

学会報告

BMB2008 開催報告

第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会



2008年12月、兵庫県神戸市でBMB2008が開催されました。前年に引き続き、日本分子生物学会と日本生化学会の合同開催となった本大会には、終日多くの参加者が来場し、活発な意見交換が行われました。本コーナーでは、編集部が本大会の取材を通して発見した動向をレポートしています。また、バイオテクノロジーセミナーの共催企業に協賛いただき、本大会で報告された最新技術をご紹介いただきました。

(編集部)

<編集部レポート>

BMB2008から見た生命科学の動向 566

<協賛企業記事>

アプライドバイオシステムズジャパン株式会社

..... 570

株式会社セラバリューズ 574

〈編集部レポート〉

BMB2008から見た生命科学の動向
—複雑化・多角化するバイオサイエンス研究

はじめに

第一線の研究成果が集約した学術集会は、学会員のみならず多くの参加者に貴重な機会をもたらす場となっている。私ども編集部も、現場で活躍される多くの方々にお目にかかるために、2008年もさまざまな学術集会を取材してきた。2008年12月、兵庫県神戸市で「第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会（BMB2008）」が開催された。本稿では、BMB2008の取材を通じて編集部員が発見したバイオサイエンス研究の動向を、「実験医学」の編集者という目線から紹介したい。

生命科学の礎を築く両学会

日本生化学会は1925年、当時の東京帝国大学医学部生化学教室教授であられた故 柿内三郎博士のもと創立された。創立後の1930年代には、Warburg博士による呼吸酵素、Krebs博士によるTCAサイクルという偉大な発見が相次ぎ、世界的に代謝と酵素の時代を迎えた。

といった、生化学の進展が多くの生命現象の解明に繋がる中、日本生化学会もまた日本の生命科学の礎を築き続けてきた。

日本分子生物学会は1978年に創立された。1953年のWatson・Crick両博士のDNA二重らせん構造の提唱以降、世界的に核酸や遺伝情報を解明する「分子生物学」が台頭していた。日本においても、当時の慶應義塾大学医学部分子生物学研究室教授であられた故 渡辺格博士の呼びかけのもと「分子生物学シンポジウム」が発足し、1978年には約600名の学会としてスタートを切った。

大規模開催となったBMB2008

両学会の長年の歴史と功績を受け継ぎ、2008年12月9～12日、神戸ポートアイランドにて「第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会（BMB2008）」が開催された。2007年に引き続き、2008年も日本分子生物学会と日本生化学会の合同開催

となった。「ライフサイエンスの爆発的な進展に伴って、研究者は色々な分野の研究を行わなければいけない状況となりました。サイエンスではしばしば、他分野の友人との交流からいきなり研究が進むことがあります。本会ではそのような活発な議論が展開される場を目指して、両学会と何度も話し合いを重ね、合同開催を決定しました」と、長田重一・分子生物学会年会長と大隅良典・生化学会会頭は語る。

4日間の総参加者数は11,126名（事務局調べ）。プレナリーレクチャー4演題、シンポジウム100テーマ・約650演題、一般口頭発表約1,000演題、ポスター発表約5,700演題という多数の発表が4日間の期間内で行われた。常設する展示会場では約240の企業や機関がブースを出し、また、38演題のバイオテクノロジーセミナーは午前中に整理券がすべて終了するという盛況ぶりだった。

会場内には、例年以上の多くの参加者が集っていた。特にポスター会場や展示会場では、若手研究者が白熱したディスカッションを交わし、時には学会企画のイベントやくじ引きに参加して歓声をあげるなど、場内はいつないエネルギーに溢れていた。

既存の概念を覆す困難さと研究の醍醐味

BMB2008の中で感銘を受けた企画として、4名の偉大な科学者のプレナリーレクチャーを挙げたい。2001年ノーベル医学生理学賞受賞者で細胞周期研究の礎を築いたPaul Nurse博士、IL-6の発見者である岸本忠三博士、分子シャペロン研究の立役者であるF. Ulrich Hartl博士、そして2004年ノーベル化学賞受賞者でユビキチン仮説の提唱に貢献したAaron Ciechanover博士である。

私はHartl博士とCiechanover博士の講演を拝聴する機会を得た。Hartl博士は1989年にミトコンドリアでのタンパク質折りたたみにhsp60とATP加水分解が重要な働きを示すことを発見し、当時信じられていた「タンパク質は自然に折りたたまれる」という定説を覆してシャペロンの概念を裏付けたという。Ciechanover博士は、同じく2004年ノーベル化学賞受賞者のAvram Hershko博士とともに、1978年にATP依存性タンパク質分解のメカニズムを解明した。それまで、タンパク質分解にエネルギーは必要ないという世界観が強く根付き、新しい概念は受け入れられなかつた。しかし

Ciechanover博士とHershko博士の発見によりパラダイムシフトが起こり、現在のユビキチン-プロテアソーム系へと繋がったという。今まであれば当然のように認識されている概念も、当時は定説に反するものだった。既存概念を覆す困難は、並々ならぬものだっただろう。信念に従って研究を進め、その後の科学の発展に貢献した両博士の言葉は力強かった。現在、両博士は各メカニズムをターゲットとした創薬開発も進めており、新たな道を切り拓く活力に漲っておられたことも印象深かった。

