

質量差付加により蛋白質を分別定量する技術

新規標識化合物の開発

(1) シーズ概要

生体試料中に含有する数千～数万種類の蛋白質の量的変動を正常と比較することにより、病気の診断情報を得、測定対象が血液ならばその蛋白が由来する病気の原因臓器の推測も可能になる。

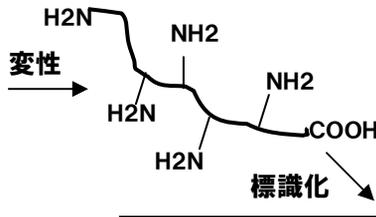
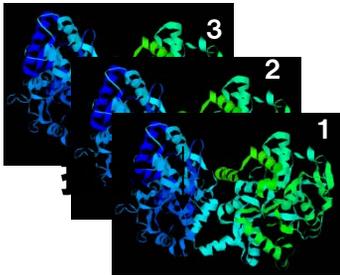
このために、複雑な操作を排して、簡単で信頼性の高い検査方法が必要である。蛋白質に共通に存在するリジン残基と反応して質量差を与え、正常試料と混合した複数の検体試料中の数千～数万種の蛋白質の量を相対比較する。質量差を与えるためには、アミノ基と特異的に反応する化学構造は等しいが分子量が異なる同位体(2D, 13C, 15N, 18Oなど)標識化合物を作製することが必要となる。この目的に合致する化合物シーズから新しい標識化合物を作製、利用法を開発した。

(2) これまでの研究成果

最大3種類のサンプル中の
代表蛋白質の例(含量が異なる)
リジン-ε-アミノ基

新規同位体標識化合物
(新規アミン反応性試薬)

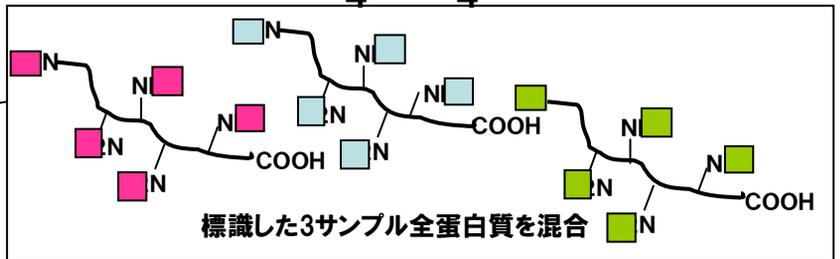
同一化学構造をもつが、
13Cの導入により化合物間
相互の分子量差を4とした。



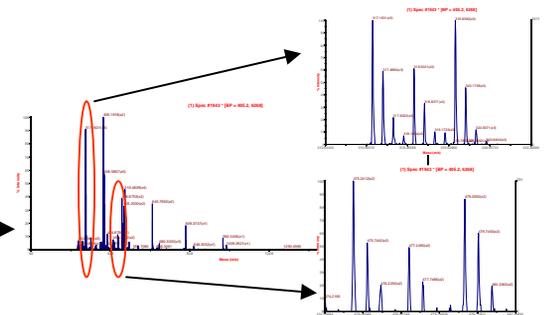
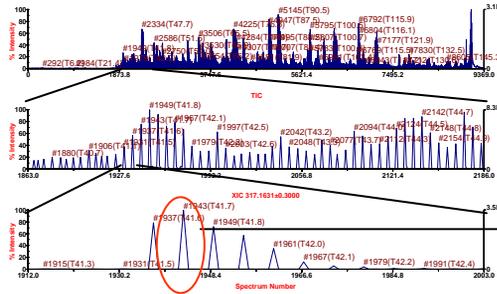
3種の細胞抽出液中の蛋白質の比較
(細胞含有全蛋白質: 数千～数万種の
代表としてのイメージモデル蛋白)

ゲル内消化
ペプチド

ゲル分画
(SDS-PAGE)



TIC (total ion chromatogram)



ゲル電気泳動分離された画分(25画分中の1)中においても1800種のペプチドが分離され、その内の約400種が標識されていた。その標識物の示す質量差4のスペクトルピーク高さは2:1:2となり、混合割合を正確に反映することが判明した。

(3) 新規性・優位性、適用分野

同一化学構造を持ち、質量差が4の新規アミン反応性試薬の開発により、原理的に複数の試料中の数千から数万種の蛋白質の存在比が高精度質量分析装置により決定され、一度のトライアルで蛋白質の同定も可能である。

特許出願: 特願2007-164249「同位体化合物を標識として使用するタンパク質の分析方法」

関係論文:

関係企業等: (株) 日立ハイテクノロジーズ