

# PRESS RELEASE

—愛媛大学の先端研究紹介—

令和3年2月19日

愛媛大学

## 質量分析による迅速タンパク質定量法の開発

微量臨床サンプルからウイルスやバイオマーカータンパク質を迅速かつ高感度に検出

### 【ポイント】

- ・ 質量分析と新規ポリアクリルアミドゲル電気泳動技術を組み合わせたタンパク質定量法（BAC-DROP法）を開発
- ・ 従来法では24時間以上かかっていたサンプル前処理を約5時間で完了
- ・ 質量分析によるウイルスや疾患バイオマーカーの迅速検査に応用可能

### 【概要】

近年、タンパク質を高感度に計測できる質量分析の手法を、バイオマーカー診断に応用する取り組みに関心が高まっています。しかし質量分析を用いて臨床サンプルに含まれる微量なマーカータンパク質を検出するためには、現状では24時間以上の煩雑なサンプル前処理が一般に必要であり、診断応用の実現にはサンプル前処理のさらなる迅速化が必要です。愛媛大学学術支援センターの武森信暁講師は、浜松医科大学、北里大学との共同研究により、可溶性ポリアクリルアミドゲルを用いた新規ゲル電気泳動技術を開発し、質量分析のためのサンプル前処理を約5時間で完了することに成功しました。開発技術は質量分析によるウイルスの迅速検査にも応用できると考えられます。

### 【詳細】

質量分析は生体サンプル中のターゲット分子を高感度かつ高精度に計測できる優れた分析手法であり、近年ではバイオマーカー検査において免疫アッセイの代替法としての利用に関心が高まっています。しかし血清や血漿のような臨床サンプルでは、アルブミンに代表される高含有量のタンパク質成分が測定障害となるため、質量分析による微量タンパク質成分の検出は極めて困難な課題です。一方、SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動法（SDS-PAGE）は、容易な操作で生体サンプルから抽出した複雑なタンパク質成分を分離できる手法であり、質量分析で微量なタンパク質成分を検出する際の前処理によく使用されています。しかしSDS-PAGEで分離したタンパク質は、ポリアクリルアミドゲル内部



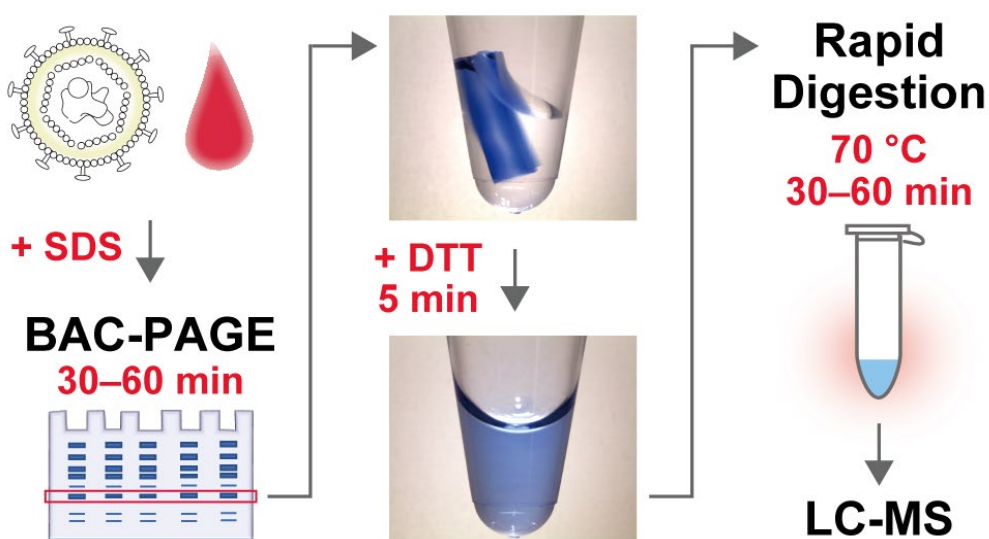
愛媛大学の先端研究が世界をリードします！

<https://research.ehime-u.ac.jp/>

に捕獲されているため、ゲルからの回収にはトリプシンによる 20 時間以上の煩雑な消化処理を行う必要があります。そのため質量分析と SDS-PAGE による迅速バイオマーカー検査の実現には、ゲル内消化時間の大幅な短縮が不可欠です。

