

翻訳後修飾プロテオミクス医療研究拠点の形成

実施予定期間：平成 20 年度～平成 29 年度
総括責任者：本多 常高（横浜市立大学理事長）

協働機関：(株) 日立ハイテクノロジーズ、(株) 島津製作所、(株) メディカル・プロテオスコープ、富士フィルム(株)、ライオン(株)、エーザイ(株)、ファンケル(株)

I. 概要

プロテオミクス、医学、工学研究チームからなる横浜市立大学と高度な分析技術を保有する企業が連携して翻訳後修飾プロテオミクス医療研究拠点創成を目指す。蛋白質の翻訳後修飾を検出する高感度でハイスループットな技術を開発し、翻訳後修飾異常と疾患との関係を分子レベルで大規模、包括的に解析することにより診断マーカー、創薬ターゲットとなる蛋白質を探索する。また、ゲノム解析、in vivo イメージング法等を用いて、探索された蛋白質を評価すると共に診断マーカーの革新的なアッセイ法の開発を進める。さらに創薬ターゲットの立体構造を解析し、新薬の開発を目指す。

1. 機関の現状

横浜市立大学は、融合・統合的な医科学研究分野で優れた研究開発と人材育成の実績をもつ。学内では、工学、ゲノム、プロテオーム、分子イメージング、臨床医学の研究者が、蛋白質分析技術の開発、疾患の原因となる蛋白質の同定、構造解析、薬物設計、診断技術の開発等に関して先端的な研究を進めており、翻訳後修飾プロテオミクス医療研究を大規模に推進できるポテンシャルを持っている。また、そのために必要な設備機器も整備されている。協働機関である島津製作所は、質量分析装置開発で歴史的成果を挙げたが、現在も技術力は世界最高水準にある。日立グループは、最近、汎用型質量分析装置を用いて修飾分析に適した電子捕獲解離法と呼ぶ画期的なペプチド断片化法を開発した。メディカル・プロテオスコープ社は、肺がん治療薬イレッサの作用機作についてプロテオーム解析手法を用いて研究し、その成果が高く評価された。また、平成 22 年度から参入した富士フィルムは、高度な有機合成、イメージングなどの技術を有し、ライオンは、オーラルケア製品の開発で実績がある。平成 23 年度からは、ヘルスケア製品の開発で評価が高いエーザイ、機能性食品や化粧品開発で実績のあるファンケルも参加することになった。

2. 拠点化の対象とする先端融合領域及び研究開発

蛋白質は、生体内で合成された後、様々な翻訳後修飾を受ける。翻訳後修飾に異常が起こると蛋白質の機能に変化が生じ、その変化が種々の疾患の原因になる。しかし、修飾と疾患の関係に関してはまだ解明されていないことが多い。そこで、蛋白質のあらゆる翻訳後修飾の異常と疾患に焦点を当て修飾検出法の開発から修飾異常と疾患の関係の解明、修飾異常疾患診断技術の開発、創薬まで一貫して研究できる翻訳後修飾プロテオミクス医療研究拠点の創成を目指す。そのために、1) 修飾異常を効率的に検出する質量分析装置の開発、2) 精神疾患、神経変性疾患、がん、生活習慣病、アレルギー性疾患等における修飾異常の検出、3) 生体内での機能解明のための二光子顕微鏡を用いた細胞分子イメージング技術の確立、4) 細胞分子イメージングによる修飾異常と疾患や生理機能との関係の解明、5) 修飾異常蛋白質の高次構造の解明による創薬分子基盤の確立、6) 修飾異常蛋白質のアッセイ法の開発、7) PET/CT 撮影による対象疾患の診断に有効な標識物質の設計と、モデル動物を用いた体内動態の解析、8) 疾患治療のための候補薬物動態試験への応用、等に関する研究を推進する。

