


平成 17 年 2 月 28 日

氏名 井上 敦 

## 21世紀COEプログラム

拠点：大学院工学系研究科  
応用化学専攻、化学システム工学専攻、  
化学生命工学専攻、マテリアル工学専攻

“化学を基盤とするヒューマンマテリアル創成”

平成16年度リサーチ・アシスタント報告書

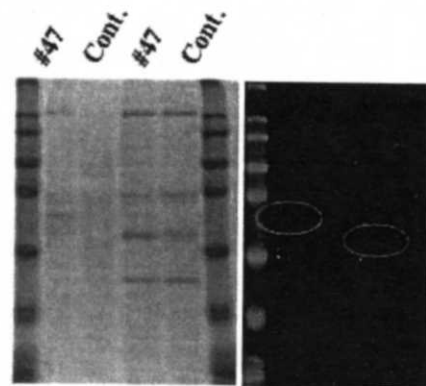
ふりがな 氏名	いのうえ あつし 井上 敦	生 年 月 日
所属機関名	東京大学大学院工学系研究科 化学生命工学専攻 多比良研究室	
所在地	〒113-8656 東京都文京区本郷7-3-1 工学部5号館 電話 03-5841-8828	
申請時点での 学 年	博士課程 1年	
研究題目	細胞内抗体を用いたタンパク質機能解析法の開発	
指導教官の所属・氏名	東京大学大学院工学系研究科 化学生命工学専攻 多比良 和誠	

I 研究の成果 (1000字程度)

(図表も含めて分かりやすく記入のこと)

生命現象を分子レベルで解明していくにあたり、特定の遺伝子の機能を調べることは極めて重要な課題である。そのための方法として細胞の内部で機能する抗体（細胞内抗体）を用いることができる。これまでの研究からファンクショナルスクリーニングにより細胞内抗体のライブラリーから運動能力を低下させる効果のある細胞内抗体を得ることができた。

この得られた抗体にタグ配列を付加し、細胞内で相互作用するタンパク質を特異的抗体を用いて精製することに成功した（図1）。このタンパク質を質量分析法（MS/MS）、及びデータベース検索にかけることにより、候補タンパク質を同定することができた。つぎにこれらのタンパク質の機能阻害が本当に癌細胞の運動能力を低下させるかを確認するために、RANI 法による遺伝子発現の抑制実験を行った。



10% SDS-PAGE

図1

ターゲットとなる遺伝子の塩基配列から効果の高いと思われる部位をデータベースをもとに検索し、その部位に対する shRNA 発現プラスミドを構築した。次に RT-PCR 法によりターゲット遺伝子の発現が抑制されていることを確認した。これらの遺伝子の中には運動できずに全体的に丸まった表現型を見せるものが幾つか見られたことから、これらの遺伝子が細胞内抗体のターゲットであり、表現型を変化させる原因になっていると考えられる。

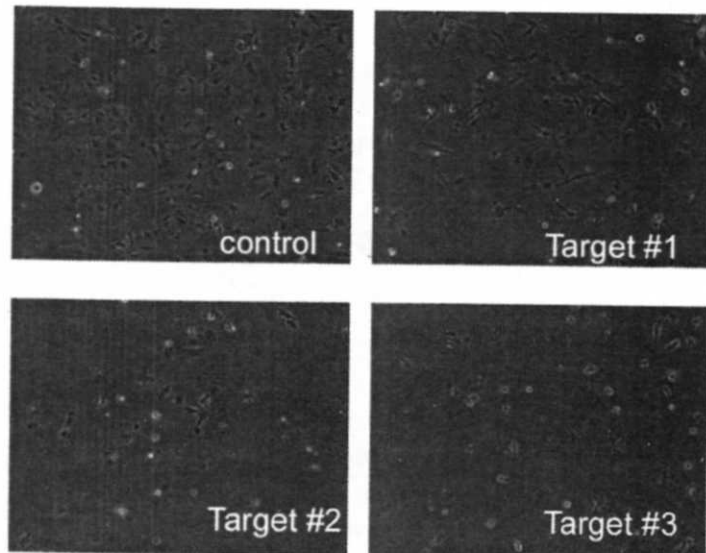


図2

今後さらに運動の阻害のメカニズムを明らかにするための実験が必要である。

II (1) 学術雑誌等に発表した論文A (掲載を決定されたものを含む。)

共著の場合、申請者の役割を記載すること。

(著者、題名、掲載誌名、年月、巻号、頁を記入)

Atsushi Inoue, Shinya Y. Sawata, Satashi Fujita, Kazunari Taira. Additional RNA-Protein interactions facilitate *in vitro* selection by ribosome display. *Chemistry Letters*, 2005, January, 34 (1), 26-27

澤田慎矢、井上敦、多比良和誠、RNA工学的手法を用いた新規 *in vitro* ペプチド選択システムの開発、最新医学、2004、8月、59巻(8)、101-112

氏 名 井 上 敦

Ⅱ (2) 学会において申請者が口頭発表もしくはポスター発表した論文

(共同研究者 (全員の氏名)、題名、発表した学会名、場所、年月を記載)

ポスター発表

井上敦、澤田慎矢、多比良和誠、細胞内抗体を用いた細胞制御技術とその遺伝子治療への発展、遺伝子・デリバリー研究会、京都、2004年5月