

3. 共同研究実施報告

(1) 研究体制の構築

平成12年12月に本事業がスタートし5年間の経過し、コア研究室や設備等が完備し基盤システムの開発が終了した。この間平成14年のノーベル化学賞は「タンパク質を中心とする生体高分子の同定及び構造解析のための手法の開発」で、質量分析装置の開発で島津製作所の田中耕一氏と米国コモンウェルス大教授のジョン・フェン博士に、NMR法の開発で米国スクリップス研究所客員教授のクルト・ビュートリッヒ教授に授与されることになった。ポストゲノム科学としてタンパク質の構造解析の研究が、非常に重要であることがあらためて認識されたといえる。

タンパク質の多様な機能を同定するために、主にNMRや質量分析を用いた原子レベルでの解析技術を研究テーマ1として、横浜市立大学大学院総合理化学研究科（現：国際総合科学研究科）の鶴見キャンパス内にコア研究室を整備し開発することにした。さらに横浜市立大学木原生物学研究所と横浜市立大学医学部では、研究テーマ2としてタンパク質の機能同定を解析する技術を開発することにした。

研究テーマ1は薬物候補低分子化合物とタンパク質の相互作用を網羅的かつ迅速に解析する新技術の開発で、その中に1-1から1-3までの3個の中テーマがある。研究テーマ2は細胞機能上重要なタンパク質を網羅的かつ迅速に同定する新技術の開発で、その中に2-1から2-2の2つの中テーマがあり、さらに一時期2-3の中テーマがあった。ここでは各個別中テーマに関して概略する。

1-1：タンパク質回収フロー型自動NMR測定装置の開発

タンパク質の構造解析の中心機器である700MHzのフロー型NMR装置に、本事業で(株)資生堂が開発したタンパク質回収装置を設置し一体化したシステムとして完成した。一体化に当たっては、ブルカー・バイオスピン(株)がNMR装置と回収装置を連動するためのソフトを開発し、薬物結合タンパク質としてDHF_R(ジヒドロ葉酸還元酵素)をモデルタンパク質とし、低分子化合物として市販のライブラリーを用いてスクリーニングを試みたところ、標的化合物をNMR的に同定することが可能となった。また装置のバリデーションのために旭化成ファーマ(株)が参画し、実際にシグナル伝達タンパク質を標的にして検出を試みた。以上の研究により基本的なシステムの性能確認は出来た。

またこのテーマの中では、NMRを用いていくつかの転写関連因子の立体構造を解析し、機能解析を行い特許を出願した。またNMR測定用のための安定同位体でラベルしたDNA合成法を開発し、事業化した。さらにタンパク質を効率よく調製するための新規発現ベクターを開発し、特許を出願し事業展開を図っている。

1-2：アフィニティー型キャピラリー電気泳動質量分析装置の開発

質量分析装置は順調に稼働し、本事業で開発した付属装置を設置しシステムとして稼働できるようになった。島津製作所(株)が開発を担当したマイクロ(μ)チップキャピラリー電気泳動(CE)装置に関してはいくつかのタンパク質が分離可能で、質量分析(MS)装置に導入して一体化した μ チップCE/MS装置として分析が可能になった。さらに味の素(株)との共同研究で分離検出したタンパク質を断片化し、トップダウンプロテオミクスに利用できるシステムの一連の技術開発に成功した。またこの装置を用いてアミノ酸の微量分析が可能になった。これらに関しては特許化を行っている。またこのテーマの中で、転写関連因子のサブユニット構造の同定や転写因子とDNAとの複合体の安定性を質量分析装置で同定できることを示した。さらに本事業内で独自に開発したエミッターは事業化され、市販されている。またキッセイ薬品工業(株)との共同研究では、HCOMTのリガンドおよび薬物結合部位を明らかにした。

1-3：DNA結合タンパク質同定装置の開発

日立ソフトウェアエンジニアリング(株)を中心に二重鎖DNAチップの開発を行い、テロメア関連因子などの二重鎖DNAに結合する塩基配列特異性を迅速に同定できるようにした。少なくともテロメア関連因子のTRF1とTRF2や転写因子のc-Mybの配列特異的な認識を網羅的かつ迅速に同定することが出来た。更に基本転写因子、転写因子、テロメア関連タンパク質、組換え

