

高感度プロテオーム解析統合システムの開発

研究成果活用プラザ大阪における育成研究 平成14年度採択課題
「高感度プロテオーム解析統合システムの開発」

代表研究者：大阪府立母子保健総合医療センター・研究所
所長 和田芳直



ポストゲノム時代に入って急速に需要が増すプロテオーム解析を飛躍的に発展させる質量分析法の開発を行い、生命科学における明晰な探索研究や安心安全な医療を実現するためのバイオ質量分析計のプラットフォームを構築する

■ 研究内容、研究成果

成果はレーザーイオン化 20 年の歴史を変える可能性のある歴史的なものである。すなわち、これまでレーザーイオン化はマトリックス支援レーザー脱離イオン化法 (MALDI) と同義であった。そして、MALDI はタンパク質など生体分子の解析に用いられるポストゲノムにおいてプロテオームやグリコーム研究に必須のツールである質量分析法のイオン化部分を担当する重要な位置を占めている。しかし、MALDI には試料測定時に試料に対してマトリックスという混ぜものを加えることが必要であり、そのために、分析のスループットや低質量域における感度、さらに乾燥結晶化による試料面の不均一性に欠点がある。これらを解決するためにマトリックスを用いないレーザー脱離イオン化のための試料ターゲットを開発した。さまざまな試行錯誤の後に、レーザー脱離イオンに必要な要件として試料板表面の 100 ナノメートルオーダーの凹凸構造、さらに表面の導電性が必要であることを見出し、これらによって構成される基本特許を出願した。この 2 つの要件を満たす試料板の性能は全く画期的なもので、プロジェクト終了前の 7 月 30 日に、多孔アルミナの表面を金で被覆したチップを用いて質量 7 万を超える分子イオンを検出することに成功した。これはマトリックスを使用しない表面イオン化における圧倒的世界記録である。当然のことながら、国内外の主要質量分析計メーカーからサンプル提供の依頼を受けている。この試料ターゲットを用いれば、低分子量物質の測定や、高速液体クロマトグラフィーとの直結が容易になり、プロテオームおよびメタボロームを大きく支援するものと期待されている。一方、小型質量分析計については、質量分解能 6 万を超える周回型飛行時間質量分析計のバイオ分析への導入を行った。その他、プロジェクトにおいて特許出願した電気泳動用の薄いゲルについては既に製品となり、プロテオーム研究に役立っている。

■ 今後の展開、将来の展望

すでに製品となった開発品がいくつかあるが、上記の歴史的な発明に関しては、国内外の主要メーカーからテストの申し出を受けている。学術的に詰める部分は多々あるが、製品化へ向けての青写真は次の通りである。製品となる試料ターゲットはアルミナの陽極酸化と表面への被覆という二工程からなっている。前者は大量に安価に生産することは可能である。後の工程についてはレーザー照射に負けない強固な構造である必要があり、イオンビームを中心とする蒸着法が必要となり、アルミナ加工業者では対応できない。そこで、真空蒸着関連業界と接触し、委託蒸着という形がもっとも適当と考えている。一方、上記のテスト依頼企業との接触において、質量分析計への装着は各メーカー独自のホルダーにとりつける形態で行いたいという希望が出ており、その際は各社にライセンスを供与し、下請けにおいて製作することになるであろう。いずれにしろ、製品化は間近い。

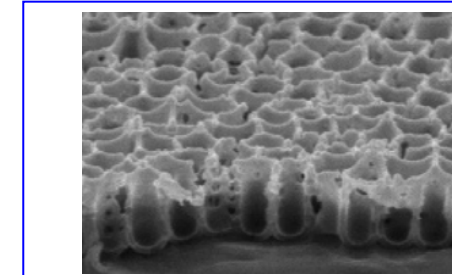


図1 新しいレーザーイオン化用試料ターゲットチップの電子顕微鏡写真

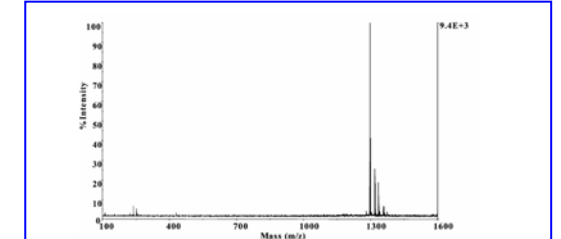


図2 図1のチップを用いたアンギオテンシンのマススペクトル

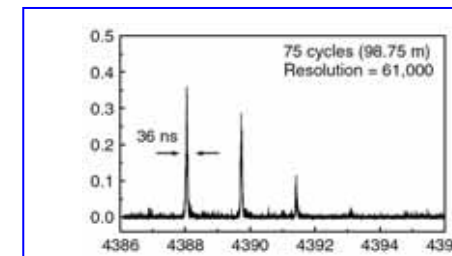


図3 周回型小型飛行時間質量分析計による高分解能マススペクトル

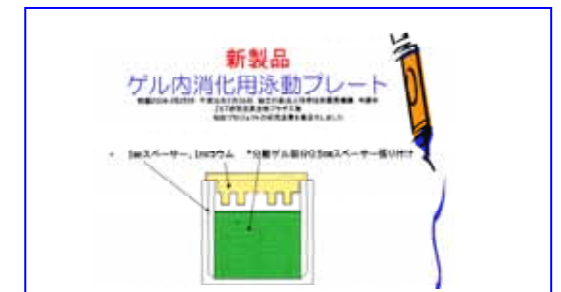


図4 発売したゲル内消化用プレート

■ 研究体制

- ◆ 代表研究者
大阪府立母子保健総合医療センター・研究所 所長 和田芳直
- ◆ 研究者
奥野昌二 (科学技術振興機構)、横田 篤 (科学技術振興機構)、
石原盛男 (大阪大学)、荒川隆一 (関西大学)、国広正夫 (日本電子株式会社)、田村淳 (日本電子株式会社)、
佐藤貴弥 (日本電子株式会社)、久保田守 (和光純薬工業株式会社)
- ◆ 共同研究機関
大阪大学、関西大学
日本電子株式会社、和光純薬工業株式会社

■ 研究期間

平成15年1月 ~ 平成17年9月