3. 拠点化構想の内容

理事長直轄組織として設置した先端医科学研究センターを核として、すでに施行されている全教員任期制や教員評価制を踏まえ、職責や業績に応じた人事制度を構築する。さらにプロジェクト研究制、フェローシップ制等の導入により、優れた若手研究者を確保し、多様な人材を活用できる新たな研究推進システムを構築する。また、知財面や研究成果の広報活動、データベース管理等での事務支援体制を確立する。企業より招聘した客員教員による企業側のニーズに即応した大学院教育等により、企業への人材の供給、企業からの人材登用、活用の促進を図る。研究の推進に当たっては、大学及び協働機関のメンバーからなる拠点運営委員会における議決により方針の決定を行う。協働機関である島津製作所及び日立ハイテクノロジーズは、質量分析による修飾異常の検出方法を協働で開発する。また、メディカル・プロテオスコープ社は修飾異常蛋白質の検出を行う。本拠点で得られた知見は、新規な治療法、診断技術、診断マーカーの開発、新薬創出の基盤となる。本拠点への医療、製薬関連企業の集結が予測され、国際競争に耐えうる経済・産業基盤が構築される。本拠点は、当該疾患群の診断、治療に関する他の医療研究機関への研究協力、医療情報提供でも大きな役割を果たせる。国内外に翻訳後修飾プロテオミクス医療研究拠点はなく、修飾異常に係わる基礎研究、医療創薬に対応できる拠点を創成する意義は大きい。

4. 具体的な達成目標

a. 3 年目における具体的な目標

質量分析におけるイオン化の効率化、ペプチド解離法の開発等によって翻訳後修飾蛋白質を $1/10^{15}$ モルで検出する技術を確立する。この技術を用いて、がん、慢性関節リウマチ、神経変性疾患等に係わる蛋白質を探索し、それらの蛋白質の修飾と疾患の関係を明らかにする。バイオマーカーや創薬の標的候補分子として 1 疾患につき 20~30 の修飾異常蛋白質を同定する。また、修飾異常を MRM 法によって検査する技術を確立する。翻訳後修飾による蛋白質の機能変化や構造変化を解析するため、二光子顕微鏡を用いて細胞レベルのイメージング技術を確立する。また、巨視的なイメージング法として PET 技術の開発を進める。特に PET 薬剤を直接に核酸や蛋白質に標識する技術の開発を行う。

b. 7 年目における具体的な目標

高度な分析技術をもった翻訳後修飾プロテオミクス医療研究拠点の完成を目指す。本研究で開発される分析技術を用いて疾患に関連する修飾異常蛋白質を 1,000 以上同定する。そして、100 以上の蛋白質について、生理的機能との関係、遺伝性疾患との係わり、発がん等との関係を明らかにする。また、10 以上の修飾異常蛋白質の立体構造を NMR や X 線結晶解析によって解明し、薬物設計の基盤を作る。修飾異常のマーカーとなる PET 薬剤を見いだす。

c. 10 年目(終了時)における具体的な目標

翻訳後修飾異常を効率的に検出できる装置の実用化を目指す。翻訳後修飾異常と疾患の関係を解明する研究を事業化する。診断マーカー候補蛋白質のバイオマーカーとしての有用性を検討し、実用的なものとする。また、修飾異常の蛋白質の立体構造解析の結果に基づいて薬物設計を試み、医薬品の開発に繋げる。修飾異常蛋白質を標的とする分子の治験を開始する。生体内の蛋白質修飾異常部位を臨床的に可視化する新しい診断技術を確立し、修飾の程度と病態との相関、疾病の早期発見、マイクロドージングへの応用、開発薬剤の治療効果予測の可能性を明らかにする。人材育成面では、提案機関と協働機関の人材交流、流動化を推進する。融合領域の研究に対応できる人材の育成、企業、研究機関への人材の供給を目指す。

