年5月21日

日本大学学長 殿

氏 名： 山岸 賢司

資格・所属： 工 学部・ 准教授

実施研究所： 工 学部・ 工学 研究所

下記のとおり報告いたします。

## 1 研究課題

計算化学手法を用いた新規 RNA アプタマーの設計手法の開発と応用

## 2 研究期間

令和 元 年度～令和 3 年度 / 令和 年度

## 3 研究組織

研究代表者及び研究分担者

	氏 名	部科校・資格	役 割 分 担
研究代表者	山岸 賢司	工学部・准教授	研究遂行に伴うすべての研究
研究分担者	中山 智祥	医学部・教授	ウェット実験によるアプタマーの結合性評価

連携組織

組 織 名	役 割 分 担
株式会社 リボミック	社会実装評価

※ホームページ等での公開（可・否）いずれかをチェックしてください。  
否の場合は、理由書を別途添付のこと。

#### 4 現在までの達成度

当初の研究目的に対する達成度について研究期間全体を100%として、以下の区分より自己評価を行ってください。  
<区分>①当初の計画以上に進展している。②概ね順調に進展している。③やや遅れている。

【区分： ②】・【達成度： 65 %】

#### 5 研究目的

当初の研究目的に対する達成度について研究期間全体を100%として、以下の区分より自己評価を行ってください。  
<区分>①当初の計画以上に進展している。②概ね順調に進展している。③やや遅れている。

RNA アプタマーは抗体に代わる次世代技術として、医薬品分野や診断薬分野などで注目されている。RNA アプタマーを実用化するためには化学修飾が必須であるが、どのような修飾をどこに入れるかは経験と勘に頼っており、多くの時間と費用が必要である。何らかの論理的根拠に基づいた設計方針を得ることが、新規RNAアプタマー開発における大きな課題である。本研究は、計算化学を用いてアプタマーとタンパク質との結合力を予測する手法を確立し、アプタマーの効率的な設計手法を開発する。本研究により、論理的根拠に基づいたRNAアプタマーの設計が可能になり、アプタマー開発の大きな部分を占めていた配列の最適化や修飾基の導入工程を飛躍的に効率化させることができる。新規アプタマーの開発が加速されれば、薬価の高い抗体医薬品をアプタマー医薬品に置き換えることができ、増え続ける医療費の抑制にも貢献できる。また、今までの方法では予測できなかった修飾を加えることで、活性を向上・変化させることも可能となり、画期的なRNAアプタマーの開発につながる。これにより、これまで有効な治療法がなかった疾患に対する治療薬の開発も期待できる。以上より本研究は、社会的利益に大きく貢献するものである。

#### 6 当該年度の実施状況の概要

次の点について、具体的かつ明確に記述してください。

- ①当初の研究計画、具体的なマイルストーンに対する進捗状況
- ②進捗上の問題点と今後の対策

##### 【当初の研究計画】

計算化学を用いてアプタマーとタンパク質との結合力を予測する手法を確立し、アプタマーの効率的な設計手法を開発するため、当該年度では、まず(1)分子動力学(MD)計算を用いて、RNAアプタマーの動的な構造変化を解析する。次に、これまでの解析結果に基づいて、結合親和性の向上に繋がる化学修飾の指標を突き止め、(2)抗体に対する結合親和性が高い修飾アプタマーの候補を計算化学から設計する。そして、(3)新規RNAアプタマーの化学合成と結合力評価の実験を行う。以上の研究計画を遂行し、実験および計算の両面から検証を進め、「計算化学によるアプタマーの設計手法」を確立する。

##### ①具体的なマイルストーンに対する進捗状況

当該年度では、まずMD計算を用いて、RNAアプタマーの動的な構造変化を解析した。天然型のIgGアプタマー、および種々の変異体のIgGアプタマーの構造ダイナミクスを解析した結果、IgGアプタマーは、G7ヌクレオチドのリン酸基周辺の主鎖骨格構造が主鎖に対して平行な構造をとる割合が多いのに対して、変異体アプタマーは、主鎖に対して垂直な構造を

