

丸文株式会社と東京都老人総合研究所

老化のメカニズム解明に向けて、タンパク質解析技術を共同研究

エレクトロニクス専門商社の丸文株式会社（東京都中央区、社長：佐藤敬司、資本金：62億1,450万円、東証1部）と財団法人 東京都高齢者研究・福祉振興財団 東京都老人総合研究所（所長：林泰史、以下：東京都老人総合研究所）は、老化のメカニズム解明に向けて、タンパク質解析技術の共同研究を開始しましたのでお知らせいたします。

老化は様々な要因によって発生するものと考えられていますが、中でも特に活性酸素分子種や活性窒素分子種などの酸化ストレス分子種による生体機能分子の酸化変性（錆び）が、老化の直接的な原因として有力視されています。酸化ストレス分子種によってDNAが酸化された場合、DNAが作り出すタンパク質の構造や存在量に変化をもたらします。また酸化ストレス分子種が、直接タンパク質分子に働いて酸化変性を起こすこともあります。そのようにして長年にわたりタンパク質に蓄積した質的・量的変化が、タンパク質の働きを狂わせ、様々な老化現象や老年病が現われてくるものと考えられています。これらタンパク質の変化を見つけだすことは老化研究に大いに役立つもので、実際多くの老化に関わる研究機関で研究されています。

丸文株式会社と東京都老人総合研究所は、同研究所プロテオーム共同研究グループ（戸田年総グループリーダー）が取り組む、老化や老年病のメカニズムに関わるタンパク質の研究に必要な不可欠な、タンパク質や低分子化合物の機能や構造の分析技術の確立を目指し、丸文株式会社が国内総代理店をつとめる英国Farfield Sensors社のタンパク質機能構造解析装置「AnaLight® Bio200」を用いた共同研究を行います。

東京都老人研究所プロテオーム共同研究グループでは、今回の共同研究を通して得られたタンパク質や低分子化合物の機能や構造の分析技術やノウハウを同グループの研究に活かして、老化が起因した病気や疾患の発症を抑制する方法を見つけだし、新たな老化のメカニズム研究につながっていくことを目指しています。

一方、丸文株式会社では、今回の共同研究を通して得られた分析技術やノウハウを仕入先である製造メーカーにフィードバックし、今後の製品改良・開発に活かし、老化・タンパク質研究のみならず創薬研究に貢献する考えです。

今回の共同研究について、東京都老人研究所・プロテオーム共同研究グループ・グループリーダー 戸田年総氏は「老化に伴い、酸化変性を起したタンパク質が細胞内に増えてくるということは、多くの研究者によって明らかにされてきましたが、酸化変性を起したタンパク質がどのような構造変化を起しているか、それによってタンパク質本来の生理機能にどのような悪影響が現われるかといったことは依然として不明です。AnaLight® Bio200は、このような研究に最適な装置であると考えています」と話します。

また、丸文株式会社 システムカンパニー社長 野崎孝氏は「老化研究において一流の研究機関である東京都老人研究所と共同研究を開始できることを大変光栄と思うとともに、最先端タンパク質機能・構造解析装置AnaLight® Bio200によって老化およびタンパク質の研究にお役に立ちたいと思っております。また本共同研究によって今後の老化・タンパク質研究の新たな機能・構造の解明があることを期待しています。」と話します。英国Farfield社創設兼開発責任者であるDr. Neville Freemanは「丸文株式会社と東京都老人総合研究所が共同研究を開始することを大変喜ばしく思っております。世界初のリアルタイムにタンパク質の機能と構造変化を測定できるAnaLight® Bio200は、今回の共同研究に大いに貢献できると信じております。当社もこの共同研究を全面的にサポートする予定です。」と話します。

