

3. プロテオミクス

戸田年総 (都・老人研)

ヒトゲノム計画がいよいよ最終段階に入った 1995 年に、シドニー大学の Humphery-Smith らのグループとマッコーリー大学の Keith Williams らのグループの共同研究¹⁾の中で誕生し、その後のペプチドミクスやグライコミクスといったさまざまな -omics 研究の先駆けとなったプロテオミクスは、実はその原点が二次元電気泳動にあったということは意外に理解されていない。1975 年に O'Farrell²⁾によって発表されたの二次元電気泳動は、大腸菌の粗抽出液中の数千種のタンパク質を、驚くべき高解像度で分離して見せたことから、それまで様々な手法を組み合わせて苦労をしてタンパク質を分離精製し分析していた生化学者の心を掴み、基礎生物学の分野にじわじわ浸透して行った。しかし、二次元電気泳動は分解能こそ高かったものの、まだ多くの課題を抱えており、これが普及を妨げた。

第一の課題は操作の煩雑性故の再現性の低さであり、第二の課題は、せっかく数千のスポットに分離できるにもかかわらず、定量的な解析を行うためのデンストメータがなかったということであり、第三の課題は、変化するスポットを見つけてもタンパク質量が微量であるために同定ができないことが多いということであった。

その後これらの問題は、次々と解決されてゆくことになるが、最初に解決されたのは第二の課題であった。NIH の Lemkin と Lipkin³⁾、Argonne National Laboratory の Anderson ら⁴⁾は、それぞれ独立に、当時としては高性能のミニコンピュータ DEC PDP-11 を用いて二次元電気泳動画像解析用のソフトウェアを開発し、Cold Spring Harbor Laboratory の Garrell⁵⁾らが SUN のワークステーション上で利用できる高性能のソフトウェア QUEST を開発し、これが PDI 社から PDQuest という商品名で販売されるようになったことから、それまで二次元電気泳動後の解析に困っていた研究者から圧倒的な支持を受けることとなった。

次に解決されたのは再現性の課題であった。ドイツの Gorg ら⁶⁾は、すでに Righetti ら⁷⁾によって開発されていた固定化 pH 勾配による等電点電気泳動法を 1 次元目に採用し、IPG-DALT 二次元電気泳動法を完成させ、二次元電気泳動法を「熟練が要らない簡単な方タンパク質分離法」に変えた。そして最後まで課題として残されていた、「高感度でハイスループットなタンパク質の同定」を実現させたのが、1995 年に登場したプロテオミクスであった。すなわち端的に言うならば、「二次元電気泳動と質量分析の出会い」である。しかしこの後、二次元 HPLC に基いたショットガンプロテオ

ミクスや、プロテインチップによる SELDI 法などの登場によって、二次元電気泳動の座は一時危機に瀕するが、「定量的ディファレンシャル解析が容易である」ことや「翻訳後修飾の分析に適している」ことが評価され、特に「疾患プロテオミクス」の研究では、「二次元電気泳動に基づいたプロテオミクス」が依然として主流となっている。

このように、-omics の先駆けとなったプロテオミクスでは、二次元電気泳動が大きな役割を演じて来たが、今後もさらに高分解能で高感度、高速なタンパク質分離法の開発が望まれており、電気泳動の基礎研究者に寄せられる期待は大きい。

引用文献

- 1) Wasinger VC, et al., Progress with gene-product mapping of the Mollicutes: *Mycoplasma genitalium*. *Electrophoresis*, 16, 1090 (1995).
- 2) O'Farrell P. H., *J. Biol. Chem.*, High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. 250, 4007 (1975)
- 3) Lemkin PF, Lipkin LE, GELLAB: a computer system for 2D gel electrophoresis analysis I. Segmentation of spots and system preliminaries. *Comput Biomed Res.* 1981;14(3):272-297.
- 4) Anderson NL, Taylor J, Scandora AE, Coulter BP, Anderson NG, The TYCHO system for computer analysis of two-dimensional gel electrophoresis patterns. *Clin Chem.* 1981, 27(11):1807-1820.
- 5) Garrels JL, The QUEST system for quantitative analysis of two-dimensional gels. *J Biol Chem.* 1989; 264(9): 5269-5282.
- 6) Gorg A, Postel W, Baumer M, Weiss W. Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis, with immobilized pH gradients in the first dimension, of barley seed proteins: discrimination of cultivars with different malting grades. *Electrophoresis.* 1992; 13(4):192-203.
- 7) Bjellqvist B, Ek K, Righetti PG, et al., Isoelectric focusing in immobilized pH gradients: principle, methodology and some applications. *J Biochem Biophys Methods.* 1982; 6(4): 317-339.