## 〔6 当該年度の実施状況の概要（つづき）〕

とる割合が多いことが分かった(図1)。次に、この構造ダイナミクスが、ヒトIgGとの結合に重要な G7-Lys340 の相互作用に与える影響を解析するため、500 ns 間における G7-Lys340 の相互作用エネルギーを追跡した(図1(II))。その結果、IgG アプタマーは、平均値、および標準偏差が $-88.48 \pm 8.36$  kcal/mol であるのに対して、変異体アプタマーは、 $-49.61 \pm 14.64$  kcal/mol となり、IgG アプタマーに比べ G7-Lys340 の相互作用エネルギーが弱まることが明らかとした。以上より、申請書記載のマイルストーン「(1)分子動力学(MD)計算を用いて、RNA アプタマーの動的な構造変化の解析」を達成したと判断する。

次に、IgG アプタマーの「構造的な側面」と「エネルギー的な側面」の両面の解析から得られた IgG アプタマーの物理化学的特性と結合親和性との関係について解析を進めた。様々な化学修飾が導入された IgG アプタマーの物理化学的特性から、IgG への結合を支配している物理化学的な特性について解析した結果、特に G7 スクレオチド周辺の主鎖骨格のダイナミクスが、アプタマーの結合性を支配していることを見出し、より結合親和性を向上させる新規の修飾アプタマーの設計指針を得ることができた。そして、これまでに得られた設計指針に基づき、抗体に対する結合親和性が高い修飾アプタマーを設計することに成功した。以上より、申請書記載のマイルストーン「(2)抗体に対する結合親和性が高い修飾アプタマーの候補を計算化学から設計」に関しては、当初計画のマイルストーンを達成したと考える。

最後に、計算化学により設計した修飾アプタマーを化学合成し、結合親和性の測定を行った。しかしながら、設計したアプタマーは、数種類程度であり、また標的分子に対する結合親和性は、マイルストーンで数値目標とした 1.0nM を達成できなかった。

## ②進捗上の問題点と今後の対策

アプタマーの分子設計を精度よく行うためには、修飾基が構造に与える影響についての網羅的な解析が必要不可欠である。今後、当初の計画よりも、より様々な修飾基に対して網羅的な解析を進め、その知見を蓄積していく予定である。また、令和2年度の進捗上の大きな問題点は、新型コロナウイルス感染症による社会的な感染対策に伴い、(1)データ解析を担う予定であった研究補助員の出勤が十分に確保できない状況が発生したこと、(2)教育業務の増加により予定していた研究時間の確保ができなかったこと、(3)アプタマーの化学合成において外注を予定した業者が、緊急事態宣言の発令に伴い休業および営業時間短縮を行ったため、納期が大幅に遅れたこと、であった。今後の対策として、十分な研究時間を確保するため、当初予定より、研究実施期間を1年間延長することで、当初の研究計画どおりに研究を遂行させることができると判断している。

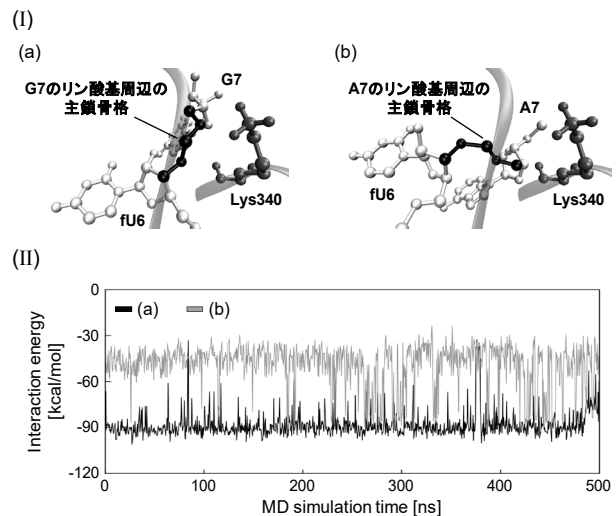


図1 (I) G7/A7 スクレオチドのリン酸基周辺の構造、(II) 時間経過に伴う G7/A7-Lys340 の相互作用エネルギー変化。

(a) IgG アプタマー、(b) 変異体アプタマー。

## 7 学会発表等

当該年度における研究成果の発表状況（学会発表、成果物展示、プレス発表等）について記入してください。  
 要旨集の抜き刷り、発表原稿のコピー等及び発表したことがわかるものを添付してください。