5. 実施期間終了後の取組

本提案における取り組みを通じて、協働機関における研究開発が

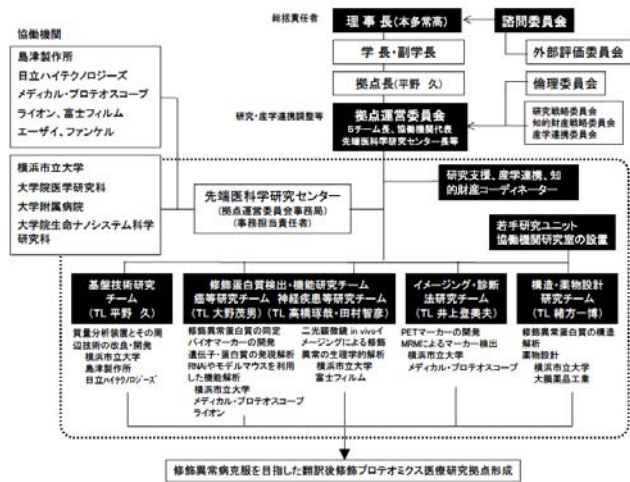
大きく発展すると共に、新たな協働の芽（同一企業との別のテーマでの協働や他の企業との協働等）が各所に現れると予測される。基礎研究面や応用研究面での学術推進と人材育成という大学・附属病院本来の社会的な役割を果たしつつ、新たな社会的な要請である研究成果の社会還元を果たすべく、大学・附属病院と企業との相互補完的な新たな仕組みを構築する。これらの取り組みを推進することにより、真のイノベーション創出拠点を作ることができる。本拠点で育成された若手研究者を他の研究機関に送り込み、わが国の研究水準を向上させ、蛋白質翻訳後修飾異常を原因とする疾患研究分野での国際競争力を強化する。

6. 期待される波及効果

修飾異常による疾患の診断技術、治療法の開発、創薬を目指す世界的な研究センターが設立される。これと併行して、国内における円滑な第一相臨床試験の開始は、現時点において国内で遅々として進まない臨床試験の先駆となると期待される。一方、本拠点への医療、製薬関連企業の集結の開始が予測され、国際競争に耐える経済・産業基盤が構築されることが期待される。

7. 実施体制

横浜市立大学は、平成17年度の独立行政法人化に際して、運営、人事、教育・研究、診療面におけるわが国では最も先鋭的とも言える改革を行った。この改革で、学長と理事長の分離、全教員の任期制・年俸制の導入、教員評価に基づく給与制度の試行等が行われた。トップダウンの迅速な意志決定を可能にするこのような大学システムを踏まえ、学長の主導の下に、治験推進本部の設置、先端医科学研究センターの設置、FDA等の他機関や企業との包括協定の締結、分子イメージングの大学発ベンチャーの立ち上げ等を積極的に行ってきた。本拠点の推進母体となる先端医科学研究センターは、附属病院と協調して、これまではとかく独立に活動していた臨床各科が共通のルールと様式で臨床検体や臨床情報を共有する新たな仕組みとして「バイオバンク」部門を設置した。バイオバンクでは、カルテの電子化ともあわせて、近い将来623床の附属病院の全臨床検体と臨床情報を連結可能匿名化して、有効利用できるシステム開発を検討している。附属病院は360万横浜市民の医療を担っており、極めて有用な研究資源となる。本研究センターは、企業との協働体制の下、基礎研究を基盤として医薬品・医療関連機器の研究開発を進めることを目的としたものであり、2年後には、建物の建設を予定している。本研究における協働機関との共同研究は、共同研究契約に基づき、本研究センター内に設置された産学連携実験室において行われている。



