

## 平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 事業名：革新的バイオ医薬品創出基盤技術開発事業
2. 研究開発課題名：全身・臓器丸ごとイメージング技術によるバイオ医薬品の時間的・空間的な体内動態可視化技術の開発
3. 研究開発代表者： 上田 泰己

### 4. 研究開発の成果

本研究開発では、申請者がこれまでに開発した臓器および全身丸ごと透明化・イメージング技術 CUBIC を用いて、バイオ医薬品の時間的・空間的な局在変化を包括的に観察するための解析パイプラインを構築することを目的とする。CUBIC で用いている透明化試薬は、光の散乱因子である脂質を高度に除去する性能に加えて、光を吸収するヘムを代表とする生体色素を高効率に脱色する性質を有しているため、既存の透明化技術と比較して、全身の様々な臓器に適用可能な透明化試薬である。また、既に成獣マウスをハイスループットかつ 1 細胞解像度で全身丸ごとイメージングが可能な大型シート照明型蛍光顕微鏡を整備している。このように現時点で他の追随を許さない全身透明化・イメージング技術の優位性を最大限に活用し、世界でも未だ取り組まれていないバイオ医薬品の構成要素である生体高分子の投与後の臓器および全身局在動態の解析パイプラインの確立に取り組む。特に本技術は、CT や MRI, PET と比較してマウス個体全身から細胞内局在に及ぶ広い範囲で撮像できる点において際立った優位性がある。本技術の知的財産権をいち早く確保するために、蛍光標識を導入した抗原ペプチドや抗体などのバイオ医薬品を疾患モデル動物個体に投与し、抗原ペプチドを掲示する免疫応答細胞や標的分子に結合する抗体の臓器および全身における局在を観察する実験系を構築することで原理の証明を行い、特許出願の足掛かりとする。本年度は、本解析パイプラインを確立するにあたり重要なバイオ医薬品の細胞内局在を可視化するための技術基盤の整備を行った。

バイオ医薬品の細胞内局在を可視化するためには、全身・臓器を丸ごと 1 細胞解像度で観察可能な顕微鏡だけでなく、より解像度の高い光学顕微鏡を整備する必要がある。そこで、既に整備済みの全身イメージング用シート照明型蛍光顕微鏡に加えて、新たにバイオ医薬品の細胞内局在の観察に必要な高解像度シート照明型蛍光顕微鏡の整備を行った。また、取得するデータは、かなりの膨大なデータ量になることが予想されるため、膨大な画像データを効率よく運用するための情報解析サーバーを導入し、次年度以降取得する大容量のデータ管理の基盤を確立した。一連のイメージング・解析基盤により、マウス脳における全細胞イメージングデータの取得に成功した。

また、バイオ医薬品が全身及び臓器内にどのように分布し、疾患標的部位に適切に作用しているかを検証するためには、疾患モデル動物を作出すると共に、治療効果が評価可能な実験系を構築しなければならない。そこで、本研究では、一例としてヒト由来がん移植動物の作出、並びに臓器内がん細胞のイメージングに取り組んだ。がん細胞が侵食した組織では、通常の組織に比べて透明化が困難であることから、脳を含むマウスの各種臓器に対して最適な透明化試薬、並びにプロトコルの探索を行った。その結果、がん組織を含むマウス個体の全身および臓器丸ごとイメージングに成功した。

更に、バイオ医薬品の体内動態計測を実現するためには、マウス個体内に投与するバイオ医薬品が蛍光標識されていなければならない。そこで、蛍光標識生理活性ペプチドおよび蛍光標識抗体を安価かつ大量に調整する技術基盤の確立に取り組んだ。その結果、複数の有機蛍光色素を標識した抗原ペプチドや抗体医薬品 A を **mg** のスケールで合成する基盤を確立した。