

<p>サブテーマ名：遺伝子資源の有効利用（B-2） ※本事業では平成18年5月まで実施 小テーマ名：タンパク質脱リン酸化酵素（PP2A）の大量生産と利用開発</p>
<p>サブテーマリーダー 池原 強（TTC） 研究従事者 池原 強、新城 富喜子、池原 さつき、今村 志穂子（TTC）</p>
<p>研究の概要、新規性及び目標</p> <p>① 研究の概要 近年、熱帯から温帯海域や湖沼群に生息するプランクトンが毒化、海産二枚貝に蓄積し、世界各地で被害が拡大している。これらの被害を最小限に止めるためにも、迅速で感度の高い毒検出キットの開発に対する要望が国内外から高い。これらの毒の原因物質の阻害対象物質がタンパク質脱リン酸化酵素（PP2A）であることから、ヒト PP2A（プロテインホスファターゼ2 A型酵素）を組換えタンパクとして遺伝子工学的手法を用いて製造する方法の確立を目指した。</p> <p>② 研究の独自性・新規性 動物組織から調製されている本酵素を、遺伝子工学的手法を用いて生産することによって大量生産、安定供給、純度向上を可能にし、それによって需要拡大が可能となる。</p> <p>③ 研究の目標 フェーズⅠ：組み換え蛋白発現系及び精製方法の確立 フェーズⅡ：大量生産技術の確立、商品化へ向けた利用技術開発</p>
<p>研究の進め方及び進捗状況（目標と対比して） 組換え蛋白発現系としてバキュロウイルスー昆虫培養細胞発現系を利用することによって酵素活性を有する目的タンパクの発現、精製が可能となった。</p>
<p>主な成果 1 L規模の細胞培養から約200ユニットのPP2Aを精製することに成功した。また、ヘテロ二量体（触媒サブユニットとAサブユニット）を形成している市販の酵素と同様に、二量体を形成した酵素、及び触媒サブユニットのみの酵素の2種類の形態で目的酵素を調製した。</p> <p>特許出願件数：4（国内2、国外2） 論文数：2 口頭発表件数：9</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 組換え蛋白としてのPP2Aは酵母やバキュロウイルス発現系を利用した報告例がこれまでに数件あるが実用化に至っていない。今回我々が確立した系は、精製方法が従来法に比べ簡便で、かつ、目的酵素を二量体及び触媒サブユニット単独のいずれの形態でも精製が可能で優れている。</p> <p>2 実用化に向けた波及効果 開発したPP2Aは市販品より純度・価格において優れた競争力を持つ。安定性が高く、活性を有する酵素を安定供給することにより実用化への展開が促進される。試薬として単独に販売するのみならず、各種の測定キットに組み込んで付加価値を増すことも可能である。</p>
<p>残された課題と対応方針について 目的とした酵素タンパク（PP2A）の発現、精製技術はほぼ確立され、大量生産へ向けての準備が整った。今後は大量生産を行い、得られた酵素の構造や機能の解明を行って、付加価値の高度化を図る。</p>

	J S T負担分 (千円)							地域負担分 (千円)							合計
	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	H 19	小計	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	H 19	小計	
人件費	225	13,128	17,137	25,362	3,602	0	59,454	453	3,890	3,180	645	3,845	0	12,013	71,467
設備費	4,597	10,008	3,800	1,510	0	0	19,915	0	300	338	796	0	0	1,434	21,349
その他研究 費(消耗品費 、材料費等)	850	7,468	3,941	6,880	804	0	19,943	0	2,042	3,710	6,102	2,134	0	13,988	33,931
旅費	0	348	566	1,279	470	0	2,663	0	200	200	180	308	0	888	3,551
その他	0	860	916	1,671	1,517	0	4,964	0	0	0	22	93	0	115	5,079
小 計	5,671	31,812	26,360	36,702	6,393	0	106,938	453	6,432	7,428	7,745	6,380	0	28,438	135,376

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 : 恒温振とう培養機、微量高速冷却遠心機、ルミノ・イメージアナライザー、  
細胞計数分析装置Z1S型、マイクロキャリア-マグネティックスターラー、  
グランジェント・マスター、メディカルフリーザー、ロータ

地域負担による設備 : DNAシーケンサー、バイオアナライザー、TOF-質量分析装置