発表者名	学会、発表会名等	発表テーマ	発表年月
金田一樹, 山岸賢司 (他5名)	第20回日本蛋白質科学会年会	Molecular dynamics simulation of the effect that Ca <sup>2+</sup> has on the tertiary structure of an RNA aptamer	2020年7月 (web開催)

## 8 著書・雑誌論文

当該年度における研究成果の発表状況（著書、雑誌等）について記入してください。  
 著書、雑誌、抜き刷り等を添付してください。コピーの場合は掲載されたことが客観的にわかるものを添付してください。

著者・執筆者	著書名・雑誌名／論文名	巻・号	年月	出版社・発行所
Yujun Zhou, Ryohei Kajino, Seiichiro Ishii, Kenji Yamagishi, Yoshihito Ueno	Synthesis and evaluation of (S)-5'-C-aminopropyl and (S)-5'-C-aminopropyl-2'-arabinofluoro modified DNA oligomers for novel RNase H-dependent antisense oligonucleotidesing fragment molecular orbital calculation	68	2020/11	Royal Society of Chemistry
山岸賢司	アグリバイオ／計算化学によるRNA アプタマーと標的タンパク質との分子間相互作用解析【執筆依頼】	48 (2020年6月号)	2020/05	北隆館

## 9 本研究課題に関するその他の発表（新聞、一般雑誌掲載等）

- ・情報計算化学生物（CBI）学会誌（第8巻）にて、研究トピックを執筆

## 10 その他の成果

- ・情報計算化学生物学会 2020年大会：モデレータとしてフォーカストセッションを主催し研究紹介(2020年10月)

## 11 本研究課題による知的財産権の出願・取得状況

名称	知的財産の種類	発明者 (考案者・創作者)	権利者	出願・登録番号	出願年月日	取得年月日
該当なし						



## 1.2 今後の計画

実用化までの今後の計画について、当初計画からの変更点をふまえて記載してください。

計算化学を用いてアプタマーとタンパク質との結合力を予測する手法を構築し、アプタマーの効率的な設計手法を確立することを達成するため、研究期間を1年間延長し、当初の研究計画に記載のとおり、以下の(1)および(2)の研究を遂行する。

## (1) 計算化学手法によるRNAアプタマーと抗体との結合力評価手法の開発

本年度に引き続き、「1. 塩基配列の違いや化学修飾がRNAアプタマーと標的タンパク質との分子間相互作用エネルギーに与える影響の解析」、および「2. 塩基配列の違いや化学修飾がRNAアプタマーの動的な構造変化へ与える影響の解析」を進め、その解析結果を「3. アプタマーと標的タンパク質との結合親和性を予測する手法を構築し、アプタマーを設計」にフィードバックし、新規アプタマーの設計を加速させる。

当初計画からの変更点

アプタマーの分子設計を行うためには、修飾基が構造に与える影響についての網羅的な解析が必要不可欠である。今後、当初の計画よりも、より多様な修飾基に対して網羅的な解析を進める。さらに、抗体に結合するアプタマー以外にも上記1および2の解析を進め、その知見を蓄積していく予定である。そして、研究予算の範囲内で、より多くのアプタマーの分子設計を行い、その実験的な解析結果を設計指針にフィードバックする。これにより、設計指針の信頼性をより高めることが可能になると考えている。

## (2) 新規RNAアプタマーの化学合成と結合力評価の実験および検証

上記(1)の計算化学手法により設計した新規アプタマーを化学合成する。また、新規アプタマーと抗体(IgG)との相互作用を詳細に解析する。相互作用解析には、速度論的に解析する表面プラズモン共鳴装置(SPR)、熱力学的に解析する等温滴定型カロリメトリ(ITC)を用いる。

目標の結合力が得られなかった場合は、SPRおよびITCにより得られる相互作用の熱力学パラメータと、計算化学により得られる相互作用エネルギーとを照らし合わせる。さらに、高分解能NMR分光計を用いて、アプタ

