

Point

河川、溪流、海岸沿いなどで水面に泡が浮いていることを見かけることがあります。この泡の原因は洗剤などの人為由来と、微生物や落葉などからの粘性物質による自然由来のものとが知られています。ここでは、河川で見られた泡の原因をプロテオーム解析で解明した結果を紹介します。このようなアプローチは環境分野では初めての試みと言えます。

## プロテオーム解析を利用した環境中タンパク質の同定

生命ソリューション本部・大阪支社 環境化学グループ 小玉 一哉、栗田 智

### プロテオーム解析とは

タンパク質の網羅的解析をプロテオーム解析と呼びます。タンパク質は卵の白身やアミラーゼなどの酵素類、動物の筋肉などの素となる物質で、たくさんのアミノ酸がつながった化学構造を持ちます。生命体は無数ともいえる種類のタンパク質同士が働きあって生命を維持していることから、たとえば、ある病気の予防に関係しているタンパク質をすべて網羅的に調べて、新しい治療方法を開発するための情報を得る、といった方法が考えられます。この情報を得るための方法がプロテオーム解析であり、先端バイオ技術のひとつとなっています。

### どのような方法か

プロテオーム解析に使う主な道具は、タンパク質分離装置、質量分析計、アミノ酸(遺伝子)配列データベースです。タンパク質分離装置はSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動装置を使います(写真1)。質量分析計は、当社ではMALDI型質量分析計を使用しています(写真2)。アミノ酸配列は、国立バイオテクノロジー情報センターなどのデータベースを利用して検索します。

方法論自体は簡単ですが、的確な解析を実施するためには、タンパク質同士を体系化(プロファイリング)できる技術と経験が必要です。

### 河川に浮かぶ泡の原因

宇治川において、ある時期にたくさんの泡が目撃され、「その原因は何か？」について2年間調査が続いていました。2007年度には、泡に多糖類やタンパク質の一部が含まれていることまでは分かってきましたが、直接の原因が何かは不明のままでした。

当社は、2008年度にこの調査を引き継ぎ、プロテオーム解析を応用して、現在登録されているすべてのタンパク質のアミノ酸配列が検索できるデータベースを利用して、泡のタンパク質から直接の原因を解明することを提案しました。

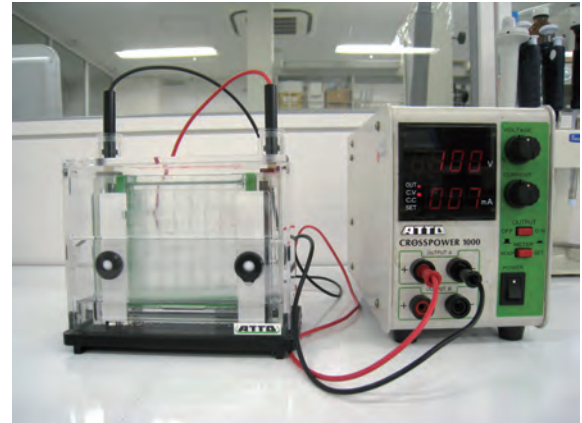


写真1 SDSポリアクリルアミド電気泳動



写真2 MALDI型質量分析計

### 泡の原因解明方法

河川水からプランクトンネットで泡だけをこし分けて、遠心分離、凍結乾燥などの前処理後、電気泳動装置でタンパク質を分離しました。分離したタンパク質のうち、量の多い2種類を選び、それぞれを、質量分析計で分析しました。質量分析から推定されるアミノ酸配列を有するタンパク質をデータベースから検索しました(図1)。

