



TSMM 最先端医学研究セミナー

# 臨床プロテオミクスの最新技術

～レーザーマイクロダイセクション / 前処理技術 / LCMS 解析による新たな臨床プロテオーム解析法の開発



開催日時：2008年7月25日（金） 17:00～18:00

開催会場：医学学群棟4A411

セミナーお問合せ先：森川一也 morikawa@sakura.cc.tsukuba.ac.jp

共催：筑波分子医学協会（総会長 金保安則）

本セミナーは最先端医学研究セミナーの単位に換算されます。連絡先：大根田修（2938）熊谷嘉人（3133）

1

## プロテオーム解析によるバイオマーカー探索

～組織から血液への新しいプラットフォーム：ホルマリン固定組織を用いたプロテオミクス～

17:00-17:40

● 板東 泰彦 エーエムアール株式会社

元来、臨床プロテオーム研究では血漿（プラズマ）などの浸襲性の低い臨床検体が望まれる。然しながら、プラズマ・プロテオミクスの大きな壁はタンパク質の存在様式にある。数十しかない古典的なプラズマタンパク質が90%以上を占め、癌組織など病態の重要な情報をもつ漏洩タンパク質や分泌タンパク質の量は非常に少ない。例えば、前立腺癌の既知マーカーであるPSAは、血液1 mL中正常で数ナノグラムしかない。一番多いアルブミンは約50ミリグラムであり、7桁以上の大きなダイナミック・レンジのギャップがあるため、直接プラズマを探索的に解析する血漿プロテオミクスは困難である。

本講演では、ホルマリン固定組織からのタンパク質可溶化技術を利用して、特殊コートされたスライドガラス上に固定されたがん組織から精密に疾患部（がん部）や間質部を最新のレーザーマイクロダイセクションによってコンタミフリーでバッファーに直接分取・回収しLC/MSシステムによる解析を行うことにより疾患部特有のタンパク質を同定（Discovery Proteomics）し、レトロスペクティブにマーカー探索を行う新しいプラットフォーム、及び実サンプルを利用したがん組織からのバイオマーカー探索技術の実際とそれらバイオマーカー候補蛋白質の定量を抗体ではなく質量分析装置を用いた定量アッセイ技術について紹介する。

2

## 標的タンパク質の確認と MRM assay

17:40-18:00

● 津幡 卓一 アプライドバイオシステムズジャパン株式会社

### 標的タンパク質確認の意義

質量分析計などで特定条件下の試料中に検出できたタンパク質が本当に存在するかどうかの確認は非常に重要である。特に、HUPOではタンパク質の同定には2本以上のペプチドが必要としている。例えばヒト血液中から1本以上のペプチドでは9504タンパク質、2本以上では3020との記述がある。バイオマーカー探索などでタンパク質が検出できたとき、確実にあるかどうか、2本以上のペプチドを検出できるかどうかは非常に重要と考えられる。

### MRM (Multiple Reaction Monitoring) assay

タンパク質の1本のペプチドしか検出できていないとき、そのタンパク質からプロテアーゼ消化で生じると思われるまだ検出できていないペプチドと質量分析で生じるフラグメントを予想できる。しかもペプチドとフラグメントはそのペプチドに固有なものであるため、これをセットにして質量分析計内でそのペプチドのm/z、フラグメントのm/zのみを通過できるようにすると、複雑なタンパク質から生じたペプチドの混合物の中から特定のペプチドを選び出せる。このペプチドとフラグメントのm/zのセットを多数組み合わせることが可能で、つまり一度に100-1000ペプチドの検出が可能であるためmultiple reaction monitoringと言われている。さらにこのMRM assayは検出しにくいペプチドを感度良く、検出できるだけでなく、定量が可能となる。疾病特有なタンパク質や翻訳後修飾ペプチドなど抗体を使用しなくとも検出できるようになる。