マーと抗体との結合状態を原子レベルで解析する。実験および計算の両面から目標の結合力が得られなかった原因を検証し、フィードバックすることで「計算化学によるアプタマーの設計手法」を再構築する。さらに、本研究の対象としたIgGに対するアプタマーは、すでに多くの化学修飾体が合成され、その結合親和性が数多く報告されている唯一のアプタマーであるため(Nucleic Acids Res. 2008)、これらのRNAアプタマーに対して網羅的に計算化学的な解析を進めることで、相関を構築する。最終的には、設計手法の実用化に向け、抗体に対するアプタマー以外のアプタマーの設計にも展開することで、本手法の有効性を実証し、社会実装を目指す。

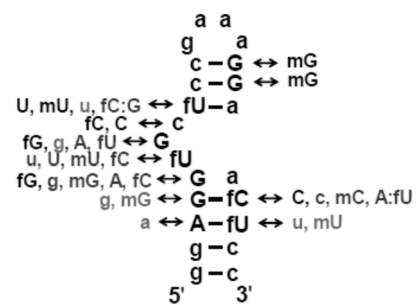


図2. IgGに対するアプタマーの化学修飾体

## 令和2年度 学術研究助成金〔社会実装研究〕実績報告書

令和 3年 5月 7日

日本大学学長 殿

氏 名： 森岡 一郎  
資格・所属： 医学部・教授  
実施研究所： 医学部・総合医学研究所

下記のとおり報告いたします。

### 1 研究課題

GOD-POD-UnaG 法を用いた血中アンバウンドビリルビン自動測定機器の開発
--

### 2 研究期間

令和 元年度～令和 2年度 / 令和 年度

### 3 研究組織

研究代表者及び研究分担者

	氏 名	部科校・資格	役 割 分 担
研 代 表 者	森岡一郎	医学部小児科学分野・教授	研究開発統括、機器開発
研 究 分 担 者	長野伸彦	医学部小児科学分野・准教授	機器開発、新生児血液検体収集、UB 測定
	岡橋 彩	医学部小児科学分野・助教	機器開発、新生児血液検体収集、UB 測定
	桃木恵美子	医学部小児科学分野・助教	新生児血液検体収集、UB 測定

連携組織

組 織 名	役 割 分 担
アトムメディカル社	企業側の開発を統括
Baebies 社	機器開発
シノテスト社	試薬開発担当

※ホームページ等での公開（可・否）いずれかをチェックしてください。  
否の場合は、理由書を別途添付のこと。

#### 4 現在までの達成度

当初の研究目的に対する達成度について研究期間全体を 100%として、以下の区分より自己評価を行ってください。  
<区分>①当初の計画以上に進展している。②概ね順調に進展している。③やや遅れている。

【区分： ③】・【達成度： 85 %】

#### 5 研究目的

研究の全体構想及び本研究の具体的な目的について記述してください。

新生児のビリルビンによる脳障害（ビリルビン脳症、核黄疸）は脳性麻痺や心身障害の主要因の一つで、少子化時代の我が国において克服すべき疾患である。我々は、血中のアルブミンと結合していない非抱合型ビリルビン（アンバウンドビリルビン，UB）を測定すれば、この脳障害の発症を高率に予測できることを明らかにしてきた。現在の UB 測定機器は、1980 年代に開発された吸光度測定を用いたグルコースオキシダーゼーペルオキシダーゼ法，[GOD-POD 法]，UB アナライザー，アローズ社、大阪）である。しかし、この GOD-POD 法を用いた血中 UB 測定は、抱合型（直接）ビリルビンやヘモグロビン（溶血）の血液では誤値が生じるという臨床で大きな問題であり普及には至っていない。我々は新しく GOD-POD 法と非抱合型ビリルビンと特異的に結合して蛍光を発するタンパク質（UnaG）を組み合わせることで、抱合型ビリルビンやヘモグロビンの影響を受けずに微量血中の UB を測定することができる画期的な方法を確立した（GOD-POD-UnaG 法：特許第 6716108 号、2020 年 6 月 12 日）。本研究では、この GOD-POD-UnaG 法を用いた自動測定機器を開発し、実用化を行う。

本装置が Point-of-care の体外臨床検査診断として実用化されれば、現在では見逃してしまう核黄疸発症のハイリスク新生児が検出できるようになる。そして、世界中で核黄疸という脳性麻痺や心身障害の発症抑制に大きく貢献できる。脳性麻痺や心身障害児は生涯に渡って療育や福祉支援が必要であり巨大な医療費や福祉費用がかかっている。その費用を減少させることができ、医療経済上、大きな効果となる。

