

ユーザー訪問 テカン ジャパン

臨床プロテオミクスの確立を目指して

- 研究者と共に歩むTecanの技術 -

ヒトゲノム塩基配列の完全解読が宣言され、ポストゲノムシーケンス時代が本格的に到来した。一口にポストゲノムというが、その方法論や研究対象はさまざまである。タンパク質解析によるゲノム機能解析、診断や治療にSNPsなどの遺伝子多型や遺伝子の発現量をマーカーとして利用する試みなど、各研究機関、研究者がそれぞれの切り口から研究を進めている。(株)メディカル・プロテオスコープの西村俊秀氏、川上隆雄氏は、医療の現場での体系的なタンパク質解析を目指し、東京医科大学と連携して臨床プロテオミクスを推進している。その高速解析システムには、Tecan Genesis Workstationの柔軟性が大きく寄与している。



株式会社メディカル・プロテオスコープ CTO
東京医科大学臨床プロテオームセンター 教授

西村 俊秀 *Toshihide Nishimura* (左)

株式会社メディカル・プロテオスコープ 課長
東京医科大学臨床プロテオームセンター 助手

川上 隆雄 *Takao Kawakami* (右)

病院と直結した研究体制

SNPsやDNAチップなど、遺伝情報を臨床医療の分野で活かすための研究は、近年数多く行われているが、プロテオミクスにより得られた情報を活かそうという取り組みは、まだまだ例がない。これまでの医薬研究の分野では、モデル動物を使用した研究が一定の成果を挙げてきた。しかし、本質的に薬剤の有効性を確認したり、疾患の機序を解明するためには、ヒトの中でどのような変化が起こるのかを確認しなければならない。「動物で動いたタンパク質が、人間でも動くか」といって、今までの経験から言えばかなり難しいと思います。ヒトの病気を治そうとするためには、臨床の現場で直接確かめることが重要なのです(西村氏)。

プロテオミクスを医療現場で活用する臨床

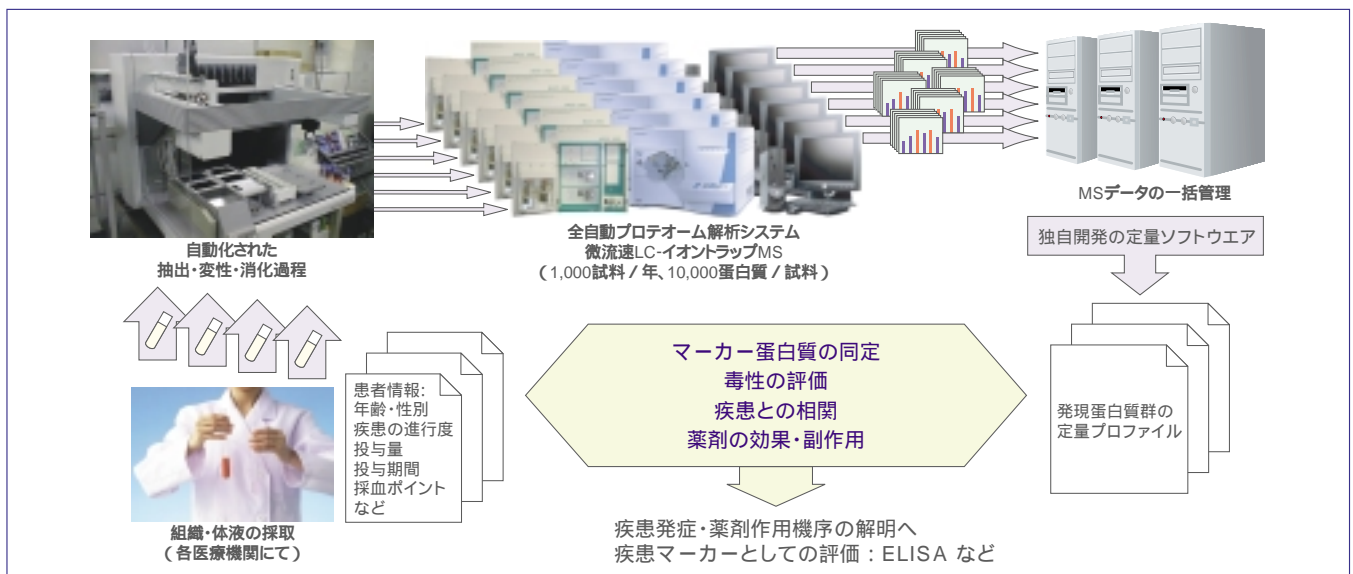
プロテオミクスの確立を目指し、メディカル・プロテオスコープ(MPS)は昨年11月に設立された。中心となっているのは、外資系の製薬企業でプロテオミクスに従事していた研究者たちであるが、他研究機関からも優れた研究者を集めた。MPSの特徴は、東京医科大学と協力関係を築き、研究を行っていることだ。東京医科大学に寄付講座として臨床プロテオミクスセンターを設立し、同大学の22講座と共同研究することで、より多くの患者のタンパク質を解析し、疾患や薬物の作用、副作用に関係するマーカーの発見につなげる狙いである。