関連因子など様々なDNA結合タンパク質について構造解析や機能解析を行った。

2-1: 分泌タンパク質マッピング技術の開発

細胞接着因子ラミニン類の大量調製法を開発し、ラミニン類の機能解析などを行った。また癌細胞や老化細胞に特異的なタンパク質を同定した。さらに老化細胞の研究の過程から表皮細胞の老化を防ぐ作用がシリピンにあることを発見し、シリピンを入れた化粧品やサプリメントが事業化し市販された。さらには皮膚老化度をチェックするマーカータンパク質を見いだした。

2-2: シグナル伝達モニタリング技術の開発

特にmRNAの品質管理機構の分子機構を明らかにし、その過程で重要なタンパク質が癌化の重要な課程をになっている可能性があり、抗癌剤の開発に向けた共同研究が進行している。またシグナル伝達における特定のタンパク質のリン酸化をモニターする抗体を開発したので、今後市販化していくことになった。

2-3 プロテオーム解析技術の開発 (平成16年度)

ダイヤモンド様炭素皮膜処理基板(DLC基板)を用いて電気泳動後のタンパク質を固定化し、MALDI-MSの試料標的として使用できる技術を開発し、タンパク質-タンパク質相互作用を解析出来るようなタンパク質チップを開発した。

これらの多様なタンパク質の構造と機能を解明する過程で細胞外、細胞膜、細胞質、核内におけるタンパク質の機能解明のための基盤技術開発を目指した。以下に共同研究体制を研究テーマとあわせて記す。

研究テーマ1: 薬物候補低分子化合物とタンパク質の相互作用を網羅的かつ迅速に解析する新技術の開発 (コア研究室: 横浜市立大学大学院国際総合科学研究科)

1-1. タンパク質回収フロー型自動NMR解析技術の開発: 任意のタンパク質と結合する低分子化合物を網羅的かつ迅速に同定する解析機器を開発する。

1-1-1. DNA結合タンパク質の構造解析・結合能の条件検討及びNMR新技術の検証

研究者: 長土居有隆・廣明秀一 (横浜市立大学大学院国際総合科学研究科)、横山順・福田健治 (太陽日酸株)

1-1-2. DNA結合タンパク質の構造解析を通じたNMR新技術の検証

研究者: 奥田昌彦・岡村英保・野村充 (木原財団)

1-1-3. フロー型NMR装置の構築技術の開発

研究者: 城田修・平山綾 (株資生堂)、佐藤一 (ブルカー・バイオスピン株)、小路弘行・小上裕二・山本有・小川潔 (旭化成ファーマ株)

1-2. アフィニティー型キャピラリー電気泳動質量分析装置の開発: 分子間相互作用を示すタンパク質の網羅的解析を目指した多次元キャピラリー電気泳動質量分析システム(CE/MS)を開発する。

1-2-1. タンパク質の構造における質量分析関連技術の開発

研究者: 明石知子 (横浜市立大学大学院国際総合科学研究科)、山田尚之 (味の素株)、岡崎浩輔 (キッセイ薬品工業株)、奥田昌彦・岡村英保・野村充 (木原財団)

1-2-2. アフィニティー型マイクロチップキャピラリー電気泳動-質量分析システムの開発

研究者: 中村伸・谷水弘治・荒井昭博・鈴木功一 (株島津製作所)

1-3. DNA結合タンパク質同定装置の開発: 転写因子など特定の塩基配列のDNAに結合するタンパク質を網羅的に同定する技術開発を行う。

1-3-1. DNA結合タンパク質の構造解析・結合能の条件検討及び新技術の検証

研究者: 長土居有隆・古久保哲朗・岩崎博史・木寺詔紀 (横浜市立大学大学院国際総合科学研

究科)、上野勝(広島大学)、木寺重樹(㈱パイケーキ)

1-3-2. DNA結合タンパク質の構造解析を通じた新技術の検証

研究者: 奥田昌彦・岡村英保・野村充(木原財団)

1-3-3. 二重鎖DNAチップの開発

研究者: 森田敏樹・中尾素直(日立ソフトウェアエンジニアリング(株))

1-3-4. 機能性核酸の合成法の開発

研究者: 関根光雄・清尾康志(東京工業大学)