8. 各年度の計画と実績

a. 平成20年度

(1) 計画

(a) 質量分析装置とその周辺技術の開発

プロテインチップを用いた修飾蛋白質検出法等の開発、修飾異

氏名	所属部局・職名	当該構想における役割
◎本多 常高	理事長	総括責任者
布施 勉	学長	プロジェクト総括
○平野 久	先端医科学研究センター副センター長、大学院生命ナノシステム科学研究科・教授	「質量分析装置とその周辺技術の開発」チームリーダー、翻訳後修飾解析法の開発等
大野 茂男	大学院医学研究科・教授	拠点運営委員会委員長、「翻訳後修飾蛋白質の検出」チームリーダー、翻訳後修飾の機能解析とその異常
高橋 琢哉	大学院医学研究科・教授	「翻訳後修飾蛋白質の機能解析」チームリーダー、AMPA受容体翻訳後修飾異常の解析
田村 智彦	大学院医学研究科・教授	同、免疫系転写因子群の翻訳後修飾と機能解析
井上 登美夫	大学院医学研究科・教授	「イメージング技術の開発と応用」チームリーダー、PETイメージング研究開発
緒方 一博	大学院医学研究科・教授	「構造・薬物設計」チームリーダー、転写関連因子の活性制御機構と修飾の影響の解析
藤分 秀司	(株)島津製作所分析計測事業部応用技術部・部長	プロテインチップを用いた翻訳後修飾解析法の開発
照井 康	(株)日立ハイテクノロジー・統括主任技師	翻訳後修飾分析に適した高感度質量分析法の開発
荻原 淳	(株)メディカル・プロテオスコープ・取締役	疾患に関連する翻訳後修飾の解析技術の開発とその応用
中村 孝昭	富士フイルム(株)医薬品・ヘルスケア研究所・部長	翻訳後修飾異常に起因する精神疾患の治療薬の開発
大寺 基靖	ライオン(株)生命科学研究所・所長	ラクトフェリンの脂質代謝への影響、新機能開発
塚原 克平	エーザイ(株)ネクストジェネレーションシステムズ機能ユニット・プレジデント	免疫系転写因子群の翻訳後修飾と機能解析
炭田 康史	ファンケル(株)総合研究所・所長	新規の表皮バイオマーカーの探索とそれを用いた機能性製品の開発

注) ◎: 総括責任者 ○: 拠点長

常病の診断に用いるPETの標識試薬として利用できる糖ペプチドの合成法の開発等を行う。

(b) 翻訳後修飾蛋白質の検出

前立腺がん等の組織、血液、培養細胞等で特異的に発現が変動するリン酸化蛋白質や酸化修飾蛋白質を検出する。SNPアレーによる連鎖解析等を用いて遺伝性疾患責任遺伝子を同定する。

(c) 翻訳後修飾蛋白質の機能解析

蛋白質の機能解析に適した、がんや感染症の動物モデル及び細胞モデルを用いて、疾患によって発現量やリン酸化が変動する蛋白質を探索する。

(d) イメージング技術の開発と応用

修飾異常蛋白質による生理的機能変化を捉えるため、二光子顕微鏡を用いたin vivo分子細胞イメージング技術やPETを用いた生体イメージング技術の開発を行う。

(e) 構造・薬物設計

リン酸化、メチル化及びアセチル化された転写因子等の構造を解析する。また、翻訳後修飾が蛋白質立体構造・相互作用に及ぼす影響に関するデータベースを構築する。

(f) 拠点形成とシステム改革

(1) 拠点運営体制の確立: 拠点運営に係わる拠点運営委員会等を設置。

(2) 拠点設備の整備：先端医科学研究センター内に拠点化研究室及び実験室を整備する。また、先端医科学研究センター新施設建設に向け、設計略図を作成する。

(3) 若手研究チームの公募：若手リーダーを公募する。

(4) 研究会の開催：研究を推進するため、プロテオーム医療創薬研究会を開催する。

(2) 実績

(a) 質量分析装置とその周辺技術の開発

プロテインチップによる修飾蛋白質検出法、修飾異常病の診断に用いる PET 標識試薬となる糖ペプチドの合成法等を開発した。

(b) 翻訳後修飾蛋白質の検出

アルツハイマー病、卵巣明細胞腺がん、前立腺がん等の組織、血液、培養細胞、血管疾患モデル細胞で特異的に発現が変動するリン酸化蛋白質や酸化修飾蛋白質を検出した。また、SNP アレーを用いた連鎖解析等により遺伝性疾患責任遺伝子候補を絞り込んだ。

