



TGACCTTGAATGAGTGCAGCGAGGTCATGACGAAC

プロテオミクスを用いた 網羅的解析法

東京大学大学院新領域創成科学研究科ファンクショナルプロテオミクスセンター先端ゲノミクス研究部門ゲノム制御医科学分野

植田 幸嗣

Koji Ueda

(特任准教授)

ACTGGAACCTTAGTCCAGTCCAGTACTGCTTG

Summary

この10年あまり質量分析技術はハードウェア、ソフトウェアともに劇的な進化を続けており、培養細胞、組織切片、血清などのサンプルから数千〜一万種類の蛋白質を同定、定量化することも可能となっている。こうした「網羅的プロテオーム解析」からは特定の疾患依存的に変動を示す蛋白質や翻訳後修飾を一挙に知ることができるため、基礎病態解析研究から分子標的治療薬・診断薬の探索研究まで応用範囲も多岐にわたる。質量分析の高速性、網羅性を活かした臨床検査もすでに実用化されはじめていますので、今後は診療の現場においてもさまざまな質量分析アプリケーションが登場してくることになるだろう。本稿では質量分析計を用いた網羅的蛋白質解析の基本的な流れと原理を概説し、どのような最先端医学研究に用いられているかを事例とともに紹介する。

Surgery Frontier 22(2) : 72-76, 2015

Key Words

蛋白質, ペプチド, プロテオミクス, 質量分析, LC-MS

はじめに

癌をはじめ、ゲノム上の異常が原因となって発症する疾患は数多い。しかしながら、病態の発現や免疫応答など実際に細胞の内外において機能を発揮するのはその産物である蛋白質であり、さらには蛋白質間相互ネットワークや翻訳後修飾シグナルである。5,000種類以上の mRNA と蛋白質を絶対定量化して厳密な量的相関を調べた研究では、双方に $R^2 = 0.41$ ほどの関連しかないことが明らかとなっており、ゲノム解析から得られた情報が必ずしも定量的に蛋白質の発現量や細胞の表現型とリンクするとは限らない¹⁾。したがって、生体内で具体的な機能を担っている蛋白質を直接定量化可能なプロテオーム解析技術は、大規模ゲノム解析が安価に実施されるようになった今なお生命科学の重要なピースとなっている。

特に質量分析法は、John Fenn 博士や田中耕一氏が2002年ノーベル化学賞を受賞して以来急速な進歩を遂げ、

なかでも最も頻用される LC-ESI-MS (液体クロマトグラフエレクトロスプレーイオン化質量分析計、単に LC-MS とも呼ぶ) は複雑なミクスチャーサンプルから個々の蛋白質質量変化だけでなく、リン酸化、メチル化など疾患によって変動する翻訳後修飾全般の挙動も同時に検出できる点で、非常に強力な分析手法である。培養細胞や組織、血清といった複雑な蛋白質混合物から網羅的に含有蛋白質を同定、定量化する手法は「ショットガンプロテオーム解析法」と呼ばれ、バイオマーカー開発や新規治療標的分子の探索研究に用いられている。

質量分析の原理

代表的な LC-MS の構成を図1に示す。原則的に質量分析装置は蛋白質のような高分子の分析では高感度を発揮できず、質量4,000以下程度のペプチドにまで消化酵素(トリプシンなど)で消化する必要がある。消化されたペ