大学との全面的な連携は、倫理面のケアが十分に行われるという前提のもと、試料の質が約束されるという大きな強みを生んでいる。「解析試料は臨床治療を受けている患者の血液や組織などです。臨床医が患者の病歴や

薬歴といった試料の背景情報を正確に把握し、添付することで、集団としての試料の質を均整に保ち、目的に合わせてより効果的な解析が可能となります(西村氏)。また、提供される試料は大学の倫理委員会が承認した試料のみで、個人情報の流出など、患者にとって不利益となることが起こらないよう細心の注意を払っている。このような病院と直結したプロテオミクスを展開している企業は世界でも例がなく、MPSの試みは大きな成果が期待されている。

ハイスループット(高処理能)解析システム構築の必要性

プロテオミクスの手法は数多くあるが、現在は、二次元電気泳動と質量分析計(MS)の組み合わせが一般的である。二次元電気泳動



東京医科大学臨床プロテオームセンターにおける解析のワークフロー

学内外の医療施設で採取された組織・体液試料から、発現タンパク質群の定量プロファイルが取得される。同センターではこの間のプロテアーゼ処理およびLC/MSを含む分析過程の自動化を確立し、年間約1,000試料の分析が可能となった。ここでは、採取試料の背景にある患者情報(年齢、性別、疾患の進行度、薬剤投与量、投与期間や採血ポイントなど)の各項目と、タンパク質群の定量情報との相関解析を行う。診断・薬剤効果のマーカーとしての候補分子、あるいは疾患発症に関連するタンパク質群の同定だけでなく、疾患の進行度や薬剤の毒性・リスクファクターに対して定量的な評価を行うことができる。

は分解能力が高く、リン酸化や脂質、糖鎖の修飾といった翻訳後修飾レベルでのタンパク質の解析に適している。しかし、分析できるのは可溶性の高いタンパク質に限られ、表示できるタンパク質の種類も2000～5000ほどである。翻訳後修飾の違いも含めるとヒト細胞には1個あたり1万種類を超えるタンパク質が存在するといわれ、二次元電気泳動ゲルの表示能力が充分でないことは明らかである。また、作業が複雑で研究者の経験による要素が入り込み、同じ操作をしていながら結果が違ってくることもあり、高い再現性が得られないことも問題である。これでは大量の試料の解析は不可能である。

そこで、MPSが開発したのは、液体クロマトグラフィー（LC）とMSを組み合わせた複合システムである。試料タンパク質を液中でペプチドに消化し、多次元LC、そしてMSへと通していく。ペプチドの質量数とアミノ酸配列の情報から、細胞や組織内にどのようなタンパク質が存在するか確認できる。このシステムでは、生体試料中の発現タンパク質を単離するステップを経ずに、混合物の状態での処理することによって、高速かつ確実なタンパク質の同定が可能となった。

二次元電気泳動での検出限界は5ナノグラムである。これでも十分少量に感じるが、1細胞あたりの数に換算すると100万にも及ぶ分子数になってしまう。創薬の対象となるような膜タンパク質は1細胞あたり約1000分子であるため、検出、解析することは不可能だ。しかしMPSの技術を使用すると、約1000分子の微量なタンパク質も検出することができる。この方法は自動化されており、ハイスループット解析が可能である。東京医科大学付属の病院は2020床と大規模であり、臨床プロテオームセンターに持ち込まれる検体も数百単位となることが想定されている。大量の検体を扱ううえでも高速解析は欠かせない。「二次元電気泳動での解析はゲルを使用することもあり、高速化は難しいのですが、LCとMSを一体化したこのシステムでは、1日に2人分の検体を解析できます。この機器は1台で年間200～400人分のプロテオーム解析が可能であり、当センターには6台備わっています。すなわち年間1200～2400件の解析能力があります。日本はもとより、世界的に見てもこれほどの解析能力を持つセンターは他にはありません（西村氏）

