

# 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

研究代表者：磯辺 俊明（東京都立大学大学院理学研究科）

## 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. 研究の概要

本プロジェクトでは、遺伝情報として発現し、生体内で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標とする。平成15年度は、第I期の研究成果を基盤として(a)蛋白質の系統的高性能分離技術と同定ならびに翻訳後修飾解析をオンラインで実行するプロテオーム解析システムの更なる高感度化と高性能化（蛋白質同定効率の増加）(b)蛋白質相互作用を解析するために試作したシステムの自動的と実用化に向けた改良、ならびに(c)先端医療開発への上記システムの適用性評価のための研究を継続的に実施し、統合化したプロテオーム解析システムの確立へ向けたプロジェクト4年目の目標達成を目指す。

### 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 系統的高分離技術とシステム化に関する研究

##### ア. 分離システムの高度化に関する研究

（東京都立大学大学院理学研究科）

第I期の研究で開発した液体クロマトグラフィーと質量分析装置を基盤としたプロテオーム解析システムの完成に向けて装置の高性能化を計る。具体的には、カラムの微少化による多次元LC部分の高感度化と質量分析部分の分解能の向上によって蛋白質の同定効率を向上させるとともに、装置全体の操作を自動化することで汎用的なシステムとする。

##### イ. 修飾蛋白質分離システムの統合化に関する研究

（東京農工大学農学部）

翻訳後修飾蛋白質の系統的解析技術に関し、新たな原理に基づいた翻訳後修飾蛋白質の特異的な回収・分離法の評価及び多次元分離システムへの適用・改良を実施する。

### <第II期の目標>

多次元液体クロマトグラフィーと質量分析計を組み合わせたオンライン型のプロテオーム解析システムの性能向上を図り、一回の操作で2,500成分のタンパク質を同定できるシステムとする。

#### (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、プロトタイプ自動化蛋白質相互作用解析システムの蛋白質複合体回収部の再設計・構築と蛋白質相互作用リンケージマップ解析システム全体の改良を行う。

イ. マイクロフルイディックインターフェース技術に関する研究 (東京都立大学大学院理学研究科)

第Ⅰ期の研究で試作した蛋白質相互作用検出装置と質量分析計を連結するためのインターフェース・ハードウェア技術改良のための研究開発を実施し、東京農工大学で開発した蛋白質相互作用解析装置に組み込むための改良を行う。具体的には、ナノLCの操作を自動化することで相互作用解析装置へ組み込み可能なシステムとする。

ウ. インターフェース・ソフト技術に関する研究 (ピアコア(株))

表面プラズモン共鳴センサーのセンサチップ上で検出された蛋白質複合体を効率よく回収し、質量分析計へ導入するためのインターフェース・ソフトウェアを開発して蛋白質相互作用解析装置に組み込む。

<第Ⅱ期の目標>

タンパク質の相互作用の検出から同定までをオンライン化し、一度の操作で250種類のタンパク質リンケージを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に関する研究

① 創薬研究への適応性評価に関する研究 (東京医科大学)

アトピー性皮膚炎モデルマウス (NC/Nga) の血漿を多次元液体クロマトグラフィー・質量分析システムで分析し、疾患関連蛋白質群を定量的に検索する方法について検討する。また、この方法によりアトピー性皮膚炎の進行にともなって変動する1,000個以上の蛋白質群から疾患に 관련된蛋白質群を同定する。

② 診断技術への適用性評価に関する研究

ア. 老人病診断への適用性評価に関する研究

(株)ジーンケア研究所)

遺伝的早老症ウエルナー症候群の原因遺伝子WRNおよ

びロスモンド・トムソン症候群の原因遺伝子RTSの機能と、これらが核で正常に機能するための核-細胞質間輸送系を本研究で開発されたシステムを用いて解析し、老人病診断のための分子マーカーを探索する。

イ. 感染症診断への適用性評価に関する研究

(国立感染症研究所)

感染症の診断/治療法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イルス等の病原体の感染に伴う宿主のプロテオーム変動を本研究で開発されたシステムを用いて解析し、当該システムの感染症研究への適用性を評価する。

③ 基礎医学への適用性評価に関する研究

ア. ガンの浸潤増殖機構解析への適用性評価に関する研究 (東京大学医科学研究所)

細胞表層は細胞間の情報交換のインターフェイスであるが、それを担う蛋白質がどのような複合体を形成し、機能するのかについての情報は少ない。本研究では、プロジェクトで開発したプロテオーム解析システムを用いて、細胞表層の蛋白質複合体を解析し、その手法がガンの浸潤増殖機構の解析にどのように有用性を示すことが出来るかを評価する。

イ. 発生工学への適用性評価に関する研究

(九州大学生体防御研究所)

ユビキチン化蛋白質およびリン酸化蛋白質に対して、定量的フォーカスド・プロテオミクス技術を適用し、発生工学的に作出された細胞周期制御因子の遺伝子改変マウスにおけるプロテオームの変化を網羅的に探索する「発生工学プロテオミクス」技術の確立を行う。

<第Ⅱ期の目標>

本プロジェクトで開発されるシステムについて、創薬・診断技術開発の実践的手段としての評価を実施し、疾病の診断あるいは医薬品の効果をモニターするための新規ターゲットマーカーを少なくとも1種類同定する。

