

## 製剤機能解析学

教授：石濱 泰 准教授：杉山 直幸  
 助教：張 心儀 特定助教：吉沢 明康



## 研究概要

製剤機能解析学分野は、分析科学を基軸とし、生体構成分子の計測を通じて細胞や分子の機能を解明することを標榜しています。中でも、質量分析、微量分離分析、計算科学や細胞生物学等を駆使したプロテオーム解析の方法論開発やそれに基づく細胞機能解析や医薬品開発への応用などに挑戦しています。具体的には、以下の5つの項目について研究を行っています。

- 1) プロテオミクス新規計測技術の開発
- 2) ヒトプロテオーム一斉定量分析に基づく細胞機能解析
- 3) 細胞内リン酸化ネットワークの解明
- 4) 微量組織試料の大規模定量解析と臨床プロテオミクスへの展開
- 5) プロテオミクス技術を用いた分子標的創薬に関する研究

プロテオーム研究は、ゲノムや遺伝子研究とは違い、いまだに計測技術がボトルネックとなっており、細胞内で発現しているタンパク質のすべてをまとめて計測することができていません。また、プロテオーム研究の対象となる(1)タンパク質の発現、(2)タンパク質の局在、(3)タンパク質間相互作用、(4)タンパク質の翻訳後修飾・プロセッシング・スプライシングといったことについても、計測技術的な課題がバリアとなり、十分に研究が進んでいません。私達は、これらの計測技術的な課題に取り組むとともに、新技術開発で拓かれた分野につ

ては生物学的な展開までやりきることを目標にしています。

新規計測技術として、複雑でダイナミックレンジの広い試料を究極の分離分析法でオンライン分離しながら質量分析計で測定し、独自のデータ処理システムで解析するシステムの開発に取り組んでいます。具体的には、ガスクロマトグラフィーで用いるようなメートル長のキャピラリーカラム(理論段数1,000,000段を超える世界最高性能の液体クロマトグラフィー用カラム)を研究室内で作製し、この超高分離能システムを用いて細胞内で発現している全タンパク質の一斉分析を行っています(図1)。すでに大腸菌などの生物では発現している全タンパク質の一斉分析が可能になっており、ヒトなどの高等生物のプロテオーム解析への展開も進んでいます。また定量解析や高感度化のための技術開発も行っています。さらに全世界で取得されたプロテオームデータを集積し、それを独自の手法で再解析し、情報学的に新しい知見を抽出することにも挑戦しています。

さて、細胞内シグナル伝達ネットワークにおいて、キナーゼやホスファターゼによる可逆的リン酸化修飾反応は中心的な役割を果たしています。私達は、独自のリン酸化ペプチド濃縮法を開発し、リン酸化プロテオーム解析に応用してきました。その結果、ヒトタンパク質のほとんどがリン酸化修飾をうけていることが分かってきました。現在はそれらの責任キナーゼやホスファターゼが何なのか、細胞内のリン酸化ネットワークはどのように構成されているかを実験的および計算科学的手法を用いて解明することが次の課題となっています。

細胞内シグナル異常に基づく様々な疾病のうち、特にがんは我が国の死亡率第1位を占めています。私達が開発したリン酸化プロテオミクスシステムをがん分子標的薬の*in vivo*プロファイリングに応用し創薬支援ツールとして開発するとともに、様々な疾病におけるリン酸化異常をスクリーニングするシステムとしての応用研究も展開中です。さらに、新規に見つかった機能未知のリン酸化タンパク質のシグナル伝達ネットワーク解析も行っています。また、リン酸化修飾に加え、他の翻訳後修飾プロテオミクスについてもその測定システムを開発中です。

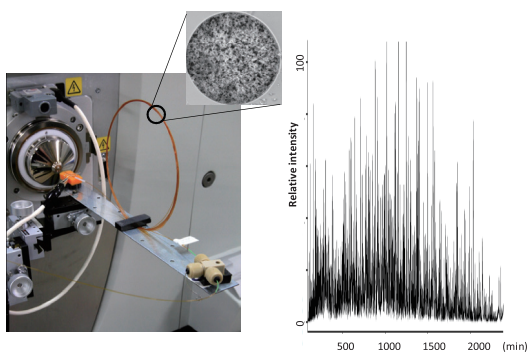


図1 NanoLC-MSによるプロテオーム一斉解析例  
 左：3.5メートル長の自作カラムを用いた nanoLC-MS システム。  
 右：大腸菌タンパク質一斉解析におけるトータルイオンカレントクロマトグラム。マイクロアレイ規模でのタンパク質同定が可能となった。

## 主要論文

- Okuda et al., jPOSTrepo: An International Standard Data Repository for Proteomes. *Nucleic Acids Res.* **45** (D1), D1107-11, 2017.
- Tsai et al., Large-scale determination of absolute phosphorylation stoichiometries in human cells by motif-targeting quantitative proteomics. *Nat. Commun.*, **6**, 6622, 2015.
- Yamana et al., Rapid and deep profiling of human induced pluripotent stem cell proteome by one-shot nanoLC-MS/MS analysis with meter-scale monolithic silica columns. *J. Proteome Res.* **12**, 214-21, 2013.
- Imami et al., Temporal profiling of lapatinib-suppressed phosphorylation signals in EGFR/HER2 pathways. *Mol. Cell. Proteomics* **11**, 1741-57, 2012.