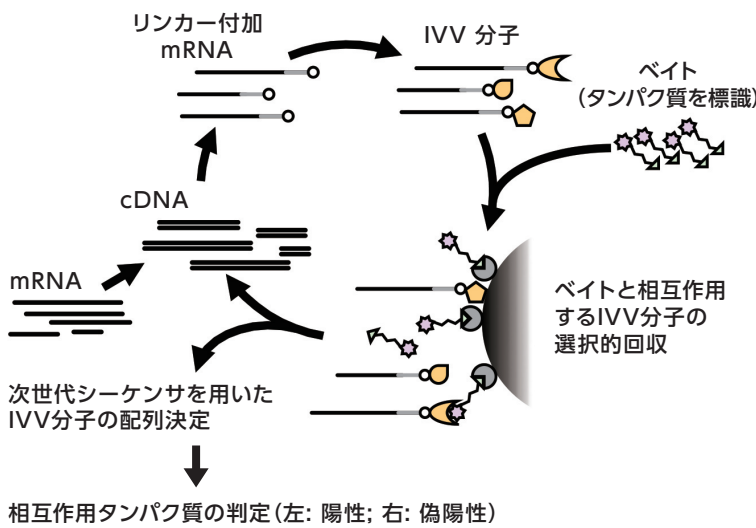


宮本 悦子 Etsuko MIYAMOTO - SATO (東京理科大学 研究 教授)

## 的

ゲノムプロジェクトや次世代シーケンサを用いた全ゲノム解析は、様々な生物のゲノム情報を明らかにし、その結果、生物の体内で発現する全ての遺伝子を人為的にバクテリアや培養細胞などで発現できるようになりました。しかし、注目している遺伝子がコードするタンパク質について、生体における機能を明らかにするには、相互作用している相手のタンパク質が「何」であるかを迅速に知る必要があります。本技術は、多くの相互作用解析に共通の課題である偽陰性と偽陽性を減らし、相互作用解析のハイスループット化を実現します。

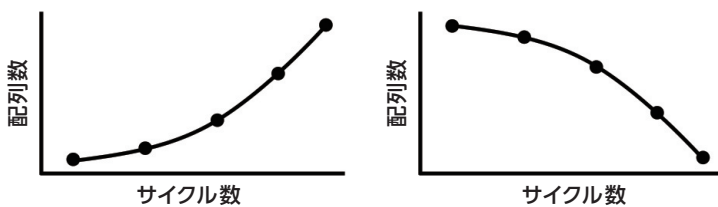
## 研究の概要



本技術では、*in vitro virus* 分子 (IVV分子) を用いて、注目するタンパク質と相互作用するタンパク質を検出します。

- cDNAライブラリを転写し、3'末端にピューロマイシンリンカーを結合させます。このRNAを無細胞翻訳系で翻訳すると、タンパク質と、そのタンパク質の設計図となったRNAとが、リンカーを介してひとつひとつつながった分子 (IVV分子) が得られます。
- 注目するタンパク質は、ペプチドタグなどによって標識し、ベイトとします。ベイトとIVV分子を混合して相互作用させた後、標識を結合する担体を用いてプルダウンします。
- ベイトに結合したIVV分子をcDNA化し、次のサイクルで使用するIVV分子の鋳型とします。
- 鋳型のcDNAは増幅できるので、もとのライブラリ中の存在量が少ない場合や、相互作用が弱く回収率が低い場合でも、検出が可能になります。
- 各サイクルで得たcDNAを次世代シーケンサーで配列解析することにより、相互作用タンパク質の配列を一度に検出します。

サイクルごとの配列の出現頻度を評価すれば、偽陽性を除外することも容易です。



## POINT

- 次世代シーケンサにより得られる膨大な配列情報による偽陰性の低減
- サイクルごとのIVV分子の推移を確認することによる偽陽性の低減

## 今後の展開

本技術は、タンパク質間相互作用に限らず、化合物とタンパク質との間の相互作用解析にも応用可能で、薬効や副作用のメカニズム解析が容易になることが期待されます。詳細はお問合せ下さい。

- 関連制度: 科学研究費助成事業、文部科学省ゲノムネットワークプロジェクト
- 受賞歴: 第3回資生堂サイエンスグラント賞
- 知的財産権: 特許第5712382号「生体分子相互作用解析ツールの構成とそれを用いた解析方法」、特許第5896511号「標的分子と相互作用するタンパク質の検出方法」
- 技術指導: 実績多数

