

# 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旨とするものである。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旨とするものである。

### 2. 研究内容及び目標

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

A. 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要素技術について検討し、分離の3次元化を計る。また、蛋白質分解カラムを設計し、オンラインで蛋白質の同定が可能な実験条件を確立することで、多次元分離プロトタイプ装置の高性能化を計る。

##### 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、糖鎖の付加・リン酸化等の翻訳後修飾を受けた蛋白質の修飾基特異的分離・検出・同定技術を確立し、多次元分離システムに組み込み可能な一次分離系を試作する。

##### ② 蛋白質の超高感度検出同定技術に関する研究（理化学研究所）

蛋白質の超高感度検出技術に関し、多次元分離プロトタイプ装置から送液されてきた蛋白質をペプチド断片とし、エレクトロスプレー質量分析計で最大の検出感度で検出するための固定化消化酵素カラムならびにスプレーチップカラムを試作し、多次元分離装置と質量分析計のインターフェイス技術を確立する。

#### <第I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、共鳴プラズモンセンサーチップ上に固定化した各種蛋白質・化学物質に結合した細胞抽出物成分の溶離・分離・同定実験の成果を基礎として、蛋白質相互作用を自動的に解析するためのプロトタイプシステムを試作する。

イ. マイクロフル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フェムトモルレベルのペプチド試料を効率よく分離し、質量分析計で同定するために、マイクロフルイディックス技術を応用したナノフロー液体クロマトグラフィーインターフェイスを試作し、その性能を評価、改良する。

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㈱)

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オンチップ酵素分解で得られたペプチド混合物を効率よく回収するための全自動オートサンブラ付き回収装置を設計・試作し、その性能を評価する。

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 (㈱ジーンケア研究所)

蛋白質相互作用解析に関し、モデル細胞系を用いて既存の方法で実施した蛋白質相互作用解析の結果を上記システムで再現し、その適用性を評価する。

<第I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・スミスクライン㈱)

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、薬物標的探索や薬物作用解析など、工業規模創薬プロセスで重要な自動化のための既存技術をモデル疾患細胞計の解析に適用し、既存技術の問題点を抽出して評価項目を整理するとともに、プロテオーム解析システムの創薬プロセスへの適用性を評価する。

② 診断技術としての感染症への応用評価に関する研究 (厚生労働省国立感染症研究所)

感染症の診断/治療へのプロテオーム解析技術の適用評価に関し、細胞および動物への細菌やウィルス等の病原体の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した実験成果を基礎として、新規プロテオーム解析システムの感染症研究への適用性を評価する。

③ 診断技術としての老人病への適用評価に関する研究 (㈱ジーンケア研究所)

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および不死化細胞を用いた系での細胞の老化、不死化および癌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した実験成果を基礎として、プロテオーム解析システムの老人病診断への適用性を評価する。

<第I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1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			
② 超高感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	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	
ア. マップ作成技術に関する研究	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			
イ. インターフェイス技術に関する研究	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	
② マイクロチップによる解析技術	評価準備	モデル細胞系での適用評価			
③ モデル細胞系への適用に関する研究					
(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	212百万円			

## II 平成13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)ジーンケア研究所	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・スミスクライン(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)ジーンケア研究所	杉 本 正 信
③ 感染症への応用評価に関する研究	厚生労働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・スミスクライン(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)ジーンケア研究所 主席研究員
高 橋 信 弘	東京農工大学 農学部教授
瀧 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・スミスクライン(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) 開発部部长
藤 田 芳 司	グラクソ・スミスクライン(株) 筑波研究所研究本部長
古 市 泰 宏	(株)ジーンケア研究所 所長
山 河 芳 夫	厚生労働省 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)