研究テーマ2: 細胞機能上重要なタンパク質を網羅的かつ迅速に同定する新技術の開発

2-1. ヒト細胞が分泌する機能性タンパク質の分析技術の開発と応用: 細胞機能を調節する重要な分泌タンパク質、特に細胞接着分子、プロテアーゼなどの分子種や機能を効果的に分析する技術を開発する。

2-1-1. 動物細胞の分泌タンパク質に対する分析技術の開発と応用

研究者: 宮崎香・安光英太郎(横浜市立大学木原生物学研究所)、安田知永・森山佳谷乃(木原財団)、水谷悟(キリンビール(株))、宮田智(㈱ファンケル)

2-1-2. 細胞接着分子ラミニン5及び6の機能解明と応用

研究者: 宮崎香・東昌市(横浜市立大学木原生物学研究所)、安田知永・森山佳谷乃(木原財団)、石塚保行・高崎夕嫁((株) エーシーバイオテクノロジーズ)

2-2. 新規シグナル伝達蛋白質を同定するためのシグナル伝達モニタリング技術の開発: リン酸化コンセンサス配列を認識するリン酸化部位特異的なモノクローナル抗体の作成技術とシグナル伝達の一挙モニタリング法を開発する。

2-2-1. mRNAサーベイランス系の操作技術の展開応用

研究者: 大野茂男・平井秀一・水野恵子(横浜市立大学医学部)、水谷悟(キリンビール(株))、江村智博・松尾健一・宮寺和孝・青柳芳美(大鵬薬品工業(株))

2-2-2. リン酸化特異的抗体を用いたシグナル伝達のモニタリング

研究者: 村松玲子(木原財団)

2-2-3. 免疫及びスクリーニングに用いるリン酸化ペプチドの合成、抗体作成とスクリーニングと特異性の評価

研究者: 蜂矢隆久(㈱医学生物学研究所)

(2) 研究テーマの推移

薬物標的タンパク質としては膜タンパク質も非常に重要であるので、まだNMR技術としては今後の開発が必要な面もあり、1-1-4から1-1-6は膜タンパク質の精製法から始めて新たなNMR測定技術の開発をおこなうことにした。しかしこの研究を担当した当時横浜国立大学大学院工学研究科の阿久津秀雄教授が大阪大学に移転してコア研究室の連携が困難になったことおよび膜タンパク質を対象とした固体NMR技術は基盤的であり、特に文部科学省の特定研究として阿久津秀雄教授を代表として「生命秩序の膜インターフェイスを制御するソフトな分子間相互作用」が平成15年度から発足し、横浜市立大学大学院総合理学研究科の白川昌宏教授も特定研究の計画班に参加したので、1-1-4から1-1-6は平成15年度で打ち切ることにした。

1-2はマイクロチップ電気泳動質量分析装置を用いる技術開発で、多様なタンパク質に適用可能である。1-2-1に関しては平成12年度から13年度はいくつかの小テーマがあったが平成14年度からは整理統合し横浜市立大学大学院国際総合科学研究所の明石知子准教授がタンパク質の構造解析における質量分析関連技術の開発を行った。

タンパク質の網羅的な同定を行うための技術開発として、平成15年度からは1-2-3として質量分析技術を利用したプロテオーム解析法の開発を横浜市立大学木原生研の平野久教授のもとに行うことにした。研究の進展に鑑み、平成16年度は2-3としてプロテオーム解析技術

の開発として独立した中テーマに発展したが、このテーマが16年度から地域新生コンソーシアム研究開発事業に採択されたので、17年度からは地域結集型共同研究事業としては打ち切った。

研究テーマ2に関しては東京工業大学大学院生命理工学研究科において2-3の中テーマとして前駆細胞タンパク質同定技術の開発を平成12-13年度に行ったが、その間に民間との共同研究がなかったこと及び研究テーマの代表者の石川冬木教授が京都大学に移転してコア研究室との連携が困難になったことから、その関連するテーマをテロメア関連タンパク質の同定技術の開発に変更し、静岡大学理学部の上野勝博士との共同研究により平成14年度からはコア研究室内で行うことにした。

