

細胞内リン酸化ネットワーク変動解析による分子標的創薬・診断

育成研究：JSTイノベーションプラザ・サテライト宮城 平成19年度採択課題
「タンパク質リン酸化ディスプレイ法の開発と創薬・診断ツールへの応用」



代表研究者：京都大学 大学院薬学研究科 教授 石濱 泰

■ 研究概要

細胞内情報伝達システムであるタンパク質リン酸化修飾の包括的定量解析システムを構築し、そのネットワークを可視化する。このリン酸化ディスプレイ法を分子標的創薬や分子標的治療に応用し、薬剤の作用機序解明だけでなく、副作用回避や個別化医療への展開を目指す。

■ 研究内容、研究成果

細胞内情報伝達システムの根幹を担うタンパク質リン酸化修飾は、癌などの疾病原因と深く関わり、特に創薬・診断分野で注目されている。本プロジェクトでは、代表研究者が開発したヒドロキシ酸修飾酸化金属クロマトグラフィー法（HAMMOC法）および相間移動溶解法（PTS法）をさらに発展させ、世界最高効率で細胞内リン酸化ネットワークを包括的に定量し可視化するシステムを開発した。ヒト培養細胞を試料とした場合には100 μ gの試料を用いて1度に1万種のリン酸化修飾の変動を捉えることができる。従来の方法では試料の分画処理が必要で、1万種のリン酸化修飾の変動を捉えるためには試料量は10mg程度必要で、しかも1試料の測定に1ヶ月以上の測定が必要であった。本法では、試料前処理ステップをロボットによって全自動処理化することにも成功しており、ハイスループット測定も可能となった。この技術を分子標的創薬に適用し、キナーゼ阻害薬の作用機序解明や薬効マーカーの検索を行った。その結果、既知の標的およびその下流分子のリン酸化の変動を捉えられただけでなく、多くの新規リン酸化変動分子を抽出することが可能となった。さらに標的分子毎に特徴的なリン酸化プロファイルを抽出することが可能であり、新規化合物の標的探索にも有効であることが示された。また本法は疾病バイオマーカー探索にも適用可能であり、メタボローム解析と併せた解析において癌種特異的な代謝システムの同定にも有効であった。今後、創薬だけでなく、診断・治療分野でも抗癌剤の副作用回避、個別化医療のための分子標的治療ツールとして用いられることにより、社会的、経済的な効果も期待できる。

■ 今後の展開、将来の展望

今後、創薬だけでなく、診断・治療分野でも抗癌剤の副作用回避、個別化医療のための分子標的治療ツールとして展開できないか、可能性を探りたい。また、予想以上に多くの機能未知なリン酸化分子が見出されたため、これらの情報を有効に使うためのリファレンスデータの取得を計画している。標的既知分子やキナーゼノックダウン試料を本システムで評価し、細胞内リン酸化ネットワークがどのように構成されているかをネットワーク解析ソフトウェアに組み込み、リン酸化プロテオームデータに対応したネットワークデータ解析ツールを充実させていく計画である。本システムを構成している各ステップについては、質量分析装置以外はすべてキット化、製品化し、終了後3年以内に順次市販化する。

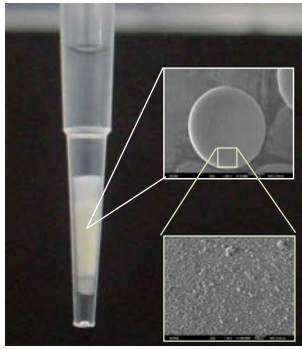


図1 リン酸化ペプチド濃縮用チタニア充填チップ

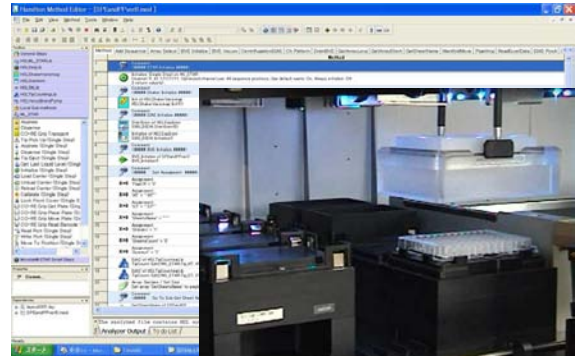


図2 前処理用全自動ロボットシステム

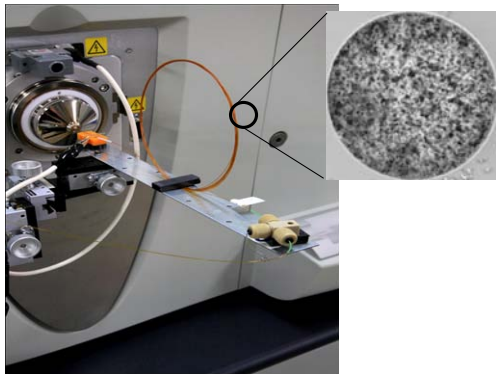


図3 メートル長カラムを用いた液体クロマトグラフィー質量分析システム

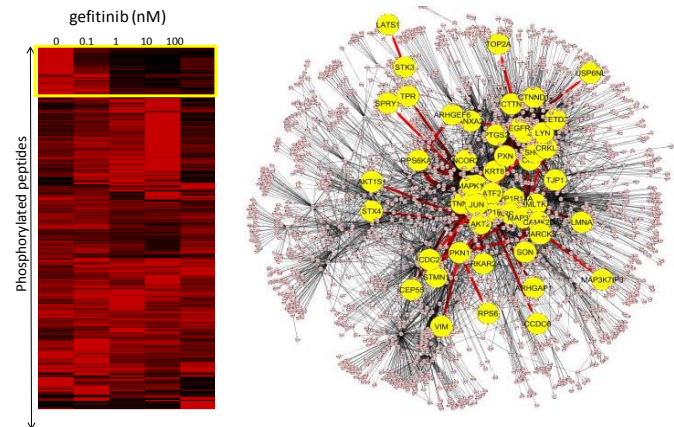


図4 分子標的薬のリン酸化変動濃度依存性(左)とタンパク相互作用マップを用いた変動ネットワークの可視化(右)

■ 研究体制

◆ 代表研究者

京都大学大学院薬学研究科 教授 石濱 泰

◆ 研究者

京野 完 (京都大学)、塚原 麻伊 (京都大学)、Wei-Chi Ku (京都大学)、増田 豪 (慶應義塾大学)、杉山 直幸 (慶應義塾大学)、吉原 宏樹 (慶應義塾大学)

◆ 共同研究機関

慶應義塾大学、ジエールサイエンス株式会社、ヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ株式会社

■ 研究期間

平成20年4月 ~ 平成23年3月