(c) 翻訳後修飾蛋白質の機能解析

がんや感染症の動物モデル及び細胞モデルを用いて、特異的に発現量やリン酸化が変動する蛋白質を明らかにした。

(d) イメージング技術の開発と応用

二光子顕微鏡を用いた in vivo 分子細胞イメージングに適した蛍光蛋白質を見いだした。また、PET 直接標識法における要素技術としての高分子標識化技術等を検討した。

(e) 構造・薬物設計

リン酸化、メチル化及びアセチル化された転写因子等の構造を解析した。また、翻訳後修飾が蛋白質の構造や相互作用に及ぼす影響に関するデータベースの構築を進めた。

(f) 拠点形成とシステム改革

(1) 拠点運営体制の確立：拠点運営に係わる拠点運営委員会、拠点リーダー会議、諮問委員会、外部評価委員会を設置した。拠点運営委員会を年2回、拠点リーダー会議を毎月、中間発表会及び成果発表会を年1回開催した。その際、諮問委員会と外部評価委員会を開催した。

(2) 拠点設備の整備：先端医科学研究センター内に拠点化研究室及び実験室、協働機関と連携した研究ができる実験室を設置。さらに、先端医科学研究センター新施設建設に向け、設計略図を作成した。

(3) 若手研究チームの公募：若手研究チームリーダーを学内で公募し、選考委員会において選考した。

(4) 研究会の開催：研究を推進するため、プロテオーム医療創薬研究会を設置し、平成20年度は6回開催し、参画研究者の資質の向上を図ると共に、研究成果や情報を一般研究者にも提供した。

b. 平成21年度

(1) 計画

(a) 質量分析装置とその周辺技術の開発

電子捕獲解離法や水素原子異動解離法を用いた翻訳後修飾分析法、新規な MALDI 基板の開発等を推進する。最終的に翻訳後修飾異常蛋白質を $1/10^{15}$ モルで検出できる技術を開発する。

(b) 翻訳後修飾蛋白質の検出

前年度までに検出された疾患関連リン酸化蛋白質を質量分析により同定する。ホルマリン処理パラフィン固定した (FFPE) 病理切片を用いた高感度な疾患関連蛋白質分析技術確立する。また、高密度ゲノムアレー解析を行い、遺伝性疾患責任遺伝子を同定する。

(c) 翻訳後修飾蛋白質の機能解析

前年度までに得られた結果を基に、対象とした動物モデル及び細胞モデルにおいて特異的に発現量やリン酸化パターンが変動する蛋白質を同定する。細胞極性や、幹細胞制御、HIV 感染関連蛋白質の翻訳後修飾の動態を解析する。

(d) イメージング技術の開発と応用

前年度に選定した蛍光蛋白質と解析対象である蛋白質の融合蛋白質を大脳皮質において in vivo 観察する。PET 直接標識法の高速度の検討と、微量物質等の標識化技術としての間接標識法を検討する。

(e) 構造・薬物設計

転写因子の翻訳後修飾による機能制御機構の解析、ヒストンのメ

チル化修飾とそれを認識する蛋白質の構造機能解析、メチル化酵素とヒストンまたは転写因子の複合体の結晶化を進める。一方、分子シミュレーション等を用いた薬剤結合に伴う誘導適合予測法の開発を行う。

