

精密質量分析計を用いたナノLC-MSによる プロテオーム解析

大阪ラボラトリー 一番ヶ瀬 智子

1 はじめに

「プロテオーム解析」を簡単に定義づけると「タンパク質を網羅的に解析すること」です。それでは網羅的に「解析する」とはどのような意味でしょうか？これは「プロテオーム」の言葉の成り立ちにヒントがあります。ご存じの方も多いかもかもしれませんが、もともと「プロテオーム (proteome)」とは protein (タンパク質) と genome (ゲノム) を組み合わせた造語で、ゲノムが一個の生物の持つ全ての遺伝情報を指すのに対し、プロテオームは、細胞内で発現している (発現する可能性をもつ) 全タンパク質を指します。すなわち、発現している全てのタンパク質を「同定」し、個々のタンパク質の「機能」およびタンパク質同士の「機能的なつながりを解明する」ことが、網羅的に「解析する」の意味になります。

2000年初頭から罹患者と健康人におけるタンパク質発現の比較 (いわゆる発現プロファイリング) を行うことで、創薬標的分子や疾患バイオマーカーなどの疾患関連タンパク質に関する研究が盛んに行われました。しかしながら、推定 100 万個以上とされているヒトタンパク質¹⁾の全てを同定し、機能を解明、更には相互作用まで調べるのは現実的ではなく、実際には存在量の多いタンパク質しか同定できませんでした。このように技術的に不完全であるにもかかわらずタンパク質の解析がなぜ必要なのでしょう？それは、生体内の実働分子であるタンパク質を直接的に解析できること、さらにはゲノム情報だけでは分からないタンパク質の相互作用や翻訳後修飾の状態が分かるからです。このようなプロテオーム解析の必要性から、ここ数十年で LC/MS/MS の技術は飛躍的に向上し、現在は先に挙げた制約が少しずつ解消されています。最近では DNA などのゲノム創薬研究ではなく、タンパク質に関連する様々な解析手法が創薬研究における様々な課題解決に一役買っています²⁾。例えばタンパク質発現プロファイリングや薬剤の結合タンパク質を同定するケミカルプロテオミクス、MS のプロダクトイオンを連続かつ選択的に検出する技術を用いた個別タンパク質定量、リン酸化プロテオミクスなどに代表される翻訳後修飾解析、タンパク質複合体解析などがあります。



図1 Ultimate3000RS nanoLC- Q Exactive™ MS 外観

2 分析装置・システムの例

当社では、バイオ医薬品、法医中毒学研究、臨床およびトランスレーショナル研究、環境および食品検査の複雑なマトリックスアプリケーションで低量化合物のターゲット分析およびハイスループット分析に最適な機能を有する Q Exactive™ 質量分析計を使用しています (分解能: 140,000, 質量精度 (内標準): < 1 ppm)。これに微量の試料で感度が得られるようにナノ LC システムを接続しています (図 1)。プロテオーム解析ソフトとしては Thermo Scientific™ Proteome Discoverer™ を採用し、タンパク質とペプチドの同定から翻訳後修飾解析、等圧質量タグ付け、安定同位体標識とラベルフリーの両方の相対定量まで、複雑な生物学的サンプル中のタンパク質の同定と定量を行っています。

近年では、細胞外小胞 (エクソソーム) の分離精製からエクソソーム内包タンパク質のプロテオーム解析を実施し、分画遠心した隣がん細胞エクソソーム内から GTP 結合タンパク質 (Ras ファミリーなど) や膜タンパク質 (テトラスパニン群、インテグリン、SLC トランスポーターなど) を見出しています³⁾。

3 おわりに

未だに治療方法が確立されていない疾病の医薬品に対する社会的ニーズ、いわゆるアンメット・メディカル・ニーズに対応する新薬の創出には、タンパク質に関する情報は重要です。特に、「がん」や「遺伝子疾患」の分野において、遺伝子変異の結果翻訳されたタンパク質がどのようにホメオスタシスを破断させ、機能異常に繋がるのかを探索するには、ゲノム解析から得られる結果だけでなく、プロテオーム解析で得られる情報が重要となります。その他、疾患発症の分子メカニズムの解明ができれば、治療標的の探索やバイオマーカーの開発も可能となります。当社は miRNA や遺伝子変異解析も併せて実施することによりお客様のニーズにお応えしてまいります。

文 献

- 1) O. N. Jensen: *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **8**, 33 (2004) .
- 2) 横田博之: *Proteome Letters*, **3**, 31 (2018) .
- 3) 高橋昭博, 丸谷曜子: SCAS NEWS 2017-II, 21 (2017) .



一番ヶ瀬 智子
(いちばんがせ ともこ)
大阪ラボラトリー