#### 6 当該年度の実施状況の概要

次の点について、具体的かつ明確に記述してください。

- ①当初の研究計画，具体的なマイルストーンに対する進捗状況
- ②進捗上の問題点と今後の対策

2019 年度にアトムメディカル社および米国のノースカロライナ州にある Baebies 社を連携組織として進め、その結果、Baebies 社の保有する Digital Microfluidics 技術と GOD-POD-UnaG 法を組み合わせた機器の実現性ができた。通常診療で測定され血中 UB 濃度がわかっている実際の新生児の血清を用いた定量性の確認を行うために、2020 年 3 月 20 日に日本大学医学部附属板橋病院臨床研究倫理審査委員会へ申請書を提出した。2020 年 6 月 19 日付で承認を得た（RK-200414-2）。

2020 年度は、シノテスト社と共同開発している UnaG の大量生産であった。UnaG 生成のプロトコルおよび特許は、理化学研究所が保有しているため、シノテスト社と理化学研究所で連携し、事業化へ進めるところに、新型コロナウイルスの第 1 波がきた。理化学研究所が完全閉鎖となり、それが 2020 年 9 月にずれ込んだ。UnaG 生産のためのプロトコルの作成および生成の予備実験が 2020 年 11 月 15 日に完了した。それを製品化の検証のために Baebies 社へ送付して Digital Microfluidics 技術とのキット作成を直ちに行う予定であったが、今度は米国の新型コロナウイルスの影響により進めること

ができず、2021年の1月より、ようやく生産体制に着手し、キット化の検証に入っている。このように、開発研究自身は進んでいるのでマイルストーンとしては85%まで到達しているが、新型コロナウイルスの流行により多大な影響を受けた。

残された今後の課題および計画としては、以下がある。

- 1) 日本大学医学部附属板橋病院臨床研究倫理審査委員会の規定を順守し、日本大学医学部附属板橋病院総合周産期母子総合医療センターに入院した黄疸発症新生児の通常診療で採取された血清の残余を100検体確保している（抱合型（直接）ビリルビンやヘモグロビン（溶血）含まない）。その際、通常の保険診療で測定された血中UB濃度（既存のUBアナライザー、GOD-POD法（アローズ社、大阪）で測定したデータも収集し、比較検討する。その一致率および相関関係を示す解析結果が、体外診断用医薬品の承認基準となることを確認している（厚生労働省医薬食品局長，平成27年1月20日通知 薬食発0120第1号）。相関関係は、相関係数と相関式を求め、評価は相関係数が0.9以上、相関式は $y=1.0x+0$ に近い結果となることで行う。
- 2) その他の解析として、
  - (ア) 新血中UB自動測定機器で測定した血中UB濃度の精度を検証する。変動係数（CV）は5%未満となることを確認する。
  - (イ) 日内変動分析および日間変動分析：同一検体を用いた繰り返し測定（6回以上）を行い、CVを求める。測定者によるばらつきの検討：医師、研修医、看護師、検査技師が繰り返し測定（6回以上）を行い、CVを求める。
  - (ウ) 既存のUBアナライザーの欠点である抱合型（直接）ビリルビンやヘモグロビン（溶血）含有の血清検体を新血中UB自動測定機器で測定し、測定値に影響がないことを確認させる。評価は、そのほかのパラメータである総ビリルビン/アルブミン比と比較することで確認できる。
- 3) 以上の成果に基づいて、アトムメディカル社とともに薬事承認申請を行う。体外診断医薬品・医療機器として承認されれば、保険診療点数の確保のための申請を行う。

## 7 学会発表等

当該年度における研究成果の発表状況（学会発表、成果物展示、プレス発表等）について記入してください。  
要旨集の抜き刷り、発表原稿のコピー等及び発表したことがわかるものを添付してください。

発表者名	学会、発表会名等	発表テーマ	発表年月
		コロナの流行により延期・中止になった	

## 8 著書・雑誌論文

当該年度における研究成果の発表状況（著書、雑誌等）について記入してください。  
著書、雑誌、抜き刷り等を添付してください。コピーの場合は掲載されたことが客観的にわかるものを添付してください。

