

平成15～16年度 2-3-2 研究成果

<p>中テーマ名： プロテオーム解析技術の開発 サブテーマ名： 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</p>
<p>サブテーマリーダー（所属、役職、氏名） 横浜市立大学大学院国際総合科学研究科 教授 平野 久 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 岩船裕子</p>
<p>研究の概要、新規性及び目標</p> <p>①研究の概要 タンパク質間相互作用を簡便かつ迅速に解析するため、二次元電気泳動で分離された多数のタンパク質をダイヤモンド様炭素被膜処理ステンレス基板（DLC基板）に電気泳動的に転写してプロテインチップを作製する方法を開発した。本サブテーマでは、質量分析装置を用いてDLC基板上に固定化されたタンパク質と相互作用したタンパク質を迅速に同定する方法を開発した。</p> <p>②研究の独自性・新規性 これまでのプロテインチップは、多数のタンパク質を精製し、ガラスやシリコンなどの基板に固定して作製した。本研究では、電気泳動で分離された多数のタンパク質を基板にプロットしてプロテインチップを作製する。また、質量分析装置を用いてチップ上のタンパク質を同定したりタンパク質間相互作用を解析したりする。この種の技術は開発されていなかった。</p> <p>③研究の目標（フェーズ毎に数値目標等をあげ、具体的に） プロテインチップ上のタンパク質と相互作用したタンパク質を、質量分析装置によって同定する方法の開発を行う。</p>
<p>研究の進め方及び進捗状況（目標と対比して）</p> <p>DLC基板を使ったタンパク質-ペプチド間相互作用を検出できるモデル実験系を確立した。まず、カルモジュリンに相互作用するペプチドを合成した。次に、DLC基板に固定化したカルモジュリンに合成ペプチドを作用させ、マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析装置（MALDI-TOF/MS）で測定した。その結果、カルモジュリンに相互作用したペプチドの質量シグナルを得ることができた。このことから、DLC基板上のタンパク質に相互作用したペプチドの検出が可能であることがわかった。</p>
<p>主な成果</p> <p>具体的な成果内容： カルモジュリンに相互作用するペプチドを合成し、カルモジュリン-合成ペプチドによる相互作用検出のモデル実験を行った。DLC基板に固定化したカルモジュリンに合成ペプチドを作用させ、MALDI-TOF/MSで測定したところ質量シグナルが得られた。分子量から合成ペプチドが検出されていることがわかった。この実験によって、DLC基板上でタンパク質に相互作用したペプチドを検出できることが明らかになった。</p> <p>特許件数：0 論文数：4 口頭発表件数：5</p>
<p>研究成果に関する評価</p> <p>1 国内外における水準との対比 国内外で同じ研究を行っている例はない。</p> <p>2 実用化に向けた波及効果 本研究によって、二次元電気泳動で分離された多数のタンパク質をDLC基板に電気泳動的にプロットして作製されたプロテインチップを用いて、タンパク質間相互作用を解析できることが明らかになった。今後、有用性を実証する研究が行われるであろう。また、分析の自動化を目指した研究が発展すると期待される。</p>

	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					7,055		7,055					0		0	7,055
設備費					189		189					0		0	189
その他研究費 (消耗品費、 材料費等)					8,031		8,031					0		0	8,031
旅費					56		56					0		0	56
その他					12		12					0		0	12
小 計					15,343		15,343					0		0	15,343

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 :