

Point

タンパク質は生物体の機能と構造において極めて重要な働きをしています。当社では、タンパク質とその変化をプロファイリングするプロテオーム解析からタンパク質の構成成分であるアミノ酸分析まで、トータルにサポートしています。

生命現象を追求するタンパク質解析技術

食品・生命科学研究所 プロフェニックス事業部 角井 良太、池庄司 博文

はじめに

ある生物が持つ全遺伝情報の一式をゲノム(genome)といい、さまざまな種を対象としてゲノムを構成する塩基配列が解析されています。生物体内では遺伝情報に対応してタンパク質が合成され、生命現象の中心となる機能を担っています。タンパク質の量的・質的な変動を解析することによって、静的なゲノムの塩基配列解析とは異なり、変化する生命現象を捉えることができます。

プロテオーム解析

プロテオーム(proteome)とは、ゲノムの各遺伝情報に対応して細胞内で合成される全タンパク質を意味します。プロテオーム解析は、二次元電気泳動(以下、2DE)と質量分析(以下、MS)という基盤技術を組み合わせて行います(図1)。2DEで検体中のタンパク質を数千個のレベルで分離します。その後分離された一つ一つのタンパク質についてMSを行い、アミノ酸の質量を読んでいます。

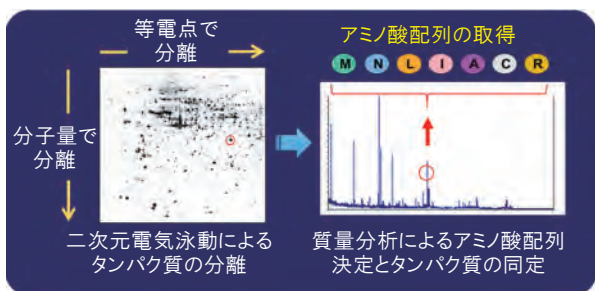


図1 プロテオーム解析の流れ

こうして、アミノ酸のつながりである個々のタンパク質を同定し、生命現象の意味を生化学的に明らかにします(図2)。

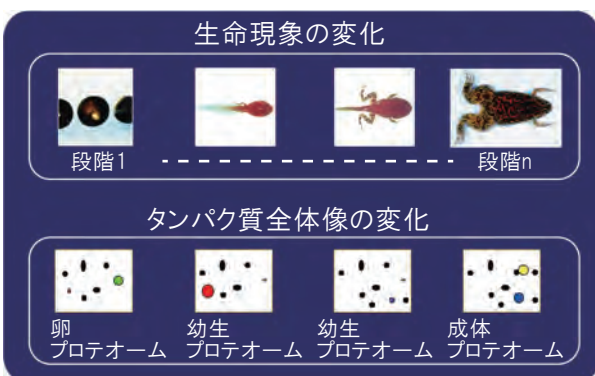


図2 プロテオーム解析による生命現象把握のイメージ

誕生、成長、老化、死。移りゆく現象は、タンパク質の変化そのものであると言って過言ではありません。生命のある瞬間は、次の瞬間と比較することではじめてその変動を解析することができます。

(1)主な活用分野

プロテオーム解析技術は以下の分野で活用できます。

- ① 疾病の指標となるタンパク質の探索
- ② 創薬、医薬品開発支援
- ③ 医療・分析機器の評価、試験
- ④ 機能性食品、飼料の効能評価
- ⑤ 有用品種の選抜
- ⑥ 環境水・土壌プロテオーム
- ⑦ 新材料素材開発支援

(2)プロテオーム解析技術の活用例

疾病の指標となるバイオマーカーは、創薬・医薬品開発プロセスで重要な役割を果たします。血液にはタンパク質バイオマーカーが必ず含まれ、採取の際の侵襲性が低いため、研究・診断・創薬の対象となっています。しかし、血液にはアルブミンをはじめとする含量が極めて高いタンパク質が存在することが障害となってきました。

当社では、数種のタンパク質に対する抗体カラムを用いて血清中の高含量タンパク質を取り除き、バイオマーカーとなる低発現タンパク質を解析します。処理後のサンプルは、高い分解能を持つ大型二次元電気泳動でプロファイルされ、微量のバイオマーカーの検出を可能にします(図3)。

- 血清タンパク質の90%以上を除去し、サンプル中の微量タンパク質を10倍以上に濃縮
- 対象サンプル: 血清、関節液、脳脊髄液等
- 対応生物種: ヒト、マウス、ラット
- 除去タンパク質: アルブミン、イムノグロブリンG、イムノグロブリンA、トランスフェリン、アンチトリプシン、ハプトグロビン等

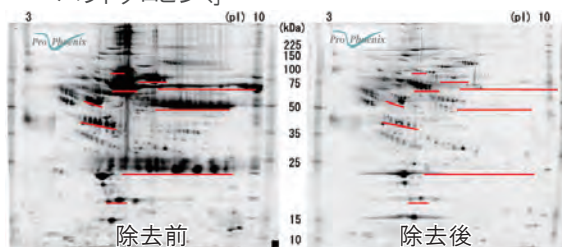


図3 抗体カラムによる血清中の高含量タンパク質の除去

アミノ酸分析

遺伝情報に直接規定されタンパク質を構成するアミノ酸は20種類あります。生物体をつくる基本部品となるアミノ酸の分析は、食品科学・生命科学の分野で、先端研究や開発を支えるために欠かせない分析技術です。