著者・執筆者	著書名・雑誌名／論文名	巻・号	年月	出版社・発行所
Iwatani S, Yamana K, Nakamura H, Nishida K, Morisawa T, Mizobuchi M, Osawa K, Iijima K, <b>Morioka I</b>	A novel method for measuring serum unbound bilirubin levels using glucose oxidase-peroxidase and bilirubin-inducibile fluorescent protein, UnaG: No influence of direct bilirubin / <i>International Journal of Molecular Sciences</i> .	21 (18) p. 6778	2020 年 9 月	MDPI
Kwon G, Okahashi A, Nagano N, Nozaki C, Nakahara E, Fuwa K, Yagasaki H, Kanno H, <b>Morioka I</b>	Unexplained late-onset hemolytic jaundice preceded by high fetal hemoglobin level in an extremely low birth weight infant / <i>Clinical Laboratory</i> .	66 (1) p. 211-5	2020 年 1 月	Clinical Laboratory Publications GmbH
Go H, Nagano N, Katayama D, Akimoto T, Imaizumi T, Aoki R, Hijikata M, Seimiya A, Kato R, Okahashi A, <b>Morioka I</b>	Diagnostic accuracy of biomarkers for early-onset neonatal bacterial infections: Evaluation of serum procalcitonin reference curves / <i>Diagnostics</i> .	10 (10) p. 839	2020 年 10 月	MDPI
森岡一朗, 長野伸彦, 岩谷壮太	早産児ビリルビン脳症の発症予防のための研究と体外診断医療機器開発 / <i>日本新生児成育医学会雑誌</i>	32 (2) p.21-4	2020 年 10 月	日本新生児成育医学会

9 本研究課題に関するその他の発表（新聞，一般雑誌掲載等）

特になし

10 その他の成果

日本大学医学部 GUIDE BOOK 最先端の研究

“産学連携研究で“赤ちゃん”をまもる 「知」を社会に還元”（掲載予定）

11 本研究課題による知的財産権の出願・取得状況

名 称	知的財産の種類	発 明 者 (考案者・創作者)	権 利 者	出願・登録番号	出願年月日	取得年月日

## 1 2 今後の計画

実用化までの今後の計画について、当初計画からの変更点をふまえて記載してください。

残された今後の課題および計画としては、以下がある。

- 1) 日本大学医学部附属板橋病院臨床研究倫理審査委員会の規定を順守し、日本大学医学部附属板橋病院総合周産期母子総合医療センターに入院した黄疸発症新生児の通常診療で採取された血清の残余を 100 検体確保している（抱合型（直接）ビリルビンやヘモグロビン（溶血）含まない）。その際、通常の保険診療で測定された血中 UB 濃度（既存の UB アナライザー、GOD-POD 法（アローズ社、大阪）で測定したデータも収集し、比較検討する。その一致率および相関関係を示す解析結果が、体外診断用医薬品の承認基準となることを確認している（厚生労働省医薬食品局長，平成 27 年 1 月 20 日通知 薬食発 0120 第 1 号）。相関関係は、相関係数と相関式を求め、評価は相関係数が 0.9 以上、相関式は  $y=1.0x + 0$  に近い結果となることで行う。
- 2) その他の解析として、
  - (ア) 新血中 UB 自動測定機器で測定した血中 UB 濃度の精度を検証する。変動係数 (CV) は 5% 未満となることを確認する。
  - (イ) 日内変動分析および日間変動分析：同一検体を用いた繰り返し測定（6 回以上）を行い、CV を求める。測定者によるばらつきの検討：医師、研修医、看護師、検査技師が繰り返し測定（6 回以上）を行い、CV を求める。
  - (ウ) 既存の UB アナライザーの欠点である抱合型（直接）ビリルビンやヘモグロビン（溶血）含有の血清検体を新血中 UB 自動測定機器で測定し、測定値に影響がないことを確認させる。評価は、そのほかのパラメータである総ビリルビン/アルブミン比と比較することで確認できる。
- 3) 以上の成果に基づいて、アトムメディカル社とともに薬事承認申請を行う。体外診断医薬品・医療機器として承認されれば、保険診療点数の確保のための申請を行う。

