

HSA/IgG 除去 Kit は 2D-LC MS を用いたヒト血漿プロテオミクスに必要か

(株式会社 JCL バイオアッセイ)

○^{ふじいかおり}藤井香織・^{たかみともり}高見知徳・^{しおやましようへい}塩山昇平・^{ごとうりえこ}後藤理恵子・^{やまねなおえ}山根尚恵・^{むらいひさみ}村井久美・^{とづかぜんざぶろう}戸塚善三郎

Is Albumin and IgG removal kit necessary for Human plasma proteomics with 2D-LC MS?

(JCL Bioassay Corporation)

○K.Fujii, T.Takami, S.Shioyama, R.Goto, N.Yamane, H.Murai, Z.Tozuka

Short Abstract: Human plasma contains many proteins, and albumin and IgG occupy most of those proteins. When analysis with 2D electrophoresis, the presence of these two proteins disturbed other proteins. But now other proteins can analyze by removal treatment of albumin and IgG. In this research, we compared plasma that removed albumin and IgG with plasma that no removed with 2D-LC MS. We examine usefulness of removal treatment of Albumin and IgG. And we study for purposes of establishment of human plasma or urine metabolomics and proteomics, we report with these researches.

Keywords: 2D-LC MS, proteomics

【緒言】

臨床診断や医薬品開発において質量分析計を用いた血漿タンパク質の網羅的解析が注目されている。ヒト血漿中には、多くのタンパク質が含まれており、その大部分を占めるのは、アルブミンおよび IgG である。二次元電気泳動での解析では、これらのタンパク質の存在が解析のネックになっていた。現在ではアルブミンおよび IgG の除去処理を行うことで他のタンパク質の解析も可能となっている。

そこで本研究では、アルブミンおよび IgG の除去処理を行った血漿と未処理の血漿を 2D-LC MS で測定し、比較解析を行った。2D-LC MS においてアルブミンおよび IgG の除去処理の有用性を検討する。また、本研究は血漿および尿での網羅的解析の確立を目的とし、血漿および尿のメタボロミクスと共に報告する。

【実験】

Albumin and IgG Removal Kit (GE ヘルスケア バイオサイエンス株式会社) で処理したヒト血漿および未処理のヒト血漿を In solution digestion 法で Trypsin 消化し、Paradigm MS4-LTQ で MS および MS/MS スペクトルを測定し、解析した。

【結果】

Albumin and IgG Removal Kit を使用した血漿サンプルおよび未処理の血漿サンプルから多くのタンパク質がデータベース検索の結果から検出された。検索結果の Score や Coverage を比較したところ、Kit を使用した血漿サンプルでは多くのアルブミンおよび IgG が除去されていることが推察された。その結果、Kit を使用した血漿サンプルで検出されたタンパク質には、未処理の血漿サンプルでは検出されていないタンパク質も検出された。しかし、Kit による除去法はアルブミンおよび IgG にモノクローナル抗体を結合させて除去していることから、それ以外のタンパク質も除去されてしまう可能性があり、Kit を使用した血漿サンプルでは検出されず未処理の血漿サンプルのみに検出されたタンパク質もあった。これらの結果から、アルブミンおよび IgG 除去 Kit は、二次元電気泳動による分離ではアルブミンや IgG と等電点や分子量の近いタンパク質には有用であるが、2D-LC による分離においても有用であるかについて発表する。

今後、疾患特異的バイオマーカーによる診断と新薬開発のために血漿や尿のメタボロミクス解析と共に更なる検討を進めていく。