＜共同研究の主な概要＞

課題名	AnaLight® Bio200を用いたタンパク質・低分子化合物相互作用の解析技術に関する研究
目的	タンパク質の機能解析に不可欠なタンパク質・低分子化合物相互作用を高感度で解析するための基礎技術を確立する
内容	種々のタンパク質を用いて実際の分析を行いながら、AnaLight® Bio200の最適な使用方法を検討する。
実施場所	東京都老人総合研究所実験室内
実施期間	契約締結日から平成16年3月31日まで
従事する 研究員	東京都老人総合研究所 プロテオーム共同研究グループ・戸田年総グループリーダー 丸文株式会社 システムカンパニー社員 2名

＜財団法人 東京都高齢者研究・福祉振興財団 東京都老人総合研究所について＞

代表者：林 泰史

所在地：東京都板橋区栄町35-2

設立：1972年

事業内容：東京都が、老化、老年病、高齢者や高齢化社会の問題を総合的に研究し、高齢者の安全で快適な生活の確立を目指して1972年に設立した研究所。国際的にもユニークな老年学の研究所として、世界保健機構(WHO)や世界各国や国内の多くの老化研究機関と研究協力し、研究成果の社会への普及・還元に努めています。

東京都老人総合研究所の詳細については、www.tmig.or.jp/J_TMIG/J_index.html をご覧ください。

＜丸文株式会社について＞

代表者：佐藤 敬司

本社：東京都中央区日本橋大伝馬町8-1

設立：1947年

資本金：62億1,450万円

従業員：932名(2003年4月1日現在)

売上高：1,517億円(2003年3月期連結)

事業内容：集積回路を中心とした半導体、電子応用機器など、国内外の最先端エレクトロニクス製品を販売する専門商社。産業や理化学分野向けのシステム機器を扱うシステムカンパニーでは、2002年度からバイオ市場向け製品の取扱いを開始し、これまで、マイクロアレイ、マイクロアレイ解析ソフトウェア(ASP)、タンパク質機能構造解析装置、質量分析装置を販売しております。東京証券取引上市場第1部に上場。(コード番号：7537)
丸文株式会社の詳細については、www.marubun.co.jp/bio をご覧ください。

※ AnaLightは、Farfield Sensors, Ltd. の登録商標です。

ニュースリリースに関するお問い合わせ先

丸文株式会社 広報室

担当：喜多(キタ)

中央区日本橋大伝馬町8-1 〒103-8577

TEL:03-3639-9803

FAX:03-5644-7693

E-mail:kitakita@marubun.co.jp

老化や老年病のメカニズムに関わるタンパク質の研究の概要 (東京都老人総合研究所WEBサイト「プロテームって何？」より抜粋)

プロテオームって何？

ゲノム(genome)は「遺伝子(gene)の集団(ome)」という意味の言葉であり、特定の生物が生まれ育ち、子孫を残すために必要な全遺伝子情報の集合体を意味しますが、プロテオーム(proteome)も同じような方法で造語されたもので、「タンパク質(protein)の集団(ome)」を意味する言葉です。具体的には、特定の細胞が特定の条件下に置かれたときに、その細胞内に存在する全タンパク質のことを指します。ゲノムは単なる情報に過ぎず、そのままでは何の働きもしません。この情報に基づいて酵素やホルモン、その受容体、遺伝子の働きを調節する因子など様々なタンパク質がつくられてはじめて、細胞の生命活動に必要な機能が発揮できるようになります。このとき個々のタンパク質はそれぞれ固有の限られた働きしかできませんので、細胞がエネルギーを作り、生命活動を営み、決められた役割を果し、自己を再生産するには少なくとも5千種以上の異なるタンパク質が必要になります。このように、細胞の活動に必要な全タンパク質をひとまとめにして捉えた概念がプロテオームであり、プロテオームを研究すること、あるいはその方法論のことを「プロテオミクス」と呼んでいます。