より複雑な生命現象の解明へ

4日間にわたるBMB2008では、分子生物学と生化学の幅広い分野から、多数の研究成果が紹介された。私ども編集部はできるだけすべての講演会場を回り、各研究分野の動向を肌で感じるよう努めた。ページの都合上、これらを詳細に報告することはできないが、全体を通して感じた傾向を紹介できればと思う。

まずBMB2008の会場内で最も多くの聴衆が足を運んでいたのは、幹細胞研究の演題である。シンポジウム「多能性幹細胞を規定する因子群—臨床応用を見据えて—」では、ES細胞とiPS細胞の多能性の維持と誘導を司る因子を軸に、ES細胞・iPS細胞双方の相違点が議論された。また、シンポジウム「組織幹細胞とニッシェ」では、組織幹細胞の多分化能とそれを支える外部環境の新たな研究成果が報告された。

細胞核内の遺伝情報発現機構とクロマチン・染色体構造の研究成果に多くの聴衆が聞き入っていたことにも着目したい。ゲノム情報が整備され、エピジェネティクスや機能性RNAなどの後天的な制御機構が急速に解明されている。全ての生命現象の根幹を担うこれらの研究の重要性は、今後も裾野が広がって行くだろう。

また、脂質や糖鎖などの生化学的な研究テーマに注目が集まっていたのも、本会の特徴的な傾向だろう。脂質は生体膜の構成成分であると共に、細胞内外の情報伝達に重要な因子であることが近年明らかになってきた。内分泌・代謝系の疾患との強い関連性も議論され、医学的な面での重要性も高まっている。糖鎖もまた細胞機能や疾患にかかわる新たな知見が報告され、現在は創薬開発の場面でも重要な役割を果たしている。

本会の全体を通して編集部が強く感じたのは、バイオサイエンス研究がより複雑な生命システムの解明に

移行していることであった。例えば癌研究では、癌細胞の微小環境や転移といった生体レベルの理解へと進んでおり、また癌幹細胞に代表されるように多分野との研究の距離が接近している。老化は複雑な全身の代謝ネットワークで制御されている。免疫システムは、癌抑制や骨形成に密接に関わっている。今後は、研究分野を超えた多角的な視点が、バイオサイエンス研究に必須となっていくのだろう。

研究を支えるテクノロジー

生命の複雑系をひも解くために必要不可欠なのは、膨大な情報を解析するテクノロジーと言える。BMB2008のシンポジウム・一般口頭発表の中でもテクノロジーベースの演題は多数設けられ、超高速シーケンサーやシステムバイオロジーの演題では、立席にも関わらず多くの聴衆が熱心に聞き入っていた。また、企業共催のバイオテクノロジーセミナーでは、各社が開発した最新の解析ツールを積極的に紹介していた。

次世代を切り開く革新的な新技術として超高速シーケンサーが高い注目を浴びているが、染色体ダイナミクスの解明（アプライドバイオシステムズ ジャパン株式会社協賛記事参照）や幹細胞研究など、実際の生命科学での成果が報告されはじめ、その実用性は急速に浸透している。さらにBMB2008のシンポジウム「超高速シーケンサーとバイオインフォマティクス」では、本邦初となるPacific Bioscience社の講演が多くの研究者の注目を集めていた。今後の技術革新は、さらに加速度を増していくだろう。

生命システムの全体像を見極めるためには、さまざまな因子の性状を理解する必要がある。特に理解が難しいと言われる膜タンパク質や核内受容体（株式会社セラバリューズ協賛記事参照）、代謝物質、そして糖鎖やリン酸化（アプライドバイオシステムズ ジャパン株式会社協賛記事参照）などの修飾の解析は、生命科学のみならず医学・創薬の研究でも重要な役割を担いつつある。各社はそれぞれの研究用途に応じて、最適な解析技術とサービスの完備を進めている。

また、研究に必要不可欠なもう1つの要素として、生物材料が挙げられる。BMB2008では、「ナショナルバイオリソースプロジェクト（NBRP）」の特別企画が開催され、2007年から文部科学省が5年計画で実施した第2期NBRPの成果と研究開発目標が紹介された。

表1 BMB2008で受賞講演が行われた各賞受賞者（敬称略）

第6回日本分子生物学会三菱化学奨励賞

- 鈴木 勉（東京大学）
「RNA修飾の生合成と機能に関する研究」
- 富田耕造（産業技術総合研究所）
「鉄型非依存のRNA合成酵素の進化・分子機構に関する研究」

第3回柿内三郎記念賞

- 加藤茂明（東京大学）
「核内受容体転写共役因子複合体群の生化学的解析」

平成20年度日本生化学会奨励賞

- 川根公樹（京都大学）
「DNA分解酵素の生理作用の解析」
- 山内淳司（国立成育医療センター／東京工業大学）
「末梢神経ミエリン形成を司るシグナル伝達経路」
- 勾坂敏朗（神戸大学）
「小胞輸送による神経軸索形成機構」
- 佐藤 健（群馬大学）
「膜タンパク質の小胞体局在化メカニズムの解明」
- 山田康之（立教大学）
「ATP合成酵素の活性調節におけるεサブユニットの役割」