本研究では、こうした課題を解決するために *N,N'*-Bis(acryloyl)cystamine (BAC) を架橋剤として用いた可溶性ポリアクリルアミドゲルに着目しました。BAC 架橋ポリアクリルアミドゲルは還元処理により容易に溶解するため、SDS-PAGE で分離したタンパク質を溶液中に損失なく回収することができます。我々は、BAC ゲルから回収したタンパク質を迅速にトリプシン消化するための反応条件を最適化し、質量分析のためのハイスループットなサンプル前処理法である BAC-DROP 法 (BAC-Gel Dissolution to Digest PAGE-Resolved Objective Proteins) を開発することに成功しました。

BAC-DROP による血清サンプルの前処理は約 5 時間で完了し、質量分析を用いて微量血清サンプル (0.5  $\mu$ L) から炎症性バイオマーカー CRP を高感度に定量することが可能でした。また本研究では血清サンプルに含まれる B 型肝炎ウイルス抗原の定量解析にも成功しています。新型コロナウイルスのケースに代表されるように、質量分析によるウイルス感染症検査への関心が急速に高まっていますが、本研究で示した BAC-DROP によるハイスループットなサンプル調製法は、B 型肝炎ウイルスだけでなく他のウイルスの解析にも適用できる可能性があります。



図：BAC-DROP 法を用いた質量分析による血清マーカータンパク質の迅速解析

本研究は、愛媛大学、浜松医科大学、北里大学の共同研究グループにより実施されたもので、研究成果は 2020 年 12 月 24 日に米国化学会の *Journal of Proteome Research* 誌のオンライン版に掲載されました。



愛媛大学の先端研究が世界をリードします！

<https://research.ehime-u.ac.jp/>

### 【論文情報】

掲載誌：Journal of Proteome Research

題名：BAC-DROP: Rapid Digestion of Proteome Fractionated via Dissolvable Polyacrylamide Gel Electrophoresis and Its Application to Bottom-Up Proteomics Workflow

BAC-DROP [可溶性ポリアクリルアミドゲル電気泳動で分画したプロテオーム成分の迅速消化とボトムアッププロテオミクスワークフローへの応用]

著者：Ayako Takemori, Jun Ishizaki, Kenji Nakashima, Takeshi Shibata, Hidemasa Kato, Yoshio Koderu, Tetsuro Suzuki, Hitoshi Hasegawa, Nobuaki Takemori

DOI：10.1021/acs.jproteome.0c00749

URL：<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jproteome.0c00749>

### 【研究サポート】

本研究は、以下のサポートを受けて行われました。

- ・ 日本学術振興会 科学研究費助成事業 新学術領域研究(研究領域提案型) 20H04713
- ・ 日本学術振興会 科学研究費助成事業 基盤研究 (C) 16K08937, 19K05526
- ・ 日本学術振興会 科学研究費助成事業 挑戦的研究(萌芽) 17K19926
- ・ 日本学術振興会 科学研究費助成事業 基盤研究 (B) 17H02206
- ・ 日本医療研究開発機構 JP17ek0109104, JP20ek0109360, JP19fk0310102, JP19fk0310103, JP19bk0104090h0001

### 【本件に関する問い合わせ先】

愛媛大学先端研究・学術推進機構 学術支援センター 講師 武森 信暁

電話：089-960-5499

E-mail：takemori@m.ehime-u.ac.jp



---

愛媛大学の先端研究が世界をリードします！

<https://research.ehime-u.ac.jp/>