

平成 20 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： マナック株式会社

研究リーダー所属機関名： 広島大学

課題名： 生体内リン酸化蛋白質を大量並びに微量精製するための分子デバイスの顕在化

1. 顕在化ステージの目的

テーラーメイド医療の実現には、より高精度で迅速に解析できるデバイスの実用化が求められている。疾患関連蛋白質が効率的に解明されれば、創薬・診断に要する労力や時間、費用も大幅に低減させることができる。提案者らは、これまでに疾患関連蛋白質と深く関わるリン酸化蛋白質を特異的に認識するフォスタグを見出し、高度な専門知識を必要としない新しい分析技術を開発してきた。本研究では、必要な分析法に対しさらに優れた感度や選択性を新たに創成して、それらをライフサイエンス関連の研究室や臨床現場に提供すること、さらに従来手作業で行っていた行程を自動化するバイオ研究ツールの実用化を目指している。

2. 成果の概要 研究実施者の完了報告書より抜粋

大学の研究成果

Phos-tag トヨパールを用いたリン酸基アフィニティーカラムクロマトグラフィーによって、細胞抽出液中の微量なリン酸化蛋白質を効率的に分離・濃縮する方法を確立した。細胞抽出液の調製からカラムの操作までを中性 pH で行うこと、溶出緩衝液に界面活性剤や還元剤を含まないなどの特徴があるので得られたリン酸化蛋白質試料は変性や失活をすることなく、多様な解析法に適用できる。分離後の画分を 2 次元電気泳動し、任意の 10 スポットを質量分析で解析したところ、すべてリン酸化蛋白質であった。また、Phos-tag ビーズを利用した自作の簡易カラムを用いて、抗リン酸化抗体による検出感度を著しく増大させる方法を樹立した。

企業の研究成果

Phos-tag トヨパールの合成法を確立し、100 mL 以上を製造するための環境を整えた。本ビーズの最適化および機能評価として、リン酸化ペプチドのみを効率的に分離濃縮するためのバッファーシステムの構築、他社のリン酸基親和性クロマトグラフィー用の分離剤との比較を行った。その結果、リン酸化ペプチドに対する選択性が高いこと、ペプチドのアミノ酸配列による影響が小さいこと、リン酸化ペプチドの溶出が温和な条件で十分であることがわかった。さらに、自作のチップ型カラムを用いて、リン酸化蛋白質の消化物からリン酸化ペプチドを分離し、脱塩後、質量分析で高感度に検出できることを確認した。

3. 総合所見

概ね期待通りの成果が得られ、イノベーション創出が期待される。リン酸化蛋白質は生命現象を支配するものであり、その検出法に関して、シーズを工業化するに十分な成果が得られた。本成果によって従来法と比較し、安全・安価・簡便で分離性能の高い技術の提供が可能であることを、強く示すことが出来た。