## 令和2年度 学術研究助成金〔社会実装研究〕実績報告書

令和 3年 4月 6日

日本大学学長 殿

氏 名： 上田 賢志

資格・所属： 生物資源科学部・教授

実施研究所： 生物資源科学部・生命科学研究所

下記のとおり報告いたします。

## 1 研究課題

微生物酵素を活用した神経伝達物質の簡易定量キット

## 2 研究期間

令和2年度～令和3年度 / 令和 年度

## 3 研究組織

研究代表者及び研究分担者

	氏 名	部科校・資格	役 割 分 担
研 究 代 表 者	上田賢志	生物資源科学部・教授	研究総括・キット用途拡大のための酵素生産菌の探索と性状解析
研 究 分 担 者	西山辰也	生物資源科学部・助教	キットの最適化と用途拡大のための酵素の特性解析

連携組織

組 織 名	役 割 分 担
株式会社エンザイム・センサ 代表取締役 日下部 均 〒305-0047 茨城県つくば市千現 2-1-6 つくば研究支援センター	キットの商品化と事業展開

※ホームページ等での公開（可・否）いずれかをチェックしてください。  
否の場合は、理由書を別途添付のこと。



#### 4 現在までの達成度

当初の研究目的に対する達成度について研究期間全体を 100%として、以下の区分より自己評価を行ってください。  
<区分>①当初の計画以上に進展している。②概ね順調に進展している。③やや遅れている。

【区分： ②】・【達成度： 50 %】

#### 5 研究目的

ヒトの神経伝達において信号物質として機能することが知られる  $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) を簡易測定する酵素キットを開発し実用化することを目的とする。

グルタミン酸が興奮性の伝達物質であることに対し、その  $\alpha$ -カルボキシル基が取り除かれてできる GABA は、抑制性の伝達物質として機能する。抗不安、血圧低下、睡眠調節等、ヒトの精神状態の鎮静化・安定化に正に作用することから、GABA の血中濃度は躁病・うつ病等の精神疾患の指標として用いられる。また、最近では高 GABA 含量の食品はヒトの精神的安定に効果的とされ、注目を集めている。さらに、動物腸内に共生する細菌に GABA を生産するものが存在し、それが宿主動物におけるストレス耐性に関わっている可能性が指摘されはじめています。本研究では、様々な試料中の GABA 濃度を簡便に定量する汎用キットを開発することを通じて農産物をはじめ様々な試料中の GABA 含量が手軽に測定できる技術基盤を確立、新たな産業の創出を後押しする。

#### 6 当該年度の実施状況の概要

次の点について、具体的かつ明確に記述してください。

- ①当初の研究計画、具体的なマイルストーンに対する進捗状況
- ②進捗上の問題点と今後の対策

##### 1. キットの生産と販売開始

GABA 測定キットについて、主に反応条件の微調整による最適化ならびに GABA アミノトランスフェラーゼ組換え体の量産体制を確立することを通じて最終バージョンを完成させ、「GABA ミエール」と命名、(株) エンザイムセンサから販売を開始した。

一方、本キットのデモ版を各種関連学会の大会やイベントにおける展示を通じて配布することで、広く測定試験を実施し、用途の拡大につなげることを計画したが、新型コロナウイルス感染症の拡大を受けて学会やイベントが全て中止になったため、延期した。ただし、市販されている様々な作物については研究補助員によって測定を行い、ほぼ問題なく使用できる可能性が高いことを確認した。また、研究協力者の高橋により、マウス糞便中の GABA の測定に対しても適用が可能であること、またプレートリーダーを利用することで少量スケールでも測定を行えることが確認された。

上記の結果を踏まえて学内向けのウェブサイトを作成し (近日中に公開)、次年度における測定モニターの募集に活用することとした。

〔6 当該年度の実施状況の概要（つづき）〕

2. 他のアミノ酸の定量を可能にするトランスフェラーゼの探索と実用化

GABA の酵素定量法と同様の手段は、他のアミノ酸についても適用できることから、特に定量法の確立に実効性が見込まれるアミノ酸数種について、それらを基質とするトランスフェラーゼを生産する微生物の探索を実施した。その結果、2つのアミノ酸について活性を示す菌株を取得することに成功し、1つについてはその精製にも成功した。