日本生化学会平成20年度JB論文賞

- 受賞者は生化学会HPを参照
(<http://www.jbsoc.or.jp/index.html>)

その一方で、日常的な実験を手助けするキットや試薬の改良も進んでいる。BMB2008の展示会場では、ウェスタン・プロットを短時間で行うことができる試薬、組換えが短時間で出来るキットなど手軽かつ簡便なツールが紹介され、多くの若手研究者の関心を引いていた。

独創的で着実な研究を支援する

両学会には、革新的な研究に与えられる賞がいくつか設けられており、BMB2008の会場にて各賞の受賞記念講演が開催された（表1）。

「日本分子生物学三菱化学奨励賞」は、日本分子生物学会初の賞として2003年に創設された。毎年、分子生物学の進歩に寄与する独創的・革新的研究者数名に贈られ、2008年には第6回を迎えていた。

日本生化学会は、2006年に創設された「柿内三郎記念賞」、ならびに若手研究者を対象とした「奨励賞」と「JB論文賞」を設けている。BMB2008の受賞記念講演では、第3回柿内三郎記念賞を受賞した加藤茂明博士が、自身の転写複合体研究の経緯と現在の最新知見を

表2 BMB2008会期中に開催された特別プログラム

- フォーラム
「生命科学における科学情報の共有のあり方」
- フォーラム「バイオ系博士の活躍する道とは?」
- 日本分子生物学会 若手教育シンポジウム
「今こそ示そう科学者の良心2008」
(主催:日本分子生物学会)
- 男女共同参画企画ランチョンワークショップ
「進化していく男女共同参画」
(世話人:BMB2008男女共同参画WG)
- 生化学若い研究者の会 創立50周年記念シンポジウム
「生化若手と生命科学」
(主催:生化学若い研究者の会, 生化若手OB有志)

紹介した。加藤博士によると、10数年前までは転写複合体という概念は存在しなかったという。新たな概念が打ち立てられた後の進展のスピードは、目を見張るばかりである。また奨励賞受賞記念講演では5名の受賞者が、研究の中で苦しかったことや達成した時の喜びを、自身の言葉で率直に紹介した。座長の一人である竹縄忠臣博士の「10年やると面白くなるのがサイエンス」という言葉が、強く印象に残っている。

若手育成を目指した試み

また、BMB2008の会場では、研究成果の発表だけではなく、若手研究者に向けたメッセージ性の高い企画も行われた(表2)。いずれのテーマも、現在のバイオサイエンス研究の現場で重要な課題である。

日本分子生物学会主催の「今こそ示そう科学者の良心2008」では、2007年の年会に引き続き「若手教育問題ワーキンググループ(WG)」を中心としたパネルディスカッション、そして今回は新たに「論文調査WG」の調査結果が報告された。夕方6時から始まったシンポジウムには多くの若手研究者が集まり、終了時間を30分以上延長しての真剣な討論が交わされていた。

生化学若い研究者の会は、1958年に発足し、2008年で創立50周年を迎えた。毎年「夏の学校」を開催して多くの若手研究者の交流の場を設けており、2008年からは「Merck Award for Young Biochemistry Researcher」の授賞式も行われている。BMB2008の会場においても、創立50周年を記念したシンポジウムと祝賀会が開催され、多数の関係者が集まった。

「若い人は最近、サイエンスに残りにくくなっています。学会としても、若い人の参加が増えることは非常

表3 今後の大会・年会の開催予定

- 第82回日本生化学会大会
2009年10月21~24日 神戸ポートアイランド
会頭:西田栄介
- 第32回日本分子生物学会年会
2009年12月9~12日 パシフィコ横浜
年会長:小原雄治
- 第33回日本分子生物学会年会・
第83回日本生化学会大会合同大会(BMB2010)
2010年12月7~10日 神戸ポートアイランド
日本分子生物学会年会長:谷口維紹
日本生化学会会頭:田中啓二

に嬉しいことです」との大隅会頭の言葉は、これらの企画に反映されているように感じた。

未来へつながる生化学と分子生物学

「私どもの役目はこれで終わりますが、今後の学会の継続には皆さんのフィードバックが不可欠です」と、BMB2008の懇親会場で長田年会長は言葉をしめくつた。BMB2008の成功を受け継ぎ、両学会は2009年以降へと託される(表3)。

第82回日本生化学会大会は、西田栄介会頭のもと10月に神戸で開催される。「若い力で切り拓く未来の生化学」をテーマとして、若手の研究者を中心的に積極的な討論を行う場を目指している。日本語での議論を充実させるとともに、学生・学位取得後5年以内の人を対象に、「日本生化学会大会 優秀プレゼンテーション賞」が約100件授与されるという試みも企画されている。

第32回日本分子生物学会年会は、小原雄治会頭のもと12月に横浜で開催される。「分子生物学会年会の原点に戻る」というスローガンのもと、ポスター会場での発表を重視し、「議論する場」を目指した年会運営が計画されている。また国際性の向上を目的として、シンポジウムの要旨・講演は英語で統一し、外国人講演者を積極的に招聘する予定である。

