

## 平成18年度顕在化ステージ 事後評価報告書

シーズ顕在化プロデューサー所属機関名：東亜ディーケーケー株式会社

研究リーダー所属機関名：埼玉大学

課題名：HTS を目指したタンパク質の機能解析用チップの開発

### 1. 顕在化ステージの目的

シーズ顕在化を目指したセンサー分子は、蛍光タンパク質、蛍光色素あるいは量子ドットを組み合わせることで選択性の高いFRETペアを構成できるキメラ蛍光分子複合体であり、酵素基質導入により酵素活性測定が可能であると同時に、複数センサー分子を同時に使用可能という実用化上最大の特徴を有している。本課題は、キナーゼ活性測定用センサー分子基礎開発、複数酵素活性測定用センサー分子間調整、プロテインチップ基礎開発、波長可変液晶分光フィルタ利用蛍光イメージング分光基本装置の試作と実用化を目標とした開発要素抽出を実施し、HTSを目指した複数酵素活性測定可能タンパク質機能解析システムのシーズ顕在化の可能性検証を目的とした。

### 2. 成果の概要

#### 大学の研究成果

タンパク質機能解析用プロテインチップ作製の為のセンサー分子を作製した。種々の生体反応の複数同時解析を目指している為、生体反応を蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) に変換する分子をセンサー分子とした。蛍光分子 (蛍光タンパク質、蛍光色素、量子ドット等) 2種を結合しその間の FRETを測定する。これまで開発した GFP-蛍光色素やRFP-蛍光色素センサー分子に加え、BFP-蛍光色素、YFP-蛍光色素センサー分子も作製出来、3種プロテアーゼ活性同時解析に成功した。また、pH感受性、核酸分解・糖転位酵素活性測定用センサー分子も得る事が出来たが、キナーゼ活性測定用センサー分子は大幅な改良の必要性が残った。

#### 企業の研究成果

複数酵素活性測定用センサー分子を使用したプロテインチップと波長可変液晶分光フィルタ利用蛍光イメージング分光FRET基本装置および画像データ処理アルゴリズムの開発を行った。FRET基本装置は9ウェルプロテインチップの450～700nmの蛍光イメージングスペクトルを同時かつ自動で取得ができた。複数プロテアーゼ活性測定センサー分子を使用したプロテインチップにより、他に例を見ないFRET測定に基づく9ウェル同時2～3種の酵素活性測定が実現できた。測定時間は約3分だが、ウェル数を増やしても所要時間は同じであるため、HTSを目指した複数酵素活性測定可能タンパク質機能解析システムのシーズ顕在化が達成できた。

### 3. 総合所見

学のセンシングに対する研究を基に、複数の企業が専門性を活かして実用化を目指した検討を行い、当初の目標をほぼ達成した。特許の申請もなされている。今後は、キナーゼ活性用センサーの開発と HTS用としての複数酵素活性の同時測定に対するニーズの検証が必要と考えられる。