また、アスパラギン酸については、大腸菌が有するアスパラギン酸トランスアミナーゼを利用することで、GABA キットと同様の定量系を確立することに成功し、特許申請した。

7 学会発表等

当該年度における研究成果の発表状況（学会発表、成果物展示、プレス発表等）について記入してください。要旨集の抜き刷り、発表原稿のコピー等及び発表したことがわかるものを添付してください。

発表者名	学会、発表会名等	発表テーマ	発表年月
西山 辰也, Woro Triarsi Sulistyaningdyah, 新館 啓子, 上田 賢志, 日下部 均	日本農芸化学会 2021 年度仙台大会	アスパラギン酸トランスアミナーゼを利用したアスパラギン酸測定キットの開発	2021 年 3 月 20 日
西山 辰也, Woro Triarsi Sulistyaningdyah, 新館 啓子, 上田 賢志, 日下部 均	日本農芸化学会関東 支部 2020 年度大会	放線菌由来 GABA トランスアミナーゼを利用した GABA 測定キットの開発	2020 年 11 月 29 日

8 著書・雑誌論文

当該年度における研究成果の発表状況（著書、雑誌等）について記入してください。著書、雑誌、抜き刷り等を添付してください。コピーの場合は掲載されたことが客観的にわかるものを添付してください。

著者・執筆者	著書名・雑誌名／論文名	巻・号	年月	出版社・発行所
該当なし				

9 本研究課題に関するその他の発表（新聞、一般雑誌掲載等）

該当なし

10 その他の成果

- 7 の 2 件目に挙げた日本農芸化学会大会における発表が、日本農芸化学会 2020 年度大会トピックス賞に選定された。

2) 本プロジェクトが開発するキットの作成をレポートした次の論文が日本農芸化学会 BBB 論文賞を受賞した。

Tatsuya Nishiyama, Woro Triarsi Sulistyaningdyah, Kenji Ueda & Hitoshi Kusakabe

GABA enzymatic assay kit. Biosci Biotechnol Biochem. 84:118-125, 2020.

[https://www.jsbba.or.jp/about/awards/about\\_awards\\_bbb\\_journal.html](https://www.jsbba.or.jp/about/awards/about_awards_bbb_journal.html)

### 1 1 本研究課題による知的財産権の出願・取得状況

名 称	知的財産の種類	発 明 者 (考案者・創作者)	権 利 者	出願・登録番号	出願年月 日	取得年月日
アミノ酸の 測定方法、 及びそのた めのキット	特許	日下部 均、 ウォロ トリ アルシ ステ ティア ニ ンディア、 西山辰也、 上田賢志	日下部 均	特 許 第 6703721 号 (P6703721)	令和 1 年 10 月 1 日	令和 2 年 5 月 13 日

### 1 2 今後の計画

実用化までの今後の計画について、当初計画からの変更点をふまえて記載してください。

#### 1. 用途拡大と改良キットの製作

GABA 測定キットについては、それを用いた測定のモニターを募集することを通じて様々な試料への適用性を検証する。前処理工程の改良が必要な資料については、反応を阻害すると考えられる物質の除去法を検討し、キットに反映させる。酵素のみによる前処理では不十分な場合は、物理化学的な処理法を適用する。改良を加えたキットは、再度モニターによるテストを実施し、その有効性を評価する。以上の試験を重ねることによって最終の形態を確定、その量産体制の構築も行いながら製品として完成させる。必要に応じて少量スケールの試供品を製作して無償供与し、用途と販路の拡大を図る。

#### 2. 複合システムの構築

新しいアミノ酸トランスフェラーゼの探索を継続して実施する。すでに生産菌が得られているものについては、ゲノム解読を実施して候補となる遺伝子を選抜し、それぞれ大腸菌に導入して組み換え蛋白質を調製、目的の酵素活性を示すものを特定する。アミノトランスフェラーゼ活性を示すものの、基質特異性が厳密でない場合については、エラープローン PCR 法等による分子内変異の導入を行い、特異性が顕著に高まった変異体酵素を作出することを試みる。同様の手法は、上述した GABA-AT の特異性の問題にも必要に応じて適用する。また、新しいアミノトランスフェラーゼ生産菌の探索も継続して実施する。