本大会後の2009年1月、斬新なアイディアや創造性に富んだ研究に対する支援策として、文部科学省の科学研究費のもと「大挑戦研究枠」の創設が発表された。基礎研究基盤に新しい変革の波が訪れているなか、研究の礎を担い続けてきた両学会の果たす役割は大きい。今後の発展と動向を注目していきたい。

(編集部 一戸敦子)

BMB2008バイオテクノロジーセミナー報告

網羅的リン酸化解析を可能にする 夢の質量分析テクノロジー

第一演者：京都大学大学院生命科学研究科シグナル伝達分野 宮田愛彦

第二演者：九州大学生体防御医学研究所分子発現制御学分野 松本雅記

ポストゲノムの時代を迎え、トランスクリプトームやプロテオームなどのオミクス研究が盛んに行われるようになった。オミクス研究のなかで、リン酸化を介したシグナル伝達カスケードの解析は極めて重要な分野であることは周知の事実である。そこで、本記事では、BMB2008で発表されたリン酸化プロテオーム大規模定量解析に大きな力を発揮するiTRAQ®Reagentsを用いた研究を2例紹介する（なお、iTRAQ®Reagentsを用いた網羅的なリン酸化ペプチドの変動解析方法は松本氏が開発されたものである）。

シグナル伝達キナーゼ複合体の網羅的 リン酸化プロテオーム解析

第一演者：宮田愛彦

宮田氏が研究を進めているDYRKファミリーは、MAPKに構造上近縁なキナーゼファミリーである。ファミリーとして5つの因子が見つかっているが、どれも具体的な機能はよくわかっていない。そのなかの1つ、DYRK1A遺伝子はヒトの21番染色体のダウン症責任領域に存在していて、トリソミーになると発現が上昇するため、ダウン症の原因の1つと考えられている。そのため、特にDYRK1Aの上流と下流、つまりDYRK1Aが何によって制御され、何をリン酸化しているのかを解析することが重要な課題となっている。

「まず、DYRK1Aを免疫沈降して、細胞内の結合タンパク質を調べることにしました。すると、非常に保存性の高い機能未知の40kDaのタンパク質が見つかり、それをDYRK-BP（DYRK1A結合タンパク質）と名付けました」と宮田氏は切り出した。結合タンパク質を知ることは、上流の制御因子や下流の因子を同定するために必要な実験である。この段階で、宮田氏はDYRK-BPがアダプタータンパク質である可能性を考えていたようだ。

「次に、DYRK-BPに結合するタンパク質のなかで、リン酸化されているものを網羅的に解析すれば、DYRK1Aキナーゼの機能がわかるのではないかと考え、リン酸化プロテオーム解析を行うことにしました。そのために、操作が簡便で感度の高い解析ができるアプライドバイオシステムズ社のiTRAQ®Reagents (isobaric tag for relative and absolute quantitation reagents)と質量分析システム（図）



左から宮田氏、松本氏

を用いました」と宮田氏。iTRAQ®Reagentsはタンパク質を非特異的にラベルして、複数サンプル中の各種タンパク質の増減を網羅的に解析できる試薬である。この試薬を用いたシステムは、一度の実験でリン酸化ペプチドとそのリン酸化サイトを同時に解析することができる。宮田氏の研究でも、免疫沈降産物30～50μgを用いて行った一度の実験で、約250のタンパク質について3,000ほどのリン酸化サイトを同定している。しかも、それらのかなりの部分が新規のサイトであったという。さらに、質量分析によりDYRK-BPに結合していると考えられたタンパク質には、分子シャペロン・細胞骨格などの他に、転写因子・キナーゼなど、細胞内シグナル伝達に関与するものが多数あることがわかり、全体の3分の1が機能未知のものだったのである。また、そのなかでも量の多かったTCP1/CCTとMEKK1について、共免疫沈降実験によりDYRK-BPと結合することが確認され、同社のシステムが効果的に機能することが確かめられている。

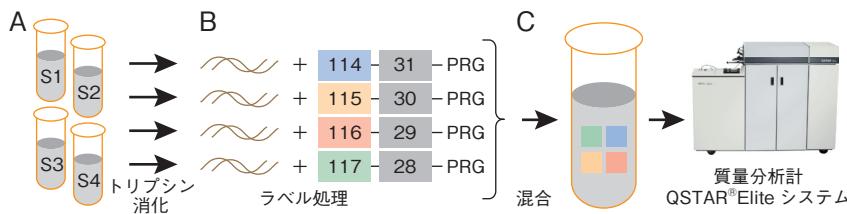


図 iTRAQ® Reagents ラベル処理の概要 (4 サンプルの場合)

A) 培養細胞や組織から抽出したタンパク質をトリプシン消化した後、リン酸化ペプチドを濃縮。B) それぞれのサンプルを iTRAQ® Reagents でラベル C) ラベルしたサンプルを混合して質量分析へ

最後に宮田氏は「今後も、パワフルなツールである同社のシステムを用いて、今回見つけた3,000のリン酸化サイトのなかからDYRK1Aによってリン酸化される部位を同定したいと考えています」と締めくくった。

