

サブテーマ名：マウス長鎖cDNAがコードする蛋白質に対する抗体作製技術の開発及びその作製・評価 小テーマ名：サブテーマ2の4 蛋白質の発現法および精製法のハイスループット化のための自動処理装置の開発
サブテーマリーダー（所属、役職、氏名）千葉県産業振興センター（研究員）原 康洋 小テーマリーダー（所属、役職、氏名）東京農工大学工学部（助教授）養王田 正文 研究従事者（所属、役職、氏名）東京農工大学工学部、（共同研究員）養王田 正文
研究の概要、新規性及び目標 ①研究の概要 機構分研究開発（テーマ2、サブテーマ1）において、マウス長鎖cDNAがコードするタンパク質を大腸菌で発現精製し、ウサギに免疫して抗血清を作製している。本テーマは、大腸菌で発現する組換えタンパク質精製のハイスループット化のための技術開発を行い、研究成果を早期に機構分研究開発に導入することである。 ②研究の独自性・新規性 本テーマ自体には新規性や独自性は低い、国内外を問わず本事業と同様なコンセプトを持つプロジェクトは実施されていない本共同研究開発事業を実施し成果を得るためのツールの取得、開発は重要である。 ③研究の目標（各フェーズ毎に数値目標等をあげ、具体的に） （フェーズⅠ）機構分研究開発（テーマ2、サブテーマ1）の支援を第一の目標とした。機構分で年間400種の抗体作製のための抗原の発現と精製目標としたため、平成13年度は、早期に方法論を提案・反映するために既存のタンパク質の精製方法、精製装置の調査を行った。平成14年度はその結果にもとづき、ヒスチジンタグ融合組換えタンパク質およびGST融合組換えタンパク質の自動精製装置による精製の検討を試みた。 （フェーズⅡ）取得した抗体は、創薬研究用及び遺伝子解析等の基礎研究用ツールとして早期に順次商品化することを目指す。また、精製抗体によるプロテインチップの開発を行う。 （フェーズⅢ）取得した抗体やいいプロテインチップを創薬研究用及び遺伝子解析等の基礎研究用ツールとして提供するビジネスを継続する。
研究の進め方及び進捗状況（目標と対比して） 組換え抗原はHisタグ融合タンパク質として発現される可能性が高いことから、Niキレート磁性ビーズに基づく自動精製装置による精製の検討を試みた。プレシジョン・システム・サイエンス（PSS）社の精製装置を用い、ヒトKIAAクローン由来の組換えタンパク質（GST-エピトープ-Histag）をモデルとした。可溶化発現された組換えタンパク質、8M尿素で変性可溶化したタンパク質とも、抗原タンパク質として使用できる回収率ならびに純度が得られた。また、本装置で低コスト精製方法とハイスループットな精製方法の開発を行った。 GST融合組換えタンパク質を、グルタチオン磁性ビーズ（東洋紡製）による精製方法の開発を行ったが、吸着容量・回収率が低く市販の磁性ビーズによる精製は困難であると結論した。 本テーマは、テーマ2、サブテーマ1の支援を第一の目標とした。サブテーマ1（機構分研究開発）では、GST融合タンパク質として大腸菌で発現し、可溶化物はグルタチオンビーズによるバッチ法精製、不溶化物はゲル精製を公定法としたため、平成15年度以降は本テーマをペンディングとした。
主な成果 具体的な成果内容： 特許件数：0 論文数：0 口頭発表件数：0
研究成果に関する評価 1 国内外における水準との対比 国内外を問わず、本事業と同様なコンセプトを持つプロジェクトは実施されていない。抗体は蛋白質解析ツールとして重要であり、組換え蛋白質に特異的な抗体は遺伝子と蛋白質をつなぐツールとなる。また、抗体チップや抗体アレイはプロテオーム解析や診断薬・治療薬の開発に重要なツールとなってくると期待されている。従って、高品質の抗体を保有することは、ポストゲノム研究として重要なプロテオーム研究をより発展させる研究用ツールを担うと期待される。 2 実用化に向けた波及効果 本事業で取得を予定している2,000種のマウス長鎖cDNAを基にした2,000種の精製抗体という高付加価値のゲノム創薬やバイオ基礎研究のツールを研究者に提供できるようになる。その他の遺伝子資源（動物、植物

、微生物)についても本コンセプトを適用し、バイオテクノロジー産業、製薬産業の研究加速と進展が期待できる。これにより、バイオテクノロジー産業全般への効果、あるいは、疾病の治療や予防に結びつく新薬、臨床検査薬、新しい治療法の開発に結びつけば、国民の健康や医療経済面への効果が期待できる。

今後の課題と研究開発方針について

効率的なポリクローナル抗体作製のための支援として当初の目標を達成した。しかし、抗体の作製には手間、時間、コストがかかるため、今後、「ハイスループットな抗原・抗体作製技術の開発」は重要になってくる。

	J S T負担分 (千円)							地域負担分 (千円)							合 計
	H 13	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	小 計	H 13	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	小 計	
人件費															
設備費															
その他研究費 (消耗品費、 材料費等)								499	495						994
旅費															
その他															
小 計								499	495						994

代表的な設備名と仕様 [既存 (事業開始前) の設備含む]

J S T負担による設備 : なし

地域負担による設備 : 全自動たんぱく精製装置など

※ 複数の研究課題に共通した経費については按分す