

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： 抗体評価技術の開発
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、島田 希代 小サブテーマリーダー（所属、役職、氏名）国立精神・神経センター神経研究所（微細構造研究部長）湯浅茂樹
研究従事者（所属、役職、氏名）国立精神・神経センター神経研究所（微細構造研究部長）湯浅茂樹
<p>研究の概要、新規性及び目標</p> <p>①研究の概要</p> <p>ヒトKIAA遺伝子に相同性を有するマウス遺伝子cDNAをもとに作られた、各遺伝子産物蛋白質に対する抗体の評価技術を開発し、これをもとにして抗体の性能評価と実用性の検討をおこなった。</p> <p>②研究の独自性・新規性</p> <p>これまでマウス遺伝子cDNAのデータベースは作られているが、脳内長鎖cDNAに重点を置いて、各cDNAに対応する抗体を系統的、網羅的に作成する本プロジェクトは世界で初めてのものである。遺伝子塩基配列の情報のみでは遺伝子機能解析への貢献度はそれほど高くないが、本プロジェクトにおける遺伝子産物に対する抗体作成は、遺伝子産物の発現と局在をもとにした幅広いポストゲノムの機能解析を可能にするものである。しかしながら網羅的に抗体の質をチェックすることは最も重要は過程である反面、時間・経費そして労力を取られる作業である。この過程に新技術を導入し抗体の評価を加速させることはプロジェクトとして極めて重要であるばかりでなく、網羅的抗体作製自体が新規な試みであると同様全く新しい試みである。さらにアウトプットとしての免疫組織化学の画像データベースは、抗体の商品化に際して高い付加価値を有すると考えられる。</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）</p> <p>フェーズⅠ（H13-H15）：脳を中心として免疫組織化学的手法を用いた新たな抗体評価技術を開発し、抗マウスKIAAポリクローン抗体に応用した。フェーズⅠで作製される抗体を用いて、抗体の評価を行うとともに評価系の更なる改良も行った。</p> <p>フェーズⅡ（H16-H18）：確立した抗体評価技術を用いて作成される抗体の性能評価を継続して行なうとともに、mKIAAの脳内発現様式の電子画像ファイルを加えたデータベース作成を行ない、抗体商品化の基盤を形成した。電子画像取込みの迅速化のため、赤外線イメージングシステム(Odyssey)を導入した。</p> <p>フェーズⅢ（H18、11.25事業完了日以降）：抗体を用いた免疫染色技術を神経系培養細胞系に敷衍し、in vitroの発現制御、機能解析システムを構築して、ゲノム創薬のためのアッセイ系を構築する。</p>
<p>研究の進め方及び進捗状況（目標と対比して）</p> <p>現在までに目標は達成し、高感度でかつ高い効率と簡便性を備えた免疫組織染色法による抗体評価技術を確立し、作成された抗体の評価を順次行って、その9割以上が標準的な希釈倍率で免疫組織染色に使用できることを確認した。典型的な組織標本については顕微鏡画像の電子ファイルを作成し、データベース作成を行った。更に抗体の一部については、免疫電子顕微鏡技術による抗原局在観察が可能なこと、培養神経系腫瘍細胞の免疫細胞化学的解析にも応用可能なことを明らかにした。</p>
<p>主な成果</p> <p>具体的な成果内容：プロジェクト基本計画に基づく年間数値目標並びに技術目標を達成した。 特許件数：0                      論文数：9                      口頭発表件数：11（海外1）</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</p> <p>我々の開発した網羅的抗体評価系は、網羅的抗体作製同様他に類を見ない試みである。さらにアウトプットとしての抗体を用いた遺伝子産物レベルでのポストゲノム機能解析、特に網羅的に作製した抗体を用いた脳内マッピングは、今まで誰も手をつけたことのない領域で、遺伝子発現様式に関する情報をも含めたデータベースとしての価値は極めて高い。</p> <p>2 実用化に向けた波及効果</p> <p>抗体評価技術の開発をもとにして得られた各抗体に関する脳内発現様式の画像データは、ポストゲノム機能解析の基盤として、抗体商品化における付加価値を非常に高めるものである。</p>

残された課題と対応方針について

免疫染色作業と画像取込みの迅速化には更なる工夫を要する。免疫組織染色による遺伝子産物の局在パターンに関する情報は電子画像として系統的に作成、保存してデータベース化することにより、ポストゲノムの機能解析における実用化促進に今後益々有用な資産となるため、整備充実することが必要であろう。更にmKIAAの神経系腫瘍細胞を中心としたin vitroの系での発現制御や機能解析のデータを構築することにより、創薬の基盤としての脳内遺伝子機能解析システムを作り出す必要がある。

	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											1,000			1,000	1,000
設備費															
その他研究費 (消耗品費、 材料費等)								535	2,627	2,611	1,500	3,532	1,386	12,191	12,191
旅費															
その他															
小 計								535	2,627	2,611	2,500	3,532	1,386	13,191	13,191

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：電子顕微鏡 FEI Tecnai G2, Hitachi H-600  
 共焦点レーザー顕微鏡 Zeiss LSM5 PASCAL  
 レーザーマイクロダイセクションシステム Leica AS LMD  
 クリオスタット Leica CM3050, マイクロスライサーDTK-3000

※ 複数の研究課題に共通した経費については按分する。