分析項目には以下の二つがあり、液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて、検体中のアミノ酸の構成比率と量を分析します。

○総アミノ酸分析

タンパク質を構成するアミノ酸を定量します。食品の栄養機能評価等で広く用いられています。

○遊離アミノ酸分析

タンパク質を構成せずアミノ酸の状態で存在するアミノ酸(遊離アミノ酸)を定量します。味覚成分として食品を評価したり、血中アミノ酸を測定することで、健康評価・病態予測の指標とします。

色の違うミニトマトの遊離アミノ酸分析を行った結果を表1および図4に示します。遊離アミノ酸の合計値は100gあたり97mgから190mgまで、およそ2倍の差があることが分かりました。

表1 ミニトマトの遊離アミノ酸分析結果

溶出順	アミノ酸名	分子量	定量値(mg/100g 湿重)			
			赤	黄	緑	黒
1	アスパラギン酸	133.1	37	38	18	16
2	グルタミン酸	147.1	102	103	39	21
3	アスパラギン	132.1	5	6	6	10
4	セリン	105.1	1	3	2	2
5	グルタミン	146.2	22	36	29	46
6	ヒスチジン	155.2	2	1	1	1
7	グリシン	75.1	N.D.	N.D.	N.D.	0
8	トレオニン	119.1	0	0	0	1
9	アルギニン	174.2	1	1	1	1
10	アラニン	89.1	2	3	2	2
11	チロシン	181.2	0	N.D.	0	0
12	シスチン	240.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
13	バリン	117.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
14	メチオニン	149.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
15	トリプトファン	204.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
16	フェニルアラニン	165.2	0	0	0	0
17	イソイロイシン	131.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
18	ロイシン	131.2	0	0	0	0
19	リシン	146.2	1	1	1	1
20	プロリン	115.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
合計			170	190	97	100

N.D:検出下限値未満

■:アミノ酸定量値

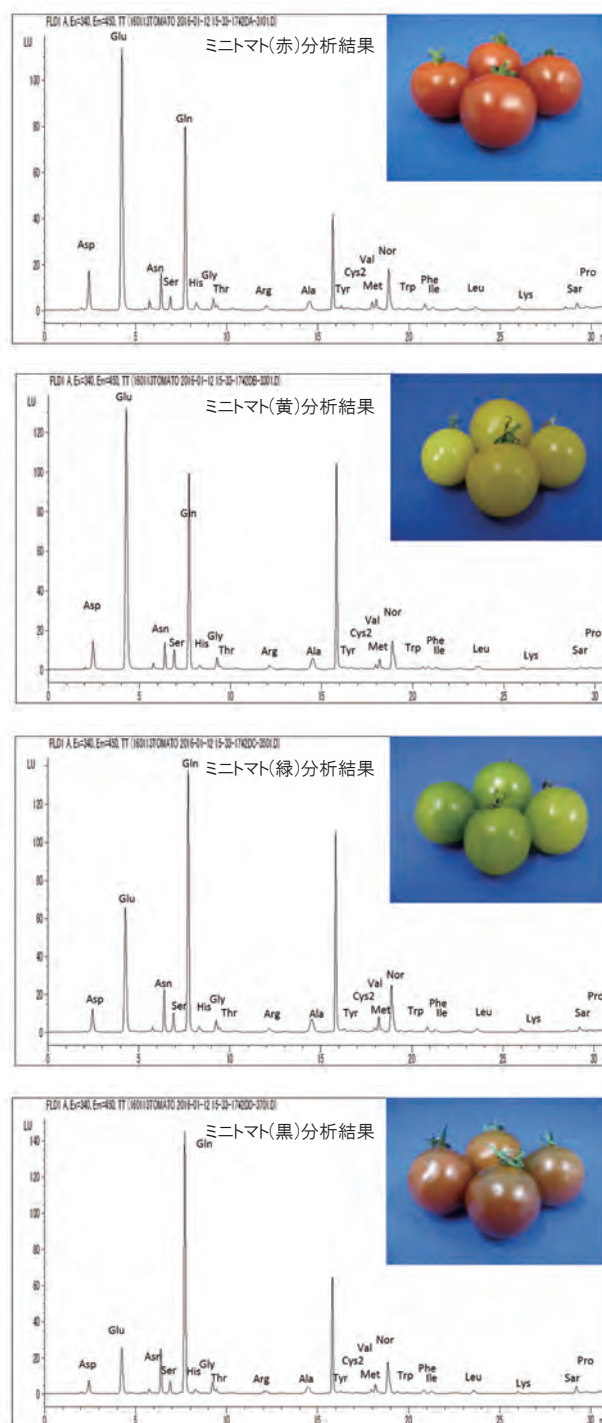


図4 ミニトマトの遊離アミノ酸分析結果

おわりに

当社は、お客様の多様なご要望に応えるべく、ほぼオーダーメイドのカスタム解析をご提供し、さまざまな種類の検体に対応しております。

ご要望に関連する文献を綿密に調査し、分析法を確立し、最適な前処理を行い、精度管理を経ることで、信頼性の高いデータをご提供いたします。

当社Webサイトに「タンパク質解析(プロテオーム解析)受託サービスカタログ」を掲載しております
<http://ideacon.jp/technology/leaflet/environment.html>