

2003年2月27日(水) 15:25~15:50

プロテインチップによるバイオマーカー探索及びタンパク質精製の迅速化

サイファージェン・バイオシステムズ株式会社
副社長
唐沢 毅

プロテインチップシステムの原理と研究対象

サイファージェンのプロテインチップシステムは、タンパク質の発現解析、相互作用、翻訳後修飾などの機能解析や、目的タンパク質の精製・同定などを効率的に行うことを目的として開発されたシステムです。プロテインチップシステムは、タンパク質の解析に適した様々な化学的性質をスポット表面にもたせたプロテインチップと、測定に用いるプロテインチップ・リーダー（飛行時間型質量分析計 = TOF-MS）および測定・解析のためのソフトウェアを装備したコンピューターから構成されます。血清、尿、髄液、関節液、唾液、組織ホモジネートなどの生体サンプルや細胞培養上清、培養細胞破碎液など、タンパク質を含有する多様なサンプルの中からプロテインチップのスポット表面に対する親和性を利用して目的タンパク質を捕捉し、その質量数を測定します。本システムの特徴は、少量のサンプルからラベルやタグを使わずに、多検体を、短時間に、定量的に、その質量数に基づいて簡単に分析することができることにあります。プロテインチップシステムは現在、世界各国の大学、病院、製薬関連企業などで疾患マーカータンパク質の探索や毒性の評価、あるいは特定の分子と相互作用する分子の探索といった幅広い分野で使用されています。

プロテインチップ（アレー）の種類と特徴

プロテインチップには大きく分けて2つの種類があります。主に発現解析や精製・同定にはケミカルチップを、また特異的な結合（相互作用）の評価にはバイオロジカルチップを使用します。ケミカルチップのスポット表面には、疎水性基、陽イオン交換基、陰イオン交換基、金属イオン固定基（IMAC）または順相基が固定化されています。一般的なクロマトグラフィーと同様に、これらの交換基が一定の反応条件下で生体サンプル中のタンパク質を捕捉します。バイオロジカルチップにはカルボニルジイミダゾール基、またはエポキシ基がスポット表面に固定化された2つのタイプがあります。これらのスポット上には抗体や受容体タンパク質、あるいはDNAなどを簡単に固定化することができ、研究目的に合わせた相互作用チップを簡単に作製することができます。

解析手順

プロテインチップシステムによる解析は、サンプルの添加 → 洗浄 → エネルギー吸収分子（マトリックス）の添加 → TOF-MSによる測定 → データ解析という流れで進みます。サンプル添加（ ）では、1~数百μlのサンプルをプロテインチップ上のスポット（直径2mm）に添加します。洗浄ステップ（ ）において、特定の条件下でスポット上に捕捉されるタンパク質が選択されるので、例えば粗サンプル中の微量成分を前処理なしで測定することが可能です。また、スポット上に残存する塩類を測定前に、簡単に除去することができます。

アプリケーション例

1. Zhang, L. et al., Contribution of human α -defensin 1, 2, and 3 to the anti-HIV-1 activity of CD8 antiviral factor. *Science*, 298, 995-1000, (2002)
2. Adam, B. et al., Serum protein fingerprinting coupled with a pattern-matching algorithm distinguishes prostate cancer from benign prostate hyperplasia and healthy men. *Cancer Research*, 62, 3609-3614, (2002)
3. Zhang, Li. J. et al., Proteomics and bioinformatics approached for identification of serum biomarkers to detecting breast cancer. *Clinical Chemistry*, 48, 1296-1304, (2002)