

2-2-2 研究成果

中テーマ名：シグナル伝達モニタリング技術の開発 サブテーマ名：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	
中テーマリーダー（所属、役職、氏名） 横浜市立大学大学院医学研究科 教授	大野茂男
研究従事者（所属、役職、氏名） （財）木原記念横浜生命科学振興財団	村松玲子
研究の概要、新規性及び目標	
①研究の概要 リン酸化特異抗体を用いて、細胞シグナル伝達の動態を細胞及び個体レベルでモニターする事により抗体の特異性や応用範囲を特定すると同時に、それを実際に細胞極性シグナル系やmRNAサーベイランスの応用研究に提要することを目的とした。	
②研究の独自性・新規性 細胞極性シグナル系やmRNAサーベイランスについては、組換えタンパク質、細胞株、ノックアウトマウスなどの材料を確立した世界でも有数の独自の研究基盤を有しており、これを利用してリン酸化特異的モノクローナル抗体の有用性の検証を行う点で大いに意味がある。	
③研究の目標（フェーズ毎に数値目標等をあげ、具体的に） 細胞極性を制御する普遍的なシグナル経路として見出したaPKC-PAR系及びmRNAサーベイランス系のいくつかのキータンパク質とキーとなる基質タンパク質について、リン酸化部位の特定とモノクローナル抗体の作成を進め、それを利用してシグナル伝達の作動状況を vivo でモニターすることにより、シグナル系解析の必要なツールとする。	
研究の進め方及び進捗状況（目標と対比して） 細胞極性制御因子の一つであるタンパク質リン酸化酵素、atypical PKC (aPKC) の細胞内、生体内におけるシグナル伝達をモニターすべく、その基質であるLg1に対するリン酸化抗体を作製し、これを用いて細胞内aPKCシグナル伝達の検出に成功した。また、別のaPKC基質であるEMK、PAR-3についても同様の検討を行い、新たなシグナル経路を見出すことに成功した。同様に、mRNAサーベイランス系に関しても、ナンセンスコドン認識の最重要段階でリン酸化が起きていることを最終的に証明することに成功した。	
主な成果 具体的な成果内容： 細胞極性の新規の抑制性制御因子、Lg1の発見とaPKCによるそのリン酸化制御による細胞極性複合体aPKC-PAR複合体の形成機構の解明。 細胞極性の新規の促進性制御因子PAR-1/EMKの発見と、そのaPKCによる抑制的なリン酸化制御の発見。さらに、その抑制がPAR-1/EMKの細胞内局在を制御することによる事の発見。 mRNAサーベイランス系のSURF複合体の発見。DECID複合体の発見。DECID複合体上でのSMG-1によるUPF1のリン酸化の発見。そのPP2Aによる脱リン酸化の発見。一連のリン酸化、脱リン酸化反応がナンセンスコドン認識時に起こること。それがサーベイランスの律速段階を厚生していることの発見。これを利用したサーベイランス系の特異的な抑制法の理論的根拠の確立。その抑制法の疾患細胞への適用による、疾患克服への可能性提示。	
特許件数：0	論文数：14
口頭発表件数：27	

研究成果に関する評価

1 国内外における水準との対比

細胞極性シグナル経路、mRNAサーベイランス分子機構に関して、世界でトップクラスの研究成果を上げている。

2 実用化に向けた波及効果

細胞極性シグナル経路、mRNAサーベイランス分子機構に関して、その機構の解析、操作、診断への応用などの分野において、世界をリードする地位を確立している。

残された課題と対応方針について

生きた細胞内でのリン酸化をモニターする為のツールとしてのリン酸化特異的モノクローナル抗体の確立は、未だに極めて労力のかかる作業であり画期的な進展が望まれる。残念ながら、その方策は今後の問題として残されている。

	JST負担分 (千円)							地域負担分 (千円)							合 計
	H 12	H 13	H 14	H 15	H 16	H 17	小計	H 12	H 13	H 14	H 15	H 16	H 17	小計	
人件費	1,575	22,963	22,657	16,917	10,930	2,454	77,496	0	0	0	0	0	0	0	77,496
設備費	1,729	0	0	0	0	0	1,729	0	0	0	0	0	0	0	1,729
その他研究費 (消耗品費、 材料費等)	11,267	15,621	14,764	11,505	18,767	13,194	85,118	0	0	0	0	0	0	0	85,118
旅費	0	360	581	551	75	2	1,569	0	0	0	0	0	0	0	1,569
その他	0	57	78	27	7	3	172	0	0	0	0	0	0	0	172
小 計	14,571	39,001	38,080	29,000	29,779	15,653	166,084	0	0	0	0	0	0	0	166,084

代表的な設備名と仕様 [既存 (事業開始前) の設備含む]

- JST負担による設備：
- 地域負担による設備：

※ 複数の研究課題に共通した経費については按分する