また2-1-1および2-1-2に関しては、平成12年度から13年度に各々の小テーマを見直して平成14年度以降は整理統合した。

テーマ2-2-1のmRNAサーベイランス系では大鵬薬品工業(株)が実際の創薬のための研究を開始し、テーマ1-2-1のタンパク質の構造解析における質量分析関連技術の開発ではキッセイ薬品工業(株)が創薬の観点で参加し、1-1-3のフロー型NMR装置の構築技術の開発では旭化成ファーマ(株)がやはり創薬の観点で参加している。

他大学との連携のために、平成15年度から東京工業大学大学院生命理工学研究科の関根光男教授が本事業に参加し、1-3のテーマの中で二重鎖DNAチップの開発のために1-3-4として機能性核酸の合成法の開発を行った。

民間会社との共同研究の拡大という意味では平成14年度までに参加していた企業は総計11社だったが、平成15年度から新たに東洋鋼鈑(株)、SUS(株)、大鵬薬品工業(株)が参加し、更に平成16年度からエーシーバイオテクノロジーズ(株)、旭化成ファーマ(株)が参加し、事業化に向けた新たな展開が見られた。

理研とは本事業内では特別な連携をしていないが、本事業のコア研究室がある横浜市立大学大学院国際総合科学科生体超分子科学専攻は理研との連携大学院で、コア研究室と同じ建物内に理研の研究員の研究室が5つ存在し、理研から多数の客員教授、客員助教授、客員研究員が参画しコア研究室と密接な交流が行われ、数多くのセミナーや研究会で実質研究上の連携が行われてきた。

財団の雇用研究員は大体11名前後と一定していたが、共同研究参加大学研究者は平成14年度の15名から平成15年度18名に増加し、一部組織の見なおしをしたあとの平成17年度でも15名が参加している。また共同研究参加企業研究員も平成14年度の49名から平成15年度は56名に増加し、地域新生コンソーシアム研究開発事業の参加のために抜けた平成17年度でも48名が参加している。

(3) 研究成果

様式6に示すように、各サブテーマで様々な研究成果が得られた。以下簡単に例を示すが、1-1ではタンパク質回収型フローNMR装置の開発においては薬物標的タンパク質の自動回収に成功し、低分子化合物ライブラリーを用いて標的タンパク質に結合する化合物が同定できた。NMR新技術検証のために安定同位体でラベルしたDNAを合成する手法を開発し、受注生産を行った。またタンパク質機能性ドメインの立体構造解析を加速することに特化したPRE-SAT-vectorを開発し、新規ドメインを発見し構造解析に使用され有効性が実証された。

1-2では、アフィニティー型キャピラリー電気泳動質量分析装置の開発においてDNA結合タンパク質をオンラインで分離し、その検出や同定のための断片化に成功した。また質量分析用の新しいエミッターを開発し市販した。また、今回開発したマイクロチップキャピラリー電気泳動質量分析装置を用いて、アミノ酸を迅速に同定することが可能となった。

1-3では本事業で初めて見出した全く革新的な方法により、二重鎖DNAチップを用いてDNA結合タンパク質の塩基配列特異性を網羅的かつ迅速にしかも定量的に同定できるようになった。

2-1では癌細胞及び老化細胞から特異的に分泌されるタンパク質を同定し、癌や皮膚老化の

候補マーカータンパク質を同定した。その研究の過程で老化防止に関連する化合物を同定し、新規の老化防止化粧品やサプリメントを市販することが出来た。

2-2ではmRNAサーベイランス系の分子機構を解明し、癌や遺伝性疾患の治癒のための基盤技術を開発することができ、またいくつかの特異的な抗体を見出し市販する予定である。

(4) 今後の展開 (総括)

機能性タンパク質の同定技術の開発に関しては、タンパク質の機能の多様性に鑑みいくつかの技術を並行して開発した。その中の一つとして、タンパク質回収型フローNMR装置の開発においてはタンパク質の自動回収に成功し、低分子化合物ライブラリーを用いて実際のタンパク質に結合する化合物がヒットすることも確認した。一方、Similarity計算の精度と再現性を向上させる工夫を行い、オフラインで成功した。今後は、実際の医薬品開発に係るタンパク質-薬物の相互作用を対象としたスクリーニングへの適用が考えられる。