プロテオームを調べると何がわかるの？

プロテオームを調べることは、とりもなおさずその細胞が持っているタンパク質の全体像を調べることであり、翻訳後にリン酸化や、酸化や糖化などの修飾を受けて変化した構造や機能をとらえることができます。これは言い換えれば、細胞の生理的な状態や病理的な状態をタンパク質という視点で監視できると言うことです。したがって、たとえば細胞が老化や分化、不死化(癌化)などを起こしたときのプロテオームの変化を解析することによって、それらの細胞の機能変化を陰で操っているタンパク質の正体を捕まえることができます。二次元電気泳動で分離し、得られたパターン(後述の図2の様な小さな点の分布)を画像解析することによって変化が見つかったタンパク質に対しては、さらに酵素で消化した後で質量分析を行うことによって、どの遺伝子の産物に相当するものか同定することができます。さらにその情報をもとに他の研究者らによってインターネット上で公開されている情報にアクセスすることができるようになりますので、そのタンパク質の生理機能や老化との関連を解明する手掛りが得られます。

老化研究においてプロテオーム研究を行うことの意義は？

老化は様々な要因によって起こるものと考えられますが、その中でも特にスーパーオキシドラジカル($O_2^{\cdot-}$)やヒドロキシラジカル($\cdot OH$)などの活性酸素分子種(ROS)、ペルオキシナイトライト($ONOO^-$)などの活性窒素分子種(NOS)による生体物質の酸化が老化の直接的な原因として有力視されています(図1)。これらの酸化ストレス分子種は、細胞が生命活動を営むことによって必然的に発生するものであり、避けることのできないものですが、細胞内ではタンパク質のメチオニン残基やヒスチジン残基、アルギニン残基などを酸化修飾するほか、DNAのグアニン塩基をヒドロキシル体に変えて点突然変異を誘発したり、脂質を過酸化脂質にかえたりと言った様に種々の生体機能分子を酸化変性させる性質を持っています。DNAが酸化された場合、その変異がエクソンの領域(タンパク質の構造を決定する情報領域)で起これば、それが作り出すタンパク質の構造変化を起こさせ、また発現を調節する領域で起こればタンパク質の存在量に変化をもたらします。また過酸化脂質もタンパク質を修飾しますので、いずれの経路を辿った場合においても、結局は「タンパク質の変化」として現れます。長年にわたる酸化ストレスによってタンパク質に蓄積した量的変化や質的变化が、そのタンパク質が本来果たすべき役割を阻害し、細胞のホメオスタシスに歪みをもたらし、細胞機能の低下や細胞死を招き、これが老化に伴う身体機能の低下や老年病の発症を誘発しているものと考えられます。したがって、これらのタンパク質の変化を見つけだすことのできるプロテオーム研究は老化研究に大いに役に立つものであり、事実今年度(平成13年度)の日本生化学会でも、「老化」のセッションの中でプロテオーム研究に関する発表が非常に多くなっておりま

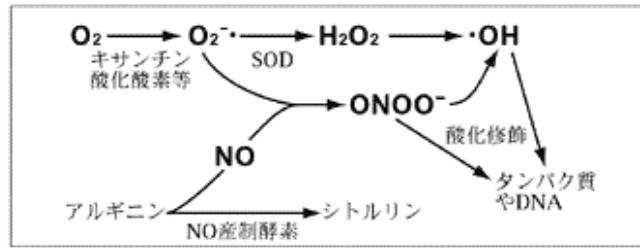


図1 生体内において発生する主な酸化ストレス分子種（活性酸素分子種および活性窒素分子種）とその発生経路

東京都老人総合研究所では、どのようなプロテオーム研究が行われているのでしょうか？

老化の根本的な原因は細胞の種類によらず共通であると考えられますが、老化形質（老化に伴う機能の低下）の表現形は細胞の種類によって異なり、皮膚や消化管の細胞のように生涯休みなく細胞分裂を続ける細胞と、脳の神経細胞のようにある年齢に達した後は細胞分裂をしない細胞とでは、老化の現れ方が明らかに異なります。現在東京都老人総合研究所では、増殖性の培養細胞と、マウスの脳組織の両面から「老化に伴うタンパク質の変化」を見つけだすプロテオーム研究を行っており、これらの研究で得られた成果の一部をデータベース化して、ホームページ上で公開（URL：<http://proteome.tmig.or.jp/2D/>）しております（図2）。

