

遺伝子発現及び機能情報解析のための 次世代プロテオーム解析システムの開発

I 試験研究の全体計画

1. 研究の趣旨

ゲノム解析の成果を生命科学の基礎および応用分野に活用するための研究が、ゲノム科学の新しい先端として国際的な規模で始まっている。その1つの方向は、機能的ゲノムの動態解析を目的とする領域で、「ジーンチップ」などの新技術を基盤としてゲノムのすぐ下流にある「トランスクリプトーム」を包括的に解析することでゲノムの発現状況を系統的に解析することを目標としている。もう1つの方向が、本提案でとりあげる「プロテオーム」の研究である。プロテオームの研究は、生命活動の瞬間に機能しているゲノム情報が「プロテオーム」として具現化されていると考え、その構造、動態、相互作用、機能を体系的に解析することを目指すものである。プロテオームは、ゲノムの最終産物である蛋白質を細胞内で働いている姿のまま、翻訳後修飾も含めて解析する点で、ゲノムの発現ならびにその機能情報を最も直接的に反映する指標と考えられる。こうしたプロテオーム研究の基礎となる概念や方法論は「プロテオミクス」と呼ばれ、従来とは異なる新しい生命科学の領域を形成しつつある。その基盤技術は、蛋白質の高性能分離解析法、相互作用解析法、ならびに機能解析法であり、この領域におけるシステム開発と技術革新は、基礎生命科学だけでなく、医薬農工などに関連した新規産業創造のための中核的方法論としても注目される。すなわち、プロテオミクスを基盤とした遺伝子機能や細胞情報ネットワークの解析は、多遺伝子疾患や環境ストレスによるアレルギー疾患などの原因の解明や創薬、総合的な健康・臨床診断、遺伝子組換え動植物の生体への影響評価、バイオインフォマティクスを基軸とする新規情報産業など、将来の産業技術創成のための新しい戦略としても期待される。ゲノム解析の成果として得られた膨大な情報を如何に活用できるかは、我が国の将来の科学技術ならびに産業の運命を左右する最重要課題である。本研究は、こうした観点から、ゲノム科学の先端としてのプロテオーム解析の基盤整備と技術開発を目的として、ゲノムの設計図をもとに生命が織りなすさまざまな現象を演出している蛋白質の全体像（プロテオーム）を解析するためのシステムの開発ならびに蛋白質間の相互作用（リンケージ）や働きを解析するシステムの開発を目指すものである。

2. 研究概要

本プロジェクトでは、遺伝情報として発現し実際に機能

している蛋白質の種類と動態を迅速かつ系統的に解析するプロテオーム解析システムの開発と相互作用しながら働く蛋白質のリンケージマップ解析システムの開発を目指す。

第I期では、系統的高性能分離技術、翻訳後修飾蛋白質解析技術、高感度蛋白質同定技術を統合化することにより一回の解析操作で2,500種以上の蛋白質の分離とその半数の同定が可能なプロテオーム解析システムと蛋白質の相互作用解析からその同定までをオンラインで実行できるシステムを構築する。

第II期では、一回の解析操作で3,000種以上の蛋白質の分離と80%以上の同定が可能なプロテオーム解析システムへの高度化及び蛋白質相互作用リンケージマップ解析システムの高度化を行い、これらを駆使することによって疾病関連マーカー蛋白質群を同定するための体系的プロテオーム解析技術の確立を目指す。

(1) プロテオーム解析技術に関する研究

① 系統的高分離技術とシステム化に関する研究

ア. 多次元化による高度分離技術に関する研究（東京都立大学大学院理学研究科）

系統的高分離技術に関し、高分離能を達成するための、二次元クロマトグラフィー分離実験、担体開発実験、溶離液選定実験及びオンライン蛋白質分解実験を実施し、多次元分離システムのプロトタイプ装置の組み立てを行う。

イ. 翻訳後修飾蛋白質の系統的分離解析技術に関する研究（東京農工大学農学部）

翻訳後修飾蛋白質の系統的分離解析技術に関し、各種の結合蛋白質・抗体・吸着担体等を用い、糖蛋白質・リン酸化蛋白質等の翻訳後修飾を受けた蛋白質の修飾基特異的のグルーブ分画と既存の手法によるその結合蛋白質の同定解析を実施し、多次元分離システムにおける修飾基特異的の一次分離系の設計を行う。