一方、方向性を有するPCRクローニング技術およびそれを可能とする非対称TA-vectorとその製法の総称である「PRESAT-vector法」の開発に成功した。タンパク質機能性ドメインの立体構造解析を加速することに特化した応用例として、三種類のGST融合タンパク質型PRESAT-vector、Trx融合型、His-Tag融合型、FLAG-Tag融合型など計10種類の作成を行った。このベクターを使って新規または既存のドメイン・ペプチドを合成し、それによって得られた新規タンパク質ドメインはタンパク質の同定技術の開発などに予想以上の成果をあげつつある。今後その有用性が広く認識されれば、事業化にも繋がると思われる。

アフィニティー型キャピラリー電気泳動質量分析装置の開発においては、 μ チップCE/MSを用いてトップダウンプロテオミクスの手法により、塩基性の高いDNA結合タンパク質のオンラインでの分離・検出・断片化に成功した。さらに、独自開発のエミッターによるタンパク質の断片化に成功した(エミッターは上市)。また、 μ チップCE/MSによるアミノ酸誘導体等の低分子化合物の迅速な測定法を開発した。今後、個々の要素技術(マイクロチップ関連技術、ピーズを用いたチップ内前処理など)については、様々なシステムへの展開が考えられることから事業化に向けた検討を進める。

二重鎖DNAチップは、DNA結合タンパク質の塩基配列特異性を網羅的にかつ迅速にしかも定量的に同定できることが判った。DNA結合タンパク質の塩基配列特異性を定量的に検討することは、転写因子などの真の標的配列が何かを知るためにも重要である。今後、網羅的に固定化したオリゴDNAチップのコストパフォーマンスを考慮して開発する。

分泌タンパク質では、癌細胞及び老化した表皮角化細胞からそれぞれに特異的に分泌されるタンパク質を同定し、癌及び皮膚老化のマーカーとしての候補タンパク質を選びだした。これらは癌や老化の診断に用いるための研究が今後進められる。さらに、アトピー性皮膚炎モデルマウスの皮膚からアトピーに特異的と考えられるタンパク質も数種類見いだしており、これらもアトピー性皮膚炎の症状診断に用いるための研究が進められる予定である。

ラミニン5及び関連分子については既に効率的な生産方法が確立されており、特に今回の研究開発事業でその機能がラミニン5(A)よりも優れていることが見いだされたラミニン5Bについては、培養器材や研究試薬として事業化が進められている。

一方、異常mRNA認識の分子機構を世界に先駆けて解明し、SMG-1のリン酸化の位置づけを明確とした。これを利用して、mRNAサーベイランス系の操作技術及びモニター技術を開発した。さらに、その展開応用の可能性を試験し、遺伝性疾患の克服の可能性を開くと同時に、癌分子標的など新規な薬物開発につながる化合物のスクリーニング系をほぼ確立することに成功した。

平成17年度共同研究体制

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

大学
研究員

雇用
研究員

研究
テーマ

共同
研究
企業

1-1
タンパク質
回収フロー型
自動NMR測定
装置の開発

横浜市立大学
長土居有隆
廣明 秀一

奥田 昌彦

1-1-1
DNA結合タンパク質
の構造解析・結合能
の条件検討及びNMR
新技術の検証

1-1-2
DNA結合タンパク質
の構造解析を通じた
NMR新技術の検証

1-1-3
フロー型NMR装置の
構築技術の開発

大陽日酸(株)
株資生堂
ブルカー・バイオスピン(株)
旭化成ファーマ(株)

1-2
アフィニティー型
キャピラリー
電気泳動質量
分析装置の開発

横浜市立大学
明石 知子

岡村 英保

1-2-1
タンパク質の構造解
析における質量分析
関連技術の開発

1-2-2
アフィニティー型マ
イクロチップキャピ
ラリー電気泳動-質
量分析システムの開
発

味の素(株)
キッセイ薬品工業(株)
島津製作所(株)

1-3
DNA結合
タンパク質
同定装置の開発

東京工業大学
関根 光雄
清尾 康志
静岡大学
上野 勝
横浜市立大学
長土居有隆
古久保哲朗
岩崎 博史
木寺 詔紀

野村 充

1-3-1
DNA結合タンパク質
の構造解析・結合能
の条件検討及び新技
術の検証

1-3-2
DNA結合タンパク質
の構造解析を通じた
新技術の検証

1-3-3
二重鎖DNAチップの
開発

1-3-4
機能性核酸の合成法
の開発

(株)バイケーク
日立ソフトウェア
エンジニアリング(株)