ここでの解析によって、老化に伴い非常に多くのタンパク質に変化が起こることが明らかになり、興味深い動きをするものも多数見つかってきました。たとえばデータベースIDナンバーでssp7001とssp7004と名付けられた2つのタンパク質は、老化が進み、細胞が増殖能を失う時期に一時的に上昇し、その後寿命の限界に達する直前に再び減少するという複雑な動きを示すことがわかりました（図2）。またこれらは、遺伝的な早老症の一つであるウェルナー症候群の患者の細胞では、健常者に比べて早く上昇することもわかりました。他方、細胞老化が起こらなくなった不死化細胞（悪性の癌細胞では不死化が起こっていると考えられています）では逆に低下することもわかりました。これらのタンパク質を酵素で消化し、質量分析を行った結果、ssp7001はスタスミンというチュブリン結合性のタンパク質であり、ssp7004はSODというスーパーオキシドラジカルを消去する酵素であることが突き止められました。現在これらのタンパク質の機能と老化との関連について研究を進めているところです。

理研（理化学研究所）やNEDO（新エネルギー・産業技術総合開発機構）が行っているプロテオームプロジェクトとの相違点は？

理研やNEDOが行っているプロテオームプロジェクトは、「完全長cDNAが得られたものについて大腸菌などの中で大量にタンパク質を作らせ、大型のNMR（核磁気共鳴吸収）分析装置を用いてタンパク質の立体構造を調べることにより、タンパク質の機能を解明しよう」というもので、どちらかと言うと新しい機能性タンパク質を見つけだすという色彩が強いものです。これに対し東京都老人総合研究所でこれから取り組もうとしているプロテオームプロジェクトは、「様々な老化の段階にある細胞や組織のプロテオームを解析し、生理的な（生物学的な）老化に伴う身体機能の低下に深く関わっているタンパク質を見つけだすとともに、特に高齢者に多く見られる中枢神経系、循環器系、血管系の疾患の発症とタンパク質の酸化的修飾の関係を明らかにしよう」というものです。したがって研究材料も、分析方法も、目指す方向性も全く別のもので、分析するサンプルとしては、東京都老人総合研究所で開発されたTIG-3などのヒト細胞や、東京都老人医療センターで管理されているブレインバンクの高齢者および各種疾患脳組織、さらには、東京都老人総合研究所で飼育管理されている老化モデル動物など、東京都老人総合研究所ならではのものを主に使用する予定であり、他のグループとは異なるユニークな研究内容になるものと考えております。また期待される研究成果も、老化に伴う身体機能の低下の抑制や老年期疾患の発症の予防につながるものであり、今後一層深刻化することが予想されている高齢者の医療福祉問題の解決に少なからず貢献できるものと考えています。

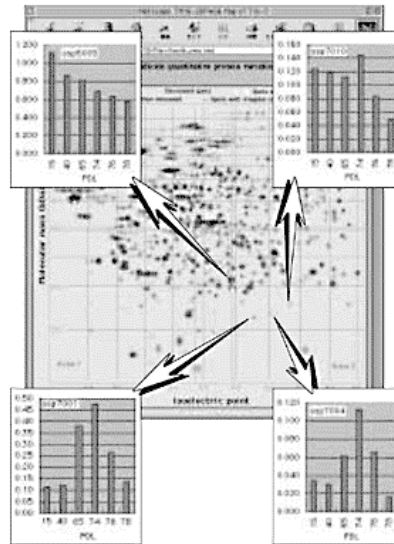


図2 東京都老人総合研究所のホームページで公開されている、「老化に伴うタンパク質の変化に関するデータベース」の一部。二次元電気泳動のパターン上で個々のタンパク質のスポットをクリックすると、詳細なデータが表示される仕組みになっている。