逆遺伝学とプロテオミクスの融合 ～タンパク質翻訳後修飾ネットワークの解明に向けて～

第二演者：松本雅記

松本氏が取り組んでいるタンパク質翻訳後修飾の研究では、酵素と基質の対応関係を解き明かすことが重要だが、ある酵素の基質をみつけることは現実的にはかなりの難問である。例えば、ある遺伝子のノックアウトマウスを作成すれば、表現型からその生物学的機能を知ることができる（このような手法を逆遺伝学と呼ぶ）。その際、ノックアウトした遺伝子の下流に、どのようなタンパク質が存在して、どのような制御を受けているか知るために、文献情報から推定して実際の実験で確かめる必要がある。だが現実には、いろいろな確認の実験を行った結果、下流のタンパク質がみつけられないということがよく起きる。

「そこで、7～8年前、プロテオーム解析が一般的になってきた頃、ノックアウトマウスを使って表現型とプロテオームの解析をすれば、ノックアウトした遺伝子の下流のタンパク質が簡単にみつかると考えました」と松本氏は当時を振り返る。しかし、当時のプロテオーム技術は未成熟であり、実際はそう簡単にいかなかったようだ。

「問題の解決には、正確な定量ができ、リン酸化などにある程度焦点を絞った解析が重要と考えて、iTRAQ® Reagents と質量分析を使った解析方法を開発しました」と松本氏。実際に、安定なアミン特異的ラベル試薬である iTRAQ® Reagents により、正確なペプチド・タンパク質の定量が可能となっている。また、リン酸化に焦点を絞るという点は、既存のリン

酸化ペプチド濃縮法により解決したそうだ。松本氏は最終的に、抽出したタンパク質をトリプシン処理してからリン酸化ペプチド濃縮した後、iTRAQ® Reagents によりラベルして、質量分析するというシステムを完成させた。

「完成したシステムを用いて、培養細胞をEGFで刺激後、0分、1分、5分、25分の時点でタンパク質を抽出

して定量プロテオーム解析を行いました。その結果、一度の解析で、12,500のリン酸化サイトの同定と定量が行えました」と松本氏。クラスタリングしたデータからは、それぞれのリン酸化ペプチドのサイトと量が、時間とともにいろいろなパターンで変動していることが理解できた。松本氏は「この解析によりMAPKの活性化のパスウェイが上から下までずらっと見ることができました」と語る。このことは、最大8サンプルまで同時処理が可能というiTRAQ® Reagentsの特徴が、シグナル伝達カスケードの解析に大きな力をもつと認識させる結果だった。松本氏はこのほかにも、培養細胞にインスリンやラバマイシンなどの処理をする系や、PKC△ノックアウトマウスなどの系を使ってすでに重要なデータを得ていることを説明した（データは今後公開予定）。

最後に松本氏は「今後はこのシステムを用いて大規模なリン酸化変動解析を行うことで、いろんなシグナル伝達を解析し、基質の同定をして、分子生物学を発展させられると考えています」と今後の展望を語った。

先生方から、シグナル伝達の全体像を追究し、生命の本質を解き明かしたいという熱意が感じられた。現在も、宮田氏は種々の系でDYRK1Aの研究を進め、松本氏はさらに高性能なシステムを開発中のことだ。今後も、アプライドバイオシステムズ社の提供する大規模プロテオーム解析技術に注目していきたい。

Applied Biosystems

アプライドバイオシステムズ ジャパン株式会社

〒104-0032 東京都中央区八丁堀4-5-4

TEL: 03-5566-6100 (代表)

URL: <http://www.appliedbiosystems.co.jp>

BMB2008バイオテクノロジーセミナー報告

ChIP-Seq法だからみえてくる！ ～染色体ダイナミクスと次世代シーケンサ～

演者：東京工業大学大学院生命工学研究科 白髭克彦

計り知れない可能性をもっている次世代シーケンサ SOLiD™システムは、業界でも類をみない最大4億リード（200億塩基）を1回のランで産出するシステムである。この処理能力によって、次世代シーケンサは単に「塩基配列を読む」システムを越え、リード（タグ）を数える「タグシーケンサ」あるいは「タグマッパー」システムとして位置づけされている。次世代シーケンサは従来の技法以上に定量性、網羅性に優れたデータを産出し、新たな世界を広げる可能性をもった革新的ツールである。本講演では、SOLiD™システムを用いた ChIP-Seq法によるコヒーリング結合解析について、白髭氏が発表した。

はじめに

今後の染色体研究分野の1つの大きなトピックは、転写・修復・複製といった染色体の諸機能が、局所的なタンパク質-タンパク質、およびタンパク質-DNAの相互作用を通してどのように連携し、染色体全体の動態と運動しているのかを解き明かすことである。演者の白髭氏は現在、コヒーリングという因子を中心として、染色体動態（染色体ダイナミクス）の分子制御機構について研究を進めている。本講演で白髭氏は、次世代シーケンサ（SOLiD™システム）で実施した ChIP-Seq 法によるヒトのコヒーリングの結合解析を、これまで行ってきた ChIP-on-Chip 法との違いを交えて解説した。

