

令和6年度（2024年度）生物部会

テーマ：プロテオーム解析手法によるタンパク質の網羅的相対定量の実践：
培養細胞を対象として

（主担当：小島主任研究員、副担当：渡邊主任研究員、南谷副主幹研究員、柳橋主任研究員）

プロテオーム解析は、変動するタンパク質の発現量を直接的かつ網羅的に解析することが可能なため、新規創薬標的分子や疾患バイオマーカーの探索、薬理作用の解明などに活用されており、医薬品産業の発展に大きく寄与している。近年の質量分析計の進歩とともに、プロテオーム解析技術も大きく発展しており、検出感度、定量再現性、網羅性等も飛躍的に向上し、複雑であったサンプル前処理についても市販のキットを利用することにより、簡便かつ迅速に実施することが可能となってきた。

薬事総合研究開発センターではこれまでに、ナノ液体クロマトグラフィオントラップ型質量分析計（Orbitrap Fusion Lumos, ThermoFisher SCIENTIFIC）（図1）を用いて、1）同位体標識試薬を用いた相対定量プロテオーム解析、2）リン酸化プロテオーム解析、3）相互作用タンパク質解析、4）バイオ医薬品中の不純物である宿主由来細胞タンパク質（HCP）の解析について検討し、プロトコール化を進めてきた。令和6年度の生物部会では、プロテオーム解析で可能なこと、およびその技術を実際に経験することを目的として、1）同位体標識試薬を用いた相対定量プロテオーム解析を実施する。本部会では、異なる質量のレポーター部位とバルンサー部位とを組み合わせることで同一の質量をもたせた同位体標識試薬である Tandem-mass tag (TMT)を用いて、試料中の



図1：ナノ液体クロマトグラフィオン
トラップ型質量分析計

タンパク質（ペプチド）を標識し、MS/MS スペクトルにおけるレポーター部のイオン強度により異なる試料中のタンパク質発現量を相対的に定量する。薬物処理した培養細胞を試料とし、非処理の細胞と比較してタンパク質発現量の変化を網羅的に調べ（図2）、プロテオーム解析の経験を深める。使用する薬物の種類は、参加者の希望を募った上で選定する。

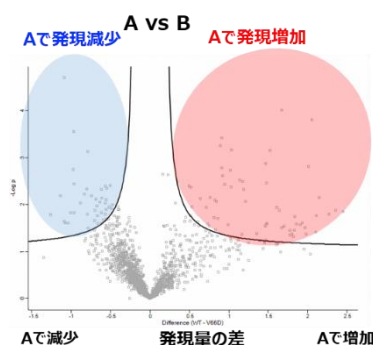


図2：培養条件の異なる細胞（A，B）
間におけるタンパク質発現量比較の例
（ボルケーノプロット）