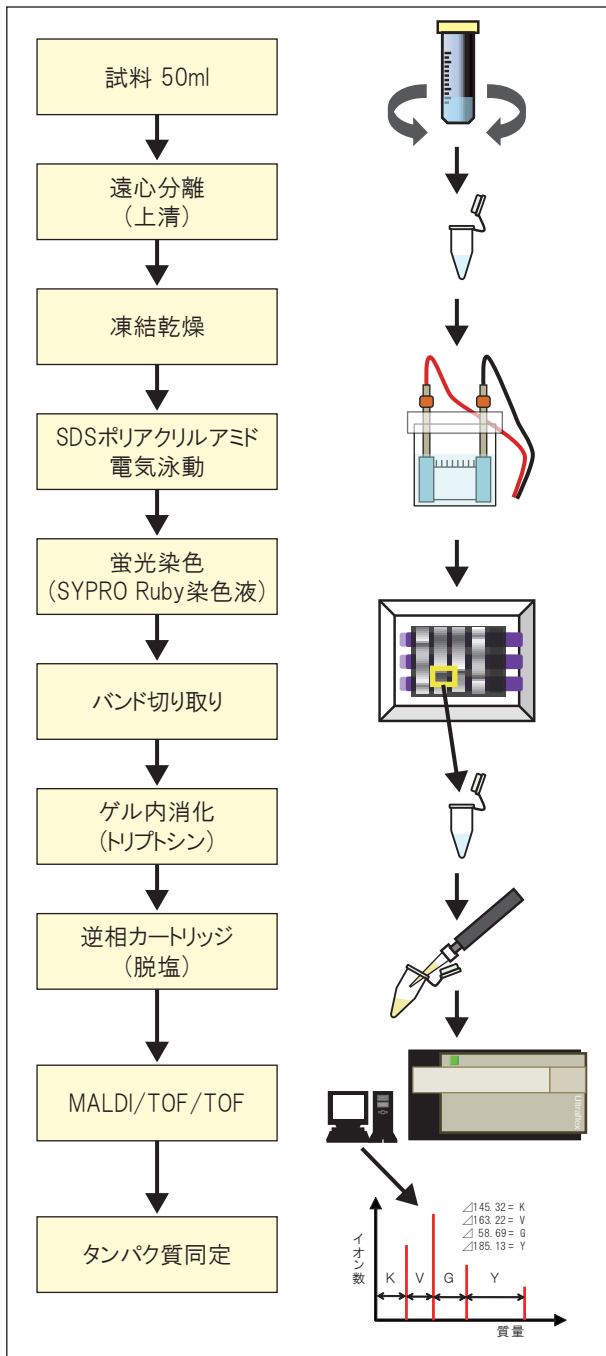


図1 分析方法

### 泡の正体

図2は、図1の電気泳動からMALDI/TOF/TOFまでの工程を示したものであります。泡に含まれる2つのタンパク質のうち、ひとつはクサレケカビ属が持っているアクチンというタンパク質であり、もうひとつはコケの一種に共生している窒素固定藍藻類が持っているNpun\_R4931というタンパク質でした。いずれのタンパク質もカビや藍藻などの生物由来のものであることが分かりました。

これまでに、環境水に浮遊する泡状物質については、

その原因物質として多糖類やタンパク質、あるいは洗剤、界面活性作用のある物質などの個別物質分析が行われています。しかし、それらが何に由来するのかを解明することは困難でした。今回のように、泡のタンパク質のアミノ酸配列を調べて、泡の直接原因を一気に解明する、といったアプローチは環境分野では初めての試みと言えます。

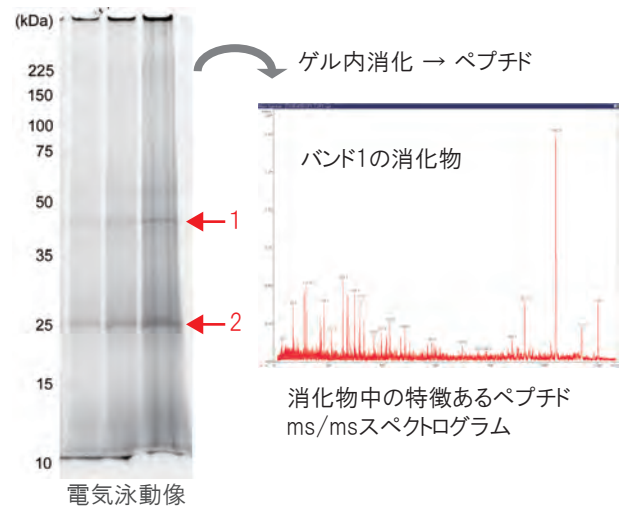


図2 泡に含まれるタンパク質

### 今後の展開

今回はプロテオーム解析を主にタンパク質の種類を解明することに活用しました。

しかし、プロテオーム解析の本来の活用方法は、複数のタンパク質の挙動を体系化することにより、病気を含めたいろいろな生命活動を解析することです。ここで、環境をひとつの生命体と考えて、環境中に存在するタンパク質を解析して体系化する、という方法は、環境を改善するための重要な情報を与えてくれるものと期待しています。たとえば、環境中のタンパク質から微生物のタンパク質を選び出し、微生物の存在状況を網羅的に解析して、生分解性の状態を把握する、といった新たな調査方法に活用していきたいと考えています。

### おわりに

当社は、プロテオーム解析以外に、リアルタイムPCR、マイクロプレートリーダー、蛍光顕微鏡など、遺伝子解析、微生物解析のための最新機器も保有しております。この分野での試験や実験等の計画をお持ちでしたら、是非、当社にご相談ください。

[参考資料]

第18回環境化学討論会講演要旨集,248-249(2009)