3. 年次計画

研究項目	12年度	13年度	14年度	15年度	16年度
<p>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</p> <p>(1) プロテオーム解析技術に関する研究</p> <p>① 系統的高分離技術とシステム化に関する研究</p> <p>ア. 分離システムの高度化に関する研究</p> <p>イ. 修飾蛋白質分離システムの統合化に関する研究</p> <p>(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</p> <p>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</p> <p>ア. 蛋白質相互作用解析技術のシステム化に関する研究</p> <p>イ. マイクロフルイディクスインターフェース技術に関する研究</p> <p>ウ. インターフェース・ソフト技術に関する研究</p> <p>(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</p> <p>① 創薬研究への適用性評価に関する研究</p> <p>② 診断技術への適用性評価に関する研究</p> <p>ア. 老人病診断への適用性評価に関する研究</p> <p>イ. 感染症診断への適用性評価に関する研究</p> <p>③ 基礎医学への適用性評価に関する研究</p> <p>ア. ガンの浸潤増殖機構解析への適用性評価に関する研究</p> <p>イ. 発生工学への適用性評価に関する研究</p>	<p>プロトタイプ装置組立</p> <p>修飾特異的分離系の設計</p> <p>相互作用解析システムの設計</p> <p>インターフェイス部設計及び試作</p>	<p>分離技術開発</p> <p>各種修飾基の解析同定技術開発</p> <p>プロトタイプ装置組立</p> <p>インターフェイスハードウェア改良</p> <p>自動化装置適用準備</p>	<p>システム改良</p> <p>システム改良</p> <p>システム改良</p> <p>インターフェイスソフト開発</p> <p>プロテオーム解析システムの創薬技術としての評価</p> <p>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</p> <p>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</p>	<p>プロテオーム解析システムの確立</p> <p>リンケージマップ解析システムの確立</p> <p>インターフェイスソフト開発</p> <p>ガン浸潤増殖機構解析への適用評価</p> <p>発生工学研究への適用評価</p>	
所要経費(合計)	212百万円	212百万円	212百万円	241百万円	

## II 平成15年度における実施体制

研究項目	担当機関	研究担当者
<p>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</p> <p>(1) プロテオーム解析技術に関する研究</p> <p>① 系統的高分離技術とシステム化に関する研究</p> <p>ア. 分離システムの高度化に関する研究</p> <p>イ. 修飾蛋白質分離システムの統合化に関する研究</p> <p>(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</p> <p>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</p> <p>ア. 蛋白質相互作用解析技術のシステム化に関する研究</p> <p>イ. マイクロフルイディックスインターフェース技術に関する研究</p> <p>ウ. インターフェース・ソフト技術に関する研究</p> <p>(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</p> <p>① 創薬研究への適応性評価に関する研究</p> <p>② 診断技術への適用性評価に関する研究</p> <p>ア. 老人病診断への適用性評価に関する研究</p> <p>イ. 感染症診断への適用性評価に関する研究</p> <p>③ 基礎医学への適用性評価に関する研究</p> <p>ア. ガンの浸潤増殖機構解析への適用性評価に関する研究</p> <p>イ. 発生工学への適用性評価に関する研究</p> <p>2. 研究管理</p>	<p>東京都立大学大学院理学研究科生命分子化学研究室 東京農工大学農学部構造生化学研究室</p> <p>東京農工大学農学部構造生化学研究室</p> <p>東京都立大学大学院理学研究科生命分子化学研究室</p> <p>ピアコア(株)</p> <p>東京医科大学臨床プロテオームセンター</p> <p>(株)ジーンケア研究所 厚生労働省国立感染症研究所</p> <p>東京大学医科学研究所</p> <p>九州大学生体防御研究所 ピアコア(株)開発部</p>	<p>◎磯 辺 俊 明 高 橋 信 弘</p> <p>○高 橋 信 弘</p> <p>磯 辺 俊 明 橋 本 せつ子</p> <p>○西 村 俊 秀</p> <p>杉 本 正 信 山 河 芳 夫</p> <p>清 木 元 治</p> <p>中 山 敬 一 橋 本 せつ子</p>

(注：◎は研究代表者，○はサブテーマ責任者)

### Ⅲ 研究推進委員会

委 員	所 属
○磯 辺 俊 明	東京都立大学 大学院理学研究科 教授
藤 田 芳 司	東京医科大学 臨床プロテオームセンター センター長
西 村 俊 秀	東京医科大学 臨床プロテオームセンター 教授
高 橋 信 弘	東京農工大学 農学部 教授
清 木 元 治	東京大学 医科学研究所 教授
中 山 敬 一	九州大学 生体防御研究所 教授
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
古 市 泰 宏	(株)ジーンケア研究所 所長
杉 本 正 信	(株)ジーンケア研究所 主席研究員
橋 本 せつ子	ピアコア(株) 開発部 部長
-----	
[ オブザーバー ]	
横 山 茂 之	東京大学 大学院理学研究科 教授
小笠原 直 毅	奈良先端科学技術大学院大学 情報科学研究科 教授
黒 澤 良 和	藤田保健衛生大学 免疫学研究部門 教授

(注：○は研究推進委員長)