(f) 拠点形成とシステム改革

(1) 拠点設備の整備：先端医科学研究センター建設のための基本設計を作成する。

(2) 若手研究者の育成：若手研究チームの研究を支援する。海外からの研究者の受け入れを推進する。

(3) 研究会・シンポジウムの開催：プロテオーム医療創薬研究会を開催すると共に、翻訳後修飾プロテオミクスに関する公開シンポジウムを1回開催する。

(2) 実績

(a) 質量分析装置とその周辺技術の開発

電子捕獲解離法及び新規な水素原子移動解離法を用いた質量分析によるリン酸化部位の高感度 ($1/10^{15}$ モル) で効率的な検出法の開発に成功した。リン酸化蛋白質を1回の質量分析で1,500~2,000同定できるようになった。また、FFPE 組織のリン酸化蛋白質を質量分析によって同定する技術確立した。一方、二光子顕微鏡を用いた in vivo 分子イメージングに適した蛍光蛋白質を選定した。

(b) 翻訳後修飾蛋白質の検出・機能解析

再燃前立腺がん、転移胃がんなどの難治性がんのバイオマーカー候補を同定した。再燃前立腺がんにおける aPKC と IL-6 の役割を解明した。乳腺組織幹細胞の増殖異常マウスの血清蛋白質中に特異的マーカー候補を検出した。幹細胞における DNA 修復や mRNA 監視などに関わるシグナル系を制御する新規分子群を発見した。Pin 1 が標的としたリン酸化蛋白質を解析し、前立腺がんの骨転移を早期に予測できるリン酸化抗体の開発に成功した。そのほか卵巣がん、前立腺がんなどによってリン酸化が変動する蛋白質を網羅的に解析し、83の疾患関連リン酸化蛋白質を見いだした。

社会的隔離ラットにおいて AMPA 受容体シナプスの移行が阻害されるが、AMPA 受容体におけるリン酸化異常を解明した。一方、Ehlers-Danlos 症候群のあるタイプが修飾酵素遺伝子の異常であることを示した。神経疾患患者脳組織においてリン酸化蛋白質 CRMP2 陽性細胞が多く、マーカー候補として有望であるとみられた。

(c) イメージング・診断技術の開発と応用

修飾蛋白質の機能を解析する上で、対象蛋白質を放射性同位元素で標識できれば、その作用機序や、動態の解明が可能になる。蛋白質の構造を損なうことなく、効率的に標識できる技術の開発を行った。また、MRM 法によってごく微量のバイオマーカーを検出する技術を開発するための条件検討を行った。

(d) 構造・薬物設計

遺伝子発現を制御するエンハンソームのリン酸化による形成と崩壊の機構を分子構造レベルで解明した。メチル化ヒストンを認識するクロモドメインの構造と機能を解明した。また、神経特異的転写抑制因子に結合する化合物を NMR でスクリーニングし、4つの化合物を見いだした。関節リウマチの原因蛋白質 PAD4 の活性を抑制する抗体を作製した。一方、ポリユビキチン鎖結合様式の違いによる構造変化の分子シミュレーションを進めた。

(e) 若手研究プロジェクト

若手研究者の育成を目指し、若手研究者をリーダーとする2件のプロジェクトを推進した。

(f) 拠点形成とシステム改革

(1) 拠点運営体制の開催：拠点運営に係わる拠点運営委員会を年2回、拠点リーダー会議を毎月、また、中間発表会及び諮問委員会を開催した。

(2) 拠点設備の整備：先端医科学研究センター建設のための基本設計を作成した。

(3) 若手研究者の育成：若手研究チームの研究を支援する。海外からの研究者の受け入れを推進する。

(4) 研究会・シンポジウムの開催：プロテオーム医療創薬研究会を平成21年度は10回開催すると共に、横浜市立大学国際学術フォー

ラムを開催した。

c. 平成 22 年度

(1) 計画

(a) 質量分析装置とその周辺技術の開発

MRM 法を用いて $1/10^{15}$ モルの修飾異常ペプチドを選択的かつ定量的に検出できる技術を開発する。新規プロテインチップ技術、イオン化の効率化技術の実用化を図る。

(b) 翻訳後修飾蛋白質の検出

アルツハイマー病、卵巣明細胞腺がん、前立腺がん等の疾患についてリン酸化が変動する 20~30 の蛋白質を同定する。同定された蛋白質がバイオマーカーや創薬ターゲットとして利用できるか検証する。検出された疾患責任遺伝子異常と修飾異常の関係を解析する。

(c) 翻訳後修飾蛋白質の機能解析

疾患モデル、モデル細胞等で同定された翻訳後修飾異常蛋白質と疾患との関連の重要性を明らかにするため、生理及び疾患との関わりの観点で鍵となる翻訳後修飾(鍵修飾)について、修飾酵素 RNAi や、リン酸化の細胞イメージングなどの手法を用いて、その機能を解析する。さらに、ヒト検体を用いて、バイオマーカーや創薬標的としての有用性を評価・検証する。

(d) イメージング技術の開発と応用

病態により生ずる翻訳後修飾異常蛋白質を大脳皮質にて in vivo 観察する。また、PET 技術については、直接標識法及び間接標識法の高速度化と収率向上に関して検討し、臨床研究としてのヒト投与が可能となるような Working sample を確定する。

(e) 構造・薬物設計

ヒストンアセチル化酵素の活性制御機構解析、ヒストンリモデリング因子によるヒストン認識及びヒストンの化学修飾の影響、ヒストンのシトルリン化修飾に対する蛋白質の認識機構、メチル化酵素とヒストンまたは転写因子の複合体の初期的な X 線回折実験を行い、薬物設計のための基盤データを収集する。

(f) 拠点形成とシステム改革

(1) 拠点設備の整備：先端医科学研究センター新施設建設のための実施設計を作成する。

(2) 若手研究者の育成：若手研究チームの研究を支援し、海外若手研究者の受け入れを推進する。

(3) 研究会・シンポジウムの開催：プロテオーム医療創薬研究会を開催すると共に、翻訳後修飾プロテオミクスに関する公開国際シンポジウムを 1 回開催する。

(2) 実績

(a) 質量分析装置とその周辺技術の開発

翻訳後修飾蛋白質の分析に適した新規な水素原子移動解離法の確立、 10^{-18} モルレベルのペプチド質量シグナルの検出法開発に成功した。膜フィルターを利用したプロテインチップ技術は実用化の段階に入った。また、MALDI 試料ターゲットに用いる撥水濃縮基板を開発した。一方、アフィニティー精製法と質量分析装置を利用し、リン酸化蛋白質リン酸化部位を 1 回の分析で 2,000 以上同定できるようにした。さらに、質量分析では難しいリン酸化状態の異なる蛋白質変異体を分別して解析できるリン酸化アフィニティー電気泳動法を確立した。これらの研究と並行して数百種のヒト蛋白質リン酸化酵素パネルを用いた MRM の技術検討を進めた。また、FFPE 組織切片からレーザーマイクロダイセクションによって特定部位を切り取り、そこで発現しているリン酸化蛋白質を質量分析によって同定する技術を確立した。

(b) 翻訳後修飾蛋白質の検出・機能解析

卵巣明細胞腺がん、前立腺がん等の疾患で発現が変動するリン酸化蛋白質を約 240 種類検出・同定した。これらの蛋白質のバイオマーカーや創薬ターゲットとして有用性の検証を開始した。ゲノムアレー解析によって同定した Ehlers-Danlos 症候群責任遺伝子が翻訳後修飾酵素蛋白質遺伝子であることを確定した。また、臨床検体を用いた解析によって再燃前立腺がん等のバイオマーカー候補として細胞極性蛋白質である aPKC を同定した。乳腺組織幹細胞の増

殖異常が起きているマウスの血清蛋白質中に特異的マーカー候補を検出し、そのバイオマーカーあるいは創薬標的分子としての有用性を検証した。幹細胞における DNA 修復や mRNA 監視などに関わるシグナル系を制御する新規分子群を発見し、その機構を解明した。また、単離した微量の幹細胞における翻訳後修飾異常を解析するための技術を確立した。HIV 感染を活性化する因子及びその細胞内情報伝達系を明らかにすることができた。さらに血管壁細胞や前立腺がん細胞における NADPH オキシダーゼ I の標的蛋白質を発見した。

(c) 翻訳後修飾蛋白質の機能解析

社会的隔離ラットにおいては AMPA 受容体シナプスの移行障害があるが、この AMPA 受容体における翻訳後修飾異常及び責任分子の活性を調べた結果、AMPA 受容体のリン酸化の減少や AMPA 受容体をリン酸化する CaMKII の活性の低下があることがわかった。

(d) イメージング技術の開発と応用

二光子顕微鏡を用いた in vivo 分子イメージングに適した蛍光蛋白質の選定を行い、Venus が強いシグナルを発することを明らかにした。Venus-AMPA 受容体の融合蛋白質を作製して大脳皮質に in vivo で発現させることによって、二光子顕微鏡で樹状突起が明瞭に観察できるようになった。また、Spine の観察も可能になった。PET 技術に関しては、5-FU の ^{18}F 標識法と Herceptin の ^{68}Ga 標識法をワーキングサンプルの一つとして定め、標識用薬剤を調製し、物質レベルでの構造確認と検定を行い、細胞ならびに動物個体レベルでの安全性を確認した。一方、MRM 法によってごく微量のバイオマーカーを検出する技術を開発するため、特定のリン酸化酵素をモデル蛋白質として MRM 分析の条件検討を行い、fmol レベルで特定の蛋白質由来のペプチドを選択的に検出できるようにした。

(e) 構造・薬物設計

p300 ヒストンアセチル化酵素(HAT)の活性制御機構を明らかにするため、p300 分子内部に活性制御に関与する領域を同定した。この領域は p300 の HAT 活性を抑制することがわかった。ヒストンリモデリング、及びヌクレオソーム形成に関与するヒストンシャペロン Nap1 の X 線結晶構造を 2.6 Å の分解能で決定した。また、ヒストン H3 の N 末端に特異的に結合するヌクレオメチリン(NML)の C 末端ドメイン(242-456)の X 線結晶構造を 2.0 Å の分解能で決定した。このドメインがメチル基転移機能を有することなどを明らかにした。一方、関節リウマチの原因蛋白質であるシトルリン化酵素(PAD4)に結合するモノクローナル抗体を作製し、この抗体によって PAD4 活性を 30% まで低下させることに成功した。さらに分子シミュレーションによってポリユビキチン鎖結合様式の違いによる構造変化を明らかにした。

(f) 拠点形成とシステム改革

(1) 拠点運営体制の開催：拠点運営に係わる拠点運営委員会を年 2 回、拠点リーダー会議を毎月、また、中間発表会及び諮問委員会を開催した。

(2) 拠点整備：先端医科学研究センター新棟の実施設計を行った。

(3) 若手研究者の育成：若手研究チームの研究推進を支援した。外国人研究者を 2 名受け入れた。

(4) 研究会・シンポジウムの開催：公開シンポジウム 2 回、プロテオーム医療創薬研究会 10 回を開催し、参画研究者の資質の向上を図ると共に、市民講座を開催し、研究成果や情報を一般研究者、市民に提供した。

d. 平成 23 年度

(1) 計画

(a) 質量分析装置とその周辺技術の開発

電子捕獲解離法を採用したイオントラップ型質量分析装置を用いた修飾基検出法の実用化を図る。脂質修飾検出法の確立を図る。

(b) 翻訳後修飾蛋白質の検出

卵巣明細胞腺がん、前立腺がん等の組織、血液、培養細胞におけるリン酸化以外の翻訳後修飾の異常について解析する。FFPE 病理切片を用い疾患関連蛋白質を探索する。

(c) 翻訳後修飾蛋白質の機能解析

モデル系の構築、モデル系を用いた鍵修飾の探索と同定、同定さ