② 蛋白質の超高感度検出同定技術に関する研究（科学技術庁理化学研究所）

蛋白質の超高感度検出技術に関し、液体クロマトグラフィーで送液されてきたペプチドを既存の質量分析装置で最大の検出感度を達成できる送液量・分離カラムサイズ等の検討実験を実施し、一桁少ないペプチド量を検出するための送液条件・分離カラムサイズ及び液体クロマトグラフィー-質量分析装置インターフェイス部分の設計を行う。

<第1期の目標>

液体クロマトグラフィーと質量分析計を統合したシステムのプロトタイプ装置を試作し、2,500種類の蛋白質の分離とその半数の同定を可能とする。

(2) 蛋白質相互作用リンケージマップ解析技術に関する研究

① 蛋白質相互作用リンケージマップ解析技術のシステム化に関する研究

ア. 蛋白質相互作用解析技術のシステム化に関する研究 (東京農工大学農学部)

蛋白質の相互作用の解析技術に関し、各種固定化蛋白質・化学物質を用いて細胞抽出物中の共鳴プラズモンセンサーチップ上で結合した物質のマニュアルによる溶離・分離・同定実験を行い、非特異的結合物質等蛋白質相互作用解析の自動化に伴う問題点を把握するとともに蛋白質相互作用リンケージマップ解析システムの設計を行う。

イ. マイクロフレイディックスインターフェイス技術に関する研究 (東京都立大学大学院理学研究科)

蛋白質相互作用解析システムの要素技術に関し、共鳴プラズモンセンサーチップから溶出したペプチド試料を分離する液体クロマトグラフィーシステムへのオンライン導入実験を行い、共鳴プラズモン溶離ライン-液体クロマトグラフィーインターフェイス部分の設計及び試作を行う。

② マイクロチップによる蛋白質相互作用解析技術に関する研究 (ピアコア株式会社)

蛋白質相互作用解析システムの要素技術に関し、共鳴プラズモンセンサーチップ上に結合した蛋白質のチップ上での酵素分解実験を行い、チップ上での分解・溶離等溶出制御に必要なソフト技術を確立する。

③ モデル細胞系への蛋白質相互作用解析技術の適用に関する研究 (エイジーン研究所)

蛋白質相互作用解析に関し、モデル細胞系を用いての各種既存技術による蛋白質相互作用解析技術の適用実験を実施し、マイクロチップでの実験結果との比較評価を行う。

<第1期の目標>

蛋白質の高分離と相互作用解析を自動で行える蛋白質相互作用解析を自動で行える蛋白質相互作用リンケージマップ解析システムを試作し、50種類以上の蛋白質の相互作用連関が同定できるシステムとする。

(3) プロテオーム解析システムの適用性評価法に関する研究

① プロテオーム解析システムの創薬への適応性評価技術に関する研究 (グラクソヘルカム)

プロテオーム解析システムの創薬への適応性評価技術に関し、モデル疾患細胞を用いた系において薬剤投与によるプロテオームの変動を既存の手法により解析する実験を行い、プロテオーム解析システムの創薬への適用性評価のための条件項目の設定を行う。

② 診断技術としての感染症への応用評価に関する研究 (感染症研究所)

感染症診断へのプロテオーム解析技術の適用評価に関し、モデル細胞を用いた系でのヒトのバクテリアやウィルス感染に伴うプロテオーム変動を既存の解析手法により解析する実験を行い、プロテオーム解析システムの感染症診断への適用性評価のための条件項目の設定を行う。

③ 診断技術としての老人病への適用評価に関する研究 (エイジーン研究所)

老人病診断へのプロテオーム解析技術の適用評価に関し、遺伝的早老症モデル細胞を用いた系での細胞の老化に伴うプロテオーム変動を既存の解析手法により解析する実験を行い、プロテオーム解析システムの老人病診断への適用性評価のための条件項目の設定を行う。