2-1
分泌タンパク質
マッピング技術
の開発

横浜市立大学
宮崎 香
安光英太郎
東 昌市

安田 知永
森山佳谷乃

2-1-1
動物細胞の分泌タン
パク質に対する分析
技術の開発と応用

2-1-2
細胞接着分子ラミニ
ン5及び6の機能解析
と応用

キリンビール(株)
株ファンケル
株エーシーバイオ
テクノロジーズ

2-2
シグナル伝達
モニタリング
技術の開発

横浜市立大学
大野 茂男
平井 秀一
水野 恵子

村松 玲子

2-2-1
mRNAサーベイラン
ス系の操作技術の展
開応用

2-2-2
リン酸化特異的抗体
を用いたシグナル伝
達のモニタリング

2-2-3
免疫及びスクリー
ニングに用いるリン酸
化ペプチドの合成、
抗体作製とスクリー
ニングと特異性評価

キリンビール(株)
株大鵬薬品工業(株)
株医学微生物研究所

コア研究室

フェーズ

テーマ1 薬物候補低分子化合物とタンパク質の相互作用を網羅的かつ迅速に解析する新技術の開発

1-1	DNA結合タンパク質の構造解析 結合能の条件検討及びNMR新技術の検証
1-1-1	DNA結合タンパク質の構造解析 結合能の条件検討及びNMR新技術の検証
1-1-2	DNA結合タンパク質の構造解析を通じたNMR新技術の検証
1-1-3	フロー型NMR装置の開発
1-1-4	膜受容体及び糖結合蛋白質の解析とそれに付随するNMR関連技術開発のコンセプト
1-1-5	細胞膜、細胞内膜への蛋白質局在機構の解析
1-1-6	膜受容体解析と新規NMR測定技術開発
1-2-a	タンパク質の同定における質量分析装置関連技術の開発
1-2-b	アフィニティー型キャピラリー電気泳動質量分析システムの開発と測定、タンパク質のキャラクタリゼーションの条件検討
1-2-c	DNA結合タンパク質の構造解析 結合能の条件検討及び質量分析新技術の検証
1-2-d	DNA結合タンパク質の構造解析を通じた質量分析新技術の検証
1-2-2	アフィニティー型マイクロチップキャピラリー電気泳動 - 質量分析システムの開発
1-3-1	DNA結合タンパク質の構造解析 結合能の条件検討及び新技術の検証
1-3-a	DNA結合タンパク質に関する生物情報科学分析
1-3-2	DNA結合タンパク質の構造解析を通じた新技術の検証
1-3-3	二重鎖DNAチップの開発

中止

↑
統合

↑
統合

フェーズ

1-1-1	DNA結合タンパク質の構造解析 結合能の条件検討及びNMR新技術の検証
1-1-2	DNA結合タンパク質の構造解析を通じたNMR新技術の検証
1-1-3	フロー型NMR装置の構築技術の開発
1-2-1	タンパク質の構造解析における質量分析関連技術の開発
1-2-2	アフィニティー型マイクロチップキャピラリー電気泳動 - 質量分析システムの開発
1-2-a	質量分析技術を利用したプロテオーム解析法の開発
1-3-1	DNA結合タンパク質の構造解析 結合能の条件検討及び新技術の検証
1-3-2	DNA結合タンパク質の構造解析を通じた新技術の検証
1-3-3	二重鎖DNAチップの開発
1-3-4	機能性核酸の合成法の開発

