

令和 4 年 3 月 3 日
愛 媛 大 学

極微量の細胞サンプルから 迅速で簡便なタンパク質分析を実現

細胞プロテオミクスやタンパク質構造解析のための画期的サンプル処理法の開発

質量分析は医学や農学の分野で広く利用されているタンパク質の優れた分析法ですが、細胞や組織サンプルの解析には複雑で時間のかかる前処理が必要です。愛媛大学学術支援センターの武森信暁講師は、かずさ DNA 研究所との共同研究により、質量分析のためのサンプル前処理の時間を大幅に短縮する画期的な手法「AnExSP」を開発しました。

AnExSP 法を用いることで、従来法では 20 時間以上かかっていたサンプル前処理を、最短 90 分まで短縮することが可能になります。また AnExSP 法は専門性の高い高度な実験技術を用いることなく、微量な細胞サンプルから損失を抑えた再現性の高い細胞内タンパク質分析を可能にします。研究チームは現在までに、AnExSP 法を高感度な質量分析システムと組み合わせることにより、ヒト培養細胞から抽出した 1 マイクログラムのタンパク質成分を用いて約 7000 種類のタンパク質を検出することに成功しており、将来的には医学分野で近年関心が高まっているシングルセル（単一細胞）解析にも利用できる可能性があります。

本研究は 2022 年 1 月 18 日に英国王立化学会の *Chemical Communications* 誌に掲載されました。

つきましては、是非、取材くださいますようお願いいたします。

掲 載 誌: *Chemical Communications*

D O I: 10.1039/D1CC05529A

題 名: Bottom-up/cross-linking mass spectrometry via simplified sample processing on anion-exchange solid-phase extraction spin column

著 者: Ayako Takemori, Yusuke Kawashima and Nobuaki Takemori

責任著者: 武森信暁 (愛媛大学)

取材に関する問い合わせ先
愛媛大学医学部総務課企画・広報チーム
TEL: 089-960-5225
Mai: mekoho@stu.ehime-u.ac.jp

※送付資料 3 枚 (本紙を含む)

極微量の細胞サンプルから迅速で簡便なタンパク質分析を実現

～細胞プロテオミクスやタンパク質構造解析のための画期的サンプル前処理法の開発～

概要

質量分析は医学や農学の分野で広く利用されているタンパク質の優れた分析法ですが、生体サンプルの解析には複雑で時間のかかる前処理が必要です。本研究では、入手しやすい材料で容易に作製できる陰イオン交換固相抽出スピナラムを用いて、サンプル前処理の時間を大幅に短縮する方法を新たに開発しました。この新しい信頼性の高い手法は、専門性の高い高度な実験技術が不要であり、極めて微量の細胞サンプルから再現性の高い質量分析の実施を可能にします。

研究内容

近年、生体サンプル中のタンパク質成分を網羅的に調べるために、質量分析を用いたプロテオミクス研究が盛んに行われています。質量分析でタンパク質を検出するためには、細胞内に含まれるタンパク質成分を抽出し、タンパク質分解酵素で質量分析しやすいペプチドサイズに消化する必要があります。タンパク質の消化には長い反応時間が必要であり、一般的なサンプル前処理作業は 20 時間以上を必要とします。またタンパク質の抽出工程でよく使用される界面活性剤のドデシル硫酸ナトリウム (SDS) は、質量分析やタンパク質消化の妨げとなるために分析前に十分に除去する必要があり、SDS を除去するための煩雑な作業はしばしばサンプル損失の原因となります。これらの課題を解決するために、我々は陰イオン交換 StageTip とよばれる使い捨てピペットチップ内に陰イオン交換固相抽出ディスクを装填したマイクロリットルサイズのスピナラムをタンパク質消化ツールとして使用し、迅速かつ試料の損失を抑えた画期的なサンプル前処理法 AnExSP (anion-exchange disc-assisted sequential sample preparation)を開発しました。

固相抽出ディスク上にタンパク質を濃縮して処理できる AnExSP は、微量サンプルの解析に適しており、最短 60 分で酵素消化を完了させることが可能でした。さらに、サンプルに含まれる SDS をディスク上に保持したまま、消化されたペプチドのみをディスクから溶出する最適条件を確立することで、簡単な操作と最小限の損失でサンプル前処理を実現しました。今回、オービトラップ型質量分析計による DIA (Data Independent Acquisition) 解析と組み合わせることにより、ヒト培養細胞のタンパク質抽出物 1 マイクログラムから約 7000 種類のタンパク質を検出することに成功しています。今後、小型化した StageTip を用いた前処理条件を確立することにより、近年関心が高まっているシングルセル解析にも利用できる可能性があります。

AnExSP は、タンパク質実験でよく使用される SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) で分離したタンパク質の前処理にも利用できます。従来の前処理法と比較して、特に長鎖の消化ペプチドの検出において、優れた性能を発揮しています。本研究で

我々は AnExSP と SDS-PAGE を、タンパク質複合体の化学架橋法と組み合わせることにより、目的のタンパク質複合体を簡易に精製して、従来法で困難であった長鎖の架橋ペプチドを効率的に検出することに成功しています。こうした汎用性の高さから、今後は生体サンプル中の微量タンパク質複合体を対象とした高感度な構造解析への応用が期待できます。

本研究は、愛媛大学とかずさ DNA 研究所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 2022 年 1 月 18 日に英国王立化学会の Chemical Communications 誌に掲載されました。

論文情報

掲載誌: *Chemical Communications*

題名: Bottom-up/cross-linking mass spectrometry via simplified sample processing on anion-exchange solid-phase extraction spin column

著者: Ayako Takemori, Yusuke Kawashima, and Nobuaki Takemori*

(*責任著者)

DOI: 10.1039/D1CC05529A

本論文は掲載誌の Inside Cover Art (右図) に選出されました。