ChIP-on-Chip法とChIP-Seq法

ChIP-on-Chip 法は、クロマチン免疫沈降法とマイクロアレイを組合せて、タンパク質の結合している DNA を検出する方法で、各因子の結合位置やゲノム上での分布などを網羅的に知ることができる。一方、ChIP-Seq 法も目的は同じだが、DNA 検出のステップで次世代シーケンサを使用する点で異なる。具体的には、ChIP-on-Chip 法は DNA チップの上に載っている DNA にハイブリダイゼーションする配列を検出するが、ChIP-Seq 法はクロマチン免疫沈降で落ちてきた DNA すべてを直接読んで検出する。そのため、ChIP-on-Chip 法に比べて、ChIP-Seq 法は非常に高い定量性、そして、網羅性を備えている。特にヒトを含めた高等真核生物の場合、ゲノム全体の 5 割強存在する繰り返し配列へのタンパク質因子の結合は測定不能であったが、ChIP-



演者の白髭克彦氏

seq 法ではこれらの配列への結合も定量性をもって測定することが可能となった。また、解像度の高い測定が可能となっている。この点について白髭氏は「ChIP-Seq 法を用いれば、DNA チップに載っていないヒトゲノムのリピート領域や未読解領域についても、どんなタンパク質がどのように結合しているかが調べられます。つまり、今まで DNA チップではアクセスできなかった本当の染色体の全体像がわかるはずというが、SOLiD™システムを導入した最大の理由です」と述べた。なお、SOLiD™システムはアプライドバイオシステムズ社の次世代シーケンサで、今年の1月に、白髭氏が使ったものよりもさらに精度と処理速度が向上した SOLiD™ 3 システムが発売されている。

SOLiD™システムの威力

白髭氏の研究するコヒーリング（姉妹染色分体間接着因子）

は酵母からヒトまで保存されており、機能の欠損によって発生や分化に異常をきたすような重篤な疾患の原因となることが知られている。最近、白髭氏のグループからは、コヒーレンスとCTCF（インシレーター因子）がゲノム上に共局在して転写制御に重要な役割を示すことが報告されている。

ChIP-Seq法導入後、コヒーレンス結合サイトを新たに解析した結果、今まで用いていたChIP-on-Chip法の結果と70%の結合部位が一致した。さらに、次世代シーケンサを用いた解析では新規の結合サイトが見つけられたほか、ChIP-on-Chip法では絶対に検出できない繰り返し領域中の結合部位も見つけられた。白髭氏は「ChIP-on-Chip法でこぼれ落ちていたシグナルを、恐らくすべて拾い上げることができました。例えば酵母の6番染色体に限っていえば、ChIP-on-Chip法と比べ、新たなコヒーレンス結合サイトを10カ所、酵母ゲノム全体では新たに100カ所以上の新規結合部位を同定できました」と説明した。

また、ヒト全ゲノムを用いた予備的な解析の結果では、ChIP-Seq法で26,237カ所のコヒーレンス結合サイトが検出できたという。ChIP-on-Chip法で見出された6,105カ所の結合サイトと比較するとゲノム全体からは約4倍の結合サイトが新たに見つかったことになる。「従来の解析では、解像度が低いために1つの結合部位だと判断されていたものが、ChIP-Seq法では解析の解像度が高くなり、実は3~4個の結合部位が合わさったものであると判明した例が多くありました。また、繰り返し配列等、ChIP-Seq法でのみ検出可能なゲノム領域にも多くの結合部位が存在していました。高解像度と未知のゲノム領域へアクセスできる能力により、ChIP-on-Chip法に比べ多くの結合部位を見出すことができました」と白髭氏はいう。

今後の課題

初の解析で、これだけの結果を出したChIP-Seq法だが、まだまだ問題もあるようだ。多くは次世代シーケンサに共通の問題であり、ゲノム中の難可溶化領域のデータ処理・データ正規化手法・繰り返し配列の処理などは、特にヒト・マウス等の巨大ゲノムを解析する際に避けては通れない課題である。しかし、なかでも一番大きな問題となるのが、処理能力の高いコンピューターが必要不可欠であるということだ。この点について、白髭氏は、次世代シーケンサの性能だけでなく、コンピューター・ハードウェアおよびソフトウェアのより一層の充実を図る必要があると強調した。最後に白髭氏は「次世代シーケンサは染色体研究分野だけで



SOLiD™ 3 システム

はなく、さまざまな研究分野で強力なツールとなるのは明らかでしょう。また、今までになかった新しい生物学の展開を可能にしてくれると思います。ただし、データの解釈、可視化にあたっては、従来以上にバイオインフォマティクスの研究者の力が必須となるでしょう」と講演を終えた。

おわりに

SOLiD™システムの特徴として、他の次世代シーケンサの追随を許さない超高速の処理能力と、それにより算出される精度の高いデータがあげられる。本講演で紹介されたChIP-Seq法による結果は、まさにその特徴が活かされたものであり、従来の方法では調べることのできなかったゲノムのブラックボックスに手が及ぶようになったことを示している。「解析単価の点でも、われわれのような網羅的な解析を手がける研究者にとって、第一選択肢がDNAチップであった時代はもはや終わろうとしているのかもしれません」と白髭氏は言う。今後は、ますます強力になったSOLiD™システムが何を解き明かしていくのか、アプライドバイオシステムズ社の活躍が期待される。