※より詳しい内容は東京都老人総合研究所WEBサイト「プロテームって何？」をご覧ください。
http://www.tmig.or.jp/J_TMIG/j_topics/topics_186_1.html

英国Farfield Sensors社のタンパク質機能構造解析装置「AnaLight® Bio200」について

<AnaLight® Bio200の概要>

「AnaLight® Bio200」は、タンパク質の機能および構造解析分野において、DPI技術（Dual Polarization Interferometer：二面偏波（電場、磁場成分）式干渉計）を用いて、リアルタイムにタンパク質の密度、質量、厚さ、濃度等を直接、解析できる初めてのベンチトップ型生体分子間相互作用解析装置です。FarField社はDPI技術を含めて16の特許技術を所有しており、光干渉技術、光学センサ技術、固定化法（表面化学）技術などを応用して、タンパク質の厚さと密度を計測し、タンパク質自体やタンパク質同士の高次構造変化を特定、その高次構造変化とタンパク質の機能の関係を明らかにします。

タンパク質、あるいはターゲット分子と会合している生体分子の構造変化を炭素-炭素結合長（0.15ナノメートル）の10分の1以下の分解能（<0.01ナノメートル）で観察が可能です。

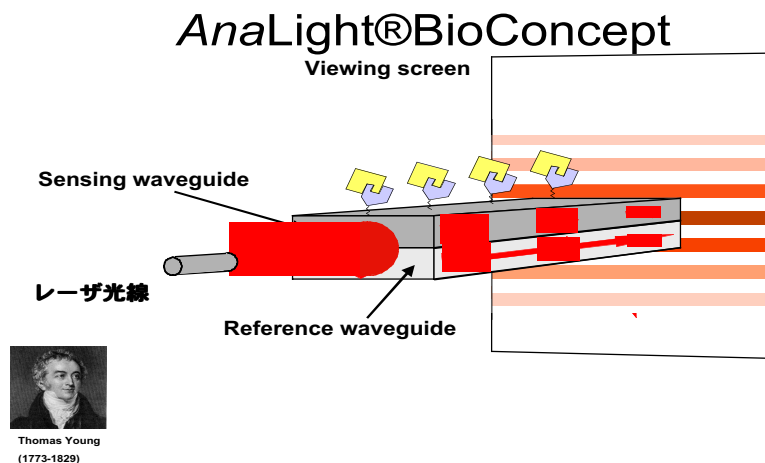
<AnaLight® Bio200の主な特長>

- ・生体分子の密度と厚みを定量的に測定できることにより質量、濃度、動態等の測定
- ・タンパク質の高次構造変化をリアルタイムで直接計測
- ・高分子（たんぱく質：60,000 Da）と低分子（<10 Da）の動態測定
- ・生体分子の機能および構造変化を厚み分解能（<0.01ナノメートル）で測定
- ・放射性や蛍光などのタグ（ラベル）標識なしで質量・濃度・密度をリアルタイム測定
- ・センサーチップ表面測定感度：0.1pg/mm²

<AnaLight® Bio200の主な解析分野>

- ・生体分子の定量測定（密度、質量、厚み、濃度、サンプル表面状態）
- ・タンパク-タンパク質間及び分子・タンパク質相互作用
- ・タンパク質に対する低分子の特異的または非特異的結合
- ・機能中タンパク質の構造構造変化
- ・アルツハイマー病、パーキンソン病に対するタンパク質アグレグーション研究
- ・分子配向、フォールディング研究等
- ・タンパク質修飾、リン酸化、酸化、

<AnaLight® Bio200の測定原理>





英国Farfield Sensors社 生体分子間相互作用解析装置
AnaLight® Bio200