

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：東和環境科学株式会社

研究リーダー所属機関名：自然科学研究機構

課題名：タンパク質リン酸化シグナル解析の技術基盤の開発 :Target-Specific Phosphoproteome System

1. 顕在化ステージの目的

現状の質量分析(MS)技術では、細胞・組織の抽出物を直接分析対象とした場合、シグナル・ノイズ比が極端に低く、現実的な解析手段になり得ていない。本課題では、リン酸化制御に関わる分子の基質親和性を利用して、クルードなサンプルから、標的とする情報伝達系分子由来のリン酸化ペプチドのみを選別して MS解析する技術の開発を目指した。

2. 成果の概要

大学の研究成果

組み換えPTPタンパク質の結合活性を保持したアフィニティカラムの作成に成功した。本アフィニティカラムを用いて組織抽出液から精製した画分には、新規なリン酸化結合分子が含まれていた。それら分子種自体は、既存のMS解析技術によって速やかに同定できたが、リン酸化されたペプチドがほとんど検出されず、その改善が今後の課題として残された。

企業の研究成果

MALDI-MS解析法は、PTP結合画分中の分子種同定に有効であったが、リン酸化ペプチドに対する検出感度が不十分であった。有効な改善策は見いだせず、プロファイル解析系の検討に至らなかった。

トランスジェニック(TG)カイコによる組み換えPTPの生産に関しては、絹糸腺内に発現した組換えタンパク質の多くが可溶性で、高い比活性を有することが確認された。TGカイコの維持・飼育は安価であり、カルタヘナ規制の対象外というメリットを有している。今後の課題として、繭内に含まれる PTPの評価及び、大量精製系の確立が残されている。これら課題をクリアーし、組み換えタンパク質の商品化を目指す。

3. 総合所見

挑戦的な当初目標のプロファイリングには至らなかったが、具体例を持って方法論の有用性が明らかとなり、具体的な進展を示している。更なる展開のためには、リン酸化ペプチドの質量分析法に新しい視点が必要と思われる。本研究から派生した特許出願もあり、実用化の途中段階での市場化の可能性も期待される。