平成16年度から
テーマ2へとして独立

フェーズ

平成17年度から19年度
都市エリア産学官連携促進事業
テーマ1、テーマ2、テーマ2-bの一部を
この事業に継続した

平成17年度より
地域新生コンソーシアム研究開発事業へ移行

フェーズ

テーマ2 細胞機能上重要なタンパク質を網羅的かつ迅速に同定する新技術の開発

2-1-a	ヒト肝細胞が分泌するタンパク質の比較分析、プロテアーゼ及び細胞接着分子の再生 検出方法の検討
2-1-b	プロテオジンクタンサーによる分離タンパク質同定法の確立、ヒト表皮細胞が分泌するタンパク質のマッピング
2-1-c	分離タンパク質の同定技術指導と質量分析による一次構造解析
2-1-d	皮膚細胞の培養条件と老化、糖害モデル系の確立
2-1-e	二次電気泳動法による分泌タンパク質マッピング技術の開発、組み換え型ラミニン5/6と応用性の検討
2-1-f	活性プロテオマッピング法の開発のための条件検討、組み替え型ラミニン5/6の作成と機能解析
2-2-1	mRNAサベイレインス系の操作技術の展開応用
2-2-2	リン酸化特異的抗体を用いたシングル伝達のモニタリング
2-2-3	免疫及びスクリーニングに用いるリン酸化ペプチドの合成、抗体作製とスクリーニングと特異性評価
2-a-a	テロメース可溶化細胞を用いた新規機能性タンパク質の同定技術開発のコンセプト設計
2-a-b	テロメース可溶化細胞の生化学 細胞生物学的な解析

中止

↑
統合

↑
統合

フェーズ

2-1-1	動物細胞の分泌タンパク質に対する分析技術の開発と応用
2-1-2	細胞接着分子ラミニン5及び6の機能解析と応用
2-2-1	mRNAサベイレインス系の操作技術の展開応用
2-2-2	リン酸化特異的抗体を用いたシングル伝達のモニタリング
2-2-3	免疫及びスクリーニングに用いるリン酸化ペプチドの合成、抗体作製とスクリーニングと特異性評価
2-b-a	新素材プロテオマ解析技術の開発
2-b-b	新素材プロテオマ解析技術を用いたタンパク質と相互作用するタンパク質の同定法開発

テーマの変遷 2

大テーマ	中テーマ	小テーマ	実施年度									
			12	13	14	15	16	17				
テーマ1 薬候補低分子化合物とタンパク質の相互作用を網羅的かつ迅速に解析する新技術の開発	1-1 タンパク質回収フロー型自動NMR測定装置の開発	1-1-1 DNA結合タンパク質の構造解析・結合能の条件検討及びNMR新技術の検証										
		1-1-2 DNA結合タンパク質の構造解析を通じたNMR新技術の検証										
		1-1-3 フロー型NMR装置の構築技術の開発										
		1-1-4 膜受容体及び膜結合蛋白質の解析とそれに付随するNMR関連技術開発のコンセプト										
		1-1-5 細胞膜、細胞内膜への蛋白質局在機構の解析										
		1-1-6 膜受容体解析と新規NMR測定技術開発										
	テーマ2 細胞機能上重要なタンパク質を網羅的かつ迅速に同定する新技術の開発	2-1 分泌タンパク質マッピング技術の開発	2-1-1 動物細胞の分泌タンパク質に対する分析技術の開発と応用									
			2-1-a ヒトガン細胞が分泌するタンパク質の比較分析、プロテアーゼ及び細胞接着分子の再生・検出方法の検討									
			2-1-b プロテインシークエンサーによる分離タンパク質同定法の確立、ヒト表皮細胞が分泌するタンパク質のマッピング									
			2-1-c 分離タンパク質の同定技術指導と質量分析による一次構造解析									
			2-1-d 皮膚細胞の培養条件と老化、傷害モデル系の確立									
			2-1-e 細胞接着分子ラミニン5及び6の機能解析と応用									
2-2 シングル伝達モナタリ技術の開発	2-a 前駆細胞タンパク質同定技術の開発	2-2-1 二次元電気泳動法による分泌タンパク質マッピング技術の開発、組み替え型ラミニン5/6と応用性の検討										
		2-2-2 活性プロテインマッピング法の開発のための条件検討、組み替え型ラミニン5/6の作成と機能解析										
		2-2-3 mRNAサーベイランス系の操作技術の展開応用										
		2-a-a シングル伝達モナタリ技術の開発										
		2-a-b 免疫及びスクリーニングに用いるリン酸化ペプチドの合成、抗体作製とスクリーニングと特異性評価										
		2-a-b テロメラーズ可視化細胞を用いた新規機能性タンパク質の同定技術開発のコンセプト設計										
2-b プロテオーム解析技術の開発	2-b-a 新素材プロテインチップ技術の開発	2-b-a テロメラーズ可視化細胞の生化学・細胞生物学的な解析										
		2-b-b 新素材プロテインチップに固定化されたタンパク質と相互作用するタンパク質の同定法開発										