<第1期の目標>

各対象疾患について、診断のためのマーカーあるいは薬物モニターとなる蛋白質を少なくともひとつ同定する。

3. 年次計画

研究項目	12年度	13年度	14年度	15年度	16年度
1. 遺伝子発現及び機能情報解析のための次世代プロテオーム解析システムの開発					
(1) プロテオーム解析技術に関する研究					
① 高度分離技術のシステム化に関する研究					
ア. 高度分離技術に関する研究	プロトタイプ装置組立	分離技術開発		プロテオーム解析システムの確立	
イ. 修飾蛋白質の分離に関する研究	修飾特異的分離系の設計	各種修飾基の解析同定技術開発			システム改良
② 超高度検出同定技術に関する研究	インターフェイス部の設計	検出同定法の高度化		高感度検出技術確立	

研究項目	12年度	13年度	14年度	15年度	16年度
(2) 相互作用解析技術に関する研究					
① マップ作成技術のシステム化に関する研究					
ア. マップ作成技術に関する研究	相互作用解析システムの設計	プロトタイプ装置組立	システム改良		リンケージマップ解析システムの確立
イ. インターフェイス技術に関する研究	インターフェイス部設計及び試作	インターフェイス部改良			
② マイクロチップによる解析技術					
	溶離制御ソフト技術開発	センサーチップ部改良			溶離制御技術確立
③ モデル細胞系への適用に関する研究	評価準備	モデル細胞系での適用評価			
(3) 適用性評価法に関する研究					
① 創薬への適応に関する研究	自動化装置適用準備		プロテオーム解析システムの創薬技術としての評価		
② 老人病への適用評価に関する研究	自動化装置適用準備		プロテオーム解析システムの老人病診断技術としての評価		
③ 感染症への応用評価に関する研究	自動化装置適用準備		プロテオーム解析システムの感染症診断技術としての評価		
所要経費(合計)	212百万円				

II 平成12年度における実施体制

研究項目	担当機関	研究担当者
1. 遺伝子発現及び機能情報解析のための次世代プロテオーム解析システムの開発		
(1) プロテオーム解析技術に関する研究		
① システム化に関する研究		
ア. 高度分離技術に関する研究	東京都立大学大学院理学研究科生命分子化学研究室	磯 辺 俊 明
イ. 修飾蛋白質の分離に関する研究	東京農工大学農学部構造生化学研究室	高 橋 信 弘
② 超高感度検出同定技術に関する研究	理化学研究所生体分子解析室	瀧 尾 擴 士
(2) 相互作用解析技術に関する研究		
① システム化に関する研究		
ア. システム化に関する研究	東京農工大学農学部構造生化学研究室	高 橋 信 弘
イ. インターフェイス技術に関する研究	東京都立大学大学院理学研究科生命分子化学研究室	磯 辺 俊 明
② マイクロチップによる解析技術	ピアコア(株)開発担当部	橋 本 せつ子
③ モデル細胞系への適用に関する研究	(株)エイジーン研究所	杉 本 正 信
(3) 適用性評価法に関する研究		
① 創薬への適応に関する研究	グラクソ・ウェルカム(株)筑波研究所 プロテオミクス研究室	西 村 俊 秀
② 老人病への適用評価に関する研究	(株)エイジーン研究所	杉 本 正 信
③ 感染症への応用評価に関する研究	厚生省国立感染症研究所 細胞化学部	山 河 芳 夫
2. 研究管理	グラクソ・ウェルカム(株)筑波研究所 プロテオミクス研究室	西 村 俊 秀

Ⅲ 研究推進委員会

委 員	所 属
[プロジェクト内委員]	
○磯 辺 俊 明	東京都立大学 大学院理学研究科教授
杉 本 正 信	(株)エイジーン研究所 主席研究員
高 橋 信 弘	東京農工大学 農学部教授
龍 尾 擴 士	理化学研究所 生体分子解析室長
西 村 俊 秀	グラクソ・ウェルカム(株) 筑波研究所プロテオミクス研究室長
橋 本 せつ子	ピアコア(株) 開発部部長
藤 田 芳 司	グラクソ・ウェルカム(株) 筑波研究所研究本部長
古 市 泰 宏	(株)エイジーン研究所 所長
山 河 芳 夫	国立感染症研究所 細胞化学部主任研究員
[プロジェクト外委員]	
小笠原 直 毅	奈良先端科学技術大学院大学 教授
黒 澤 良 和	藤田保健衛生大学 免疫学研究部門教授
横 山 茂 之	東京大学 大学院理学研究科教授

(注：○は研究推進委員長)