Applied Biosystems

アプライドバイオシステムズ ジャパン株式会社

〒104-0032 東京都中央区八丁堀4-5-4

TEL: 03-5566-6100 (代表)

URL: <http://www.appliedbiosystems.co.jp/website/solid.html>

BMB2008バイオテクノロジーセミナー報告

タンパク質マーカー探索から 機能解析への挑戦

第一演者：株式会社セラバリューズ札幌研究所 忍 典昭

第二演者：独立行政法人産業技術総合研究所 栗崎 晃

2007年4月に設立されたセラバリューズ社は『健康』をキーワードに、機能性食品素材の探索・製品化、医薬品の研究開発、そして受託解析と大きく分けて3つ柱で事業を展開している。BMB2008で行われたバイオテクノロジーセミナーでは、その1つである受託解析事業において、『核内受容体解析』と『プロテオミクス解析』の2つの受託サービスについての講演が行われた。

核内受容体の多角的評価系の構築

第一演者：忍 典昭

セラバリューズ社の札幌研究所は、北海道大学北キャンパスに位置するコラボほっかいどう内に『医薬・食品の機能性研究・サービス受託機関』として昨年9月に設立された。ここでは研究支援サービスとして核内受容体を標的とした医薬品や食品素材の機能性を、細胞や動物個体を使用して多角的に評価している。

ヒトがもつ48種類の核内受容体は、そのほとんどがさまざまな疾患と関係している。特に脂質代謝産物をリガンドとする核内受容体が明らかにされたことで、脂質代謝を介した生活習慣病の発症に関与することが推測されている。したがって、これらの核内受容体の活性を調節する化合物や機能性食品成分の探索、ならびにその多角的評価系の充実化は、生活習慣病を中心とした疾患の解明に有用であると考えられる。セラバリューズ社では、もともともっていた研究成果を活かし、将来的には48種類すべての核内受容体についての評価系を確立することを目指している。現在、同社では医薬品や食品素材のもつ機能性を系統的に評価し、その素材の機能性を細胞レベルから動物個体レベルまで一貫して解析できる4つの多角的評価システムを行っている（表）。

本セミナーで講演した同社札幌研究所の主席研究員、



セラバリューズ社の札幌研究所
(北海道大学北キャンパス、コラボほっかいどう内)

忍典昭氏は、同社の受託サービスの特徴として「30種類以上の広範な受容体のスクリーニングが可能」であることと、「特定の疾患別に活性化試験が行える」ことの2つを強調する。特に同社がもつ疾患リストは高脂血症・動脈硬化・糖尿病などのメタボリックシンドローム、中毒などの毒性疾患など多種にわたっている。本試験の充実は、疾患に対する予防や治療薬の開発に力を入れている企業や研究者にとって有効なサービスとなるであろう。

講演の最後に忍氏はこう語る。「セラバリューズは核

表 セラバリューズ社がもつ4つの多角的評価システム

1. 細胞ベースのレポータージーンアッセイ法による核内受容体活性化試験
2. 核内受容体活性化に起因する細胞機能性試験
3. *in vivo*イメージング法による動物体内での生体内可視化試験
4. 疾患モデル動物を用いた薬理・薬効試験

内受容体に対する作用を評価することで素材の機能性探索をサポートします。医薬品、食品、化粧品など機能性素材を取り扱う大学・企業・研究機関に対して、『新規機能を探索したい』あるいは『自社製品の機能性に関する科学的エビデンスを明確にしたい』との要望にお応えするトータルサービスをお引き受けします」。

プロテオミクス解析受託サービス

第二演者：栗崎 晃

セラバリューズ社は札幌研究所のほかに、彩都バイオインキュベータ内にタンパク質解析技術支援機関である彩都プロテオミクス解析センターをもつ。ここでの成果として、本セミナーでは産業技術総合研究所の副研究ラボ長、栗崎晃氏により講演が行われた。

栗崎氏の研究テーマは『幹細胞の細胞表面タンパク質のプロテオミクス解析』。すでにマウスES細胞やヒトの培養系幹細胞を用いた*in vitro*での分化誘導の研究を行い、マウスES細胞から脾臓・心筋へ分化誘導する系を確立している。研究を進めていくなかで栗崎氏は「多能性のあるES細胞で特異的に発現する細胞表面タンパク質はどういうものかに興味をもった」という。

そこで、2D-DIGE（二次元ディファレンシャルゲル電気泳動）と2D-LC（二次元液体クロマトグラフィー）によるマウスES細胞膜タンパク質のプロテオミクス解析を行ったのだが、栗崎氏は「2D-LCによる解析はセラバリューズ社のアドバイスによるところが大きかった」と語る。2D-LCは自動化が進んでおり、効率よく数千種類のタンパク質を自動的に同定できることが示されているが、調べたいタンパク質をいかにして濃縮・分画するかが解析を行ううえで重要な鍵となってくる。そこで栗崎氏がセラバリューズ社に相談したところ、ZIC-HILICという糖ペプチドの分析などで使われていた両イオン親和性のカラムが2D-LCの解析に向いていのではないかとの提案を受けた。実際にHASをモデ

ルタンパク質としてプロテオミクス解析を試してみたところ、通常のSCX（陽イオン交換）を使った時に比べ、倍近いタンパク質を同定することができた。このことでZIC-HILICが2D-LCに向いていることが確認された。

また、もう1つセラバリューズ社が提案したのが、サンプル間の定量比較に向いているiTRAQ[®]Reagentsだ（iTRAQ[®]Reagentsについてはアプライドバイオシステムズジャパン社の記事参照）。こちらも通常に比べよりよい同定効率結果を得る。「iTRAQを用いた2D-LCは、ペプチドが単一ピークで同定される良好な分画能を示し、また同定したペプチドは2D-DIGEでは得られなかった分子量3～4,000近くある巨大なペプチドもたくさん同定することができた」と栗崎氏はいう。

そこで実際に、目的としていた分化状態または未分化状態のマウスES細胞から精製した膜タンパク質のプロテオミクス解析を、2D-DIGE、2D-LCの両方を使ってプロテオミクス解析を行ったところ、合計で338個の膜・膜関連タンパク質が同定された。そのうち2D-LCで得られたタンパク質は273個に及ぶ。「この中にはES細胞の分化のマーカーとして使えるものもあり、iPS細胞の精製・分離や未分化ES細胞混入によるがん化を抑制する技術へのさらなる応用も期待できる」と栗崎氏はいう。

セラバリューズ社の研究支援サービスの特徴は、常に受け手でいるのではなく、企業の方からもユーザーへ提案していくながら支援する相互的な点である。今回発表されたプロテオミクス解析の成果もユーザーと企業がお互いにコミュニケーションをとりながら研究を進めた結果であるといえるだろう。今後もセラバリューズ社がもつ統合的な機能解析サービスで研究者のニーズに応えていくことを期待したい。



株式会社セラバリューズ

〒102-0094

東京都千代田区紀尾井町3-12 紀尾井町ビル8階

TEL: 03-3234-7677 (代表) FAX: 03-3234-7680

URL: <http://www.theravalue.com>

E-MAIL: info@theravalue.com

分子間相互作用定量 QCM 装置

AFFINIX

分子間相互作用の幅広い研究開発・評価業務を
ナノグラムレベルの定量とリアルタイム解析で支援します。

高周波水晶発振子の液相中での安定発振に、世界で初めて成功。『核酸、タンパク質、糖鎖、脂質等、生体高分子上での反応や認識』、『新規機能性材料の評価やナノグラムレベルの重量変化を捉える微粒子付着検出システム』、『従来計測システムの新たな数値化手法』などQCMを用いた分子間相互作用解析の活用範囲はさらに拡大しています。



27
MHz

高感度測定を実現

1 ch ~ 4 ch

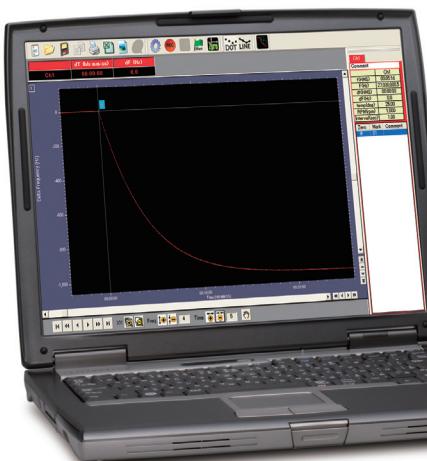
本体増設による多ch化に対応

用途例

発振子の基板上に、タンパク質等の分子を固定。他の分子との複合体形成や分解によって基板上の全質量が変化すれば、分子間相互作用を質量変化としてその場で検出できます。

| タンパク質間連 | DNA間連 | 糖鎖間連 |
|--|--|---|
| ■タンパク質間相互作用 ■抗体反応 ■Gアロイド等の凝集反応 ■タンパク質複合体形成の解析 ■補助因子の探索 | ■ハイブリダイゼーション ■ミスマッチ基団の検出 ■DNA側連の反応 ■転写因子の探索 ■抗生物質やハイブリ阻害剤の評価 | ■糖鎖-レクチン相互作用 ■糖結合性タンパク質 ■キチン-キトサンへの結合 |

| 脂質間連 | 酵素反応 | 低分子の結合 |
|---|---|--|
| ■脂質膜と抗活性ペプチドの反応 ■表面処理リポソームの結合 ■脂質膜へのカテキンの吸着 | ■DNaseによる分解反応 ■トリプシンによる分解反応 ■DNAポリメラーゼによる伸長反応 ■糖鎖上の加水分解反応 ■糖鎖伸長反応 | ■阻害剤の評価 ■薬剤の結合評価 ■リガンド-レセプターの反応 ■低分子間の結合反応 ■毒素評価 |



AFFINIX Q4

4 ch

上位機種AFFINIX Q4も好評発売中

initium 株式会社 イニシアム

<http://www.initium2000.com>

〒104-0028 東京都中央区八重洲 2-3-1
TEL : 03-5218-8030 FAX : 03-5218-8031
info@initium2000.com