高速、微量解析システムをスムーズに稼働させるために、前処理段階の液中消化は非常

に重要な位置を占めている。マニュアルなどを作成し、細心の注意を払いながら作業しても、人が手作業で行うことには誤差が生じてしまう。解析対象となる物質の多くは、1000分子ほどの微量成分である。そこから生体マーカーとなり得るタンパク質を探す。「患者さんの背景にはそれぞれ違いがあるので、1つとして同じ試料はありません。さらに操作するうえでばらつきがあったのでは、結果を見たときに何が起きたのか分からなくなります。ですから、試料の違いを解析するために試料調製の操作は一律な状態を保つことが大切なのです」（川上氏）。そこでMPSでは、Tecan Genesis Workstation RWS100を使用し、どのサンプルからも均一の状態での液中消化が進むようにしている。

柔軟性の高い Tecan Genesis Workstation

Tecan Genesis Workstationは、8本のチップで高速分注を実現し、研究をサポートするだけでなく、チップの本数、間隔、分注速度などを自由に設定でき、分注する容器の種類や形状を問わない柔軟な設計になっている。オプションも豊富であり、各研究室の実験プロトコルに対応したシステムを組むことが可能だ。

「よく誤解されるのですが、市販されている実験装置は、購入し、設置するだけで快適に使用できるものではなく、必ず最適化という操作が必要です。最適化はそれぞれの研究の規模や関連機器の仕様などに合わせて行いますが、装置の中には、カスタマイズの余地が少ない、いわゆる“堅い”装置もあります。そのような装置は、統合された解析フローの中に組み込むことは簡単ではありません。Tecanの装置はとて柔軟性に富んでいるので、組み込みやすく、研究者のニーズもよく考えられていると思います。試料調製ロボットの利用は初めてでしたが、チップ1本1本が液面を独立して感知し、どの容器にも正確に同じ量の試料が入るなど、思っていた以上に器用だと感じました（川上氏）。



MPSのラボ内にて。中央がTecan Genesis Workstation RWS100

技術は「5年もあれば追いつかれてしまう」（西村氏）というが、現状に満足せず、常に次を考え、改良していくことで、次世代につながる技術を手にすることができる。そのようなポリシーを持つMPSは、製品をベースに協力し合い、技術開発に取り組むTecanのスタンスに共感し、研究者と共に優れたシステムを作りあげていく姿勢を支持している。

MPSでは今年5月に機器の設置が完了し、調整段階に入っている。現在、早くも6つのプロジェクトが動き出し、本格稼働を今や遅しと待っている状況だ。

「生命の中の現場で動いているのはプロテオームです。病態、薬理の一番のキーとなる標的分子もタンパク質です。プロテオームを直接攻めることで、それらの標的分子や生体マーカーとなるタンパク質を捕らえていきたいと考えています（西村氏）

生命の設計図は遺伝子から成り立っているが、具体的に生命を構成し、活動しているのはタンパク質である。その意味から、病気にかかったときや薬物の投与で起こる変化は、遺伝子の発現量などより正確に把握できる可能性を秘めている。また、MPSで行うタンパク質解析は定量性が高いため、病態や薬理をこれまでより定量的に捉えることが可能となる。このことは、疾患の分類方法や研究の視点に変化を及ぼすだろう。ポストゲノム時代の医療では痴呆、ガン、高血圧などの5大疾患克服に大きな期待がかけられている。これらの課題を乗り越える成果が、ここから生まれるかもしれない。

テカン ジャパン株式会社

〒183-0023 東京都府中市宮町1-40 明治生命府中ビル
TEL: 042-334-8855 FAX: 042-334-0401

大阪オフィス TEL: 06-6305-8511 FAX: 06-6305-3167

<http://www.tecan.co.jp/> E-mail InfoJapan@tecan.com

