

●一般型

(平成17~19年度)

横浜臨海部エリア

新技術システムを用いた疾患細胞動態プロテオミクスの応用

財団法人 木原記念横浜生命科学振興財団
〒244-0813 神奈川県横浜市戸塚区舞岡町641-12
TEL. 045-825-3487



●事業推進体制

- 研究統括……西村 善文(横浜市立大学大学院国際総合科学研究科 教授)
- 科学技術コーディネーター……角田 勝、北井 淳夫

●核となる研究機関

- 公立大学法人 横浜市立大学

●主な参加研究機関

- 産…東洋鋼鈑(株)、SUS(株)、東レ(株)、(株)ファンケル、(株)セルフリーサイエンス、(株)DNAチップ研究所
- 学…公立大学法人 横浜市立大学
- 官…(財)木原記念横浜生命科学振興財団

研究開発のねらい

新たに開発したプロテオーム解析技術と当エリア内の研究者ネットワークを活用して、卵巣がん・前立腺がんなどの疾患、老化、食品アレルギー、神経回路形成に関連するタンパク質を高速で網羅的に検出する。同時に、分析技術の開発改良研究を行い、疾患関連タンパク質検出の効率化を図る。また、検出されたタンパク質の発現パターンや機能を解析し、疾患との関連を明確にする。一方では、疾患モデル動物や細胞を用いて見出された候補分子について、疾患との関わりを評価する。さらに、ヒトcDNAライブラリーから大量発現させた疾患関連核内タンパク質と薬物候補化合物との相互作用を解析するとともに、相互作用によって形成される複合体の立体構造を解析し、創薬に必要な情報を収集する。これらの研究成果を基にして、診断薬、診断システム、機能的食品、化粧品、新規医薬品などの創出を試みる。

研究の内容

1. 疾患関連タンパク質の検索・同定

がんを主体とした疾患に伴って変動するタンパク質を蛍光ディフレンシャルゲル電気泳動やナノ液体クロマトグラフィーによって分離検出し、質量分析装置を用いて50種類以上同定する。その中から、5~10種類の診断マーカー候補タンパク質を選定する。一方、新規薬物の作用様式や毒性試験に利用できるマーカーを同定し、創薬研究の効率化を図る。また、疾患関連タンパク質に作用する薬剤をスクリーニングし、新規薬剤探索の展開を図る。

2. 疾患関連タンパク質の機能解析

がんなどの疾患の診断、治療法開発、再生医療などに向けて、新たな診断マーカーや分子標的の候補分子を検索すると同時に、各々について疾患との関わりを評価するシステムを構築する。患者由来の検体から同定されたタンパク質の機能を解析し、疾患との関連を明らかにする。組織幹細胞や、疾患モデル動物組織などを用いて、網羅的なプロテオーム解析を行い、新規診断マーカーや分子標的タンパク質の候補を見出す。

3. 化合物複合体の構造解析

ヒト疾患関連候補核内cDNAを同定後、cDNAライブラリーから発現系を作成し、次いで該当するタンパク質を大量調製する。調製したタンパク質についてX線やNMRを用いて高次構造を解析する。構造に基づいて機能予測を行い、該当タンパク質が結合する標的化合物の同定を行う。さらに、当該タンパク質の機能を調節する化合物を類推・設計し、フロー型NMR法により結合化合物を同定する。同定した化合物とタンパク質の複合体構造をX線やNMRで解析し、その結果に基づいて薬物候補化合物の基盤データを作成する。

主な研究成果

1. 疾患関連タンパク質の検索・同定

プロテオーム解析による卵巣明細胞腺がん特異的タンパク質の検索の結果、がん細胞では、L-乳酸脱水素酵素B鎖、アネキシンA4など数種類のタンパク質の増加が判明した。逆に減少しているタンパク質も同定できた。アネキシンA4については、悪性度が高い明細胞腺がんでの特異的遺伝子レベル、タンパク質レベルでの発現亢進が見出された。前立腺がんや川崎病に関連して発現するタンパク質数種類も検出した。一方、ヒト血清中タンパク質1,800種を検出できる技術を開発した。

2. 疾患関連タンパク質の機能解析

ヒト乳がんや前立腺がん検体を用いてプロテオーム解析を行い、初期乳がん血清診断マーカー候補分子を探索した。同時に、がんとの関わりが示唆されているPin1やアンジオテンシンIIに着目し、新規の関連分子の探索を行った。別途、初期乳がんモデルマウスの系を確立し、また、上皮細胞の極性形成に必要な因子(例えばPAR-1b)群が発現する培養上皮細胞系も樹立した。

3. 化合物複合体の構造解析

ヒトcDNAライブラリーからのターゲット選択を行った結果、約90種類におよぶ大腸菌発現系を作製した。その全てを細胞系と無細胞系により目的タンパク質の発現を行い、80%以上の高い発現効率を示すことができた。その中から、NMRによる構造解析が可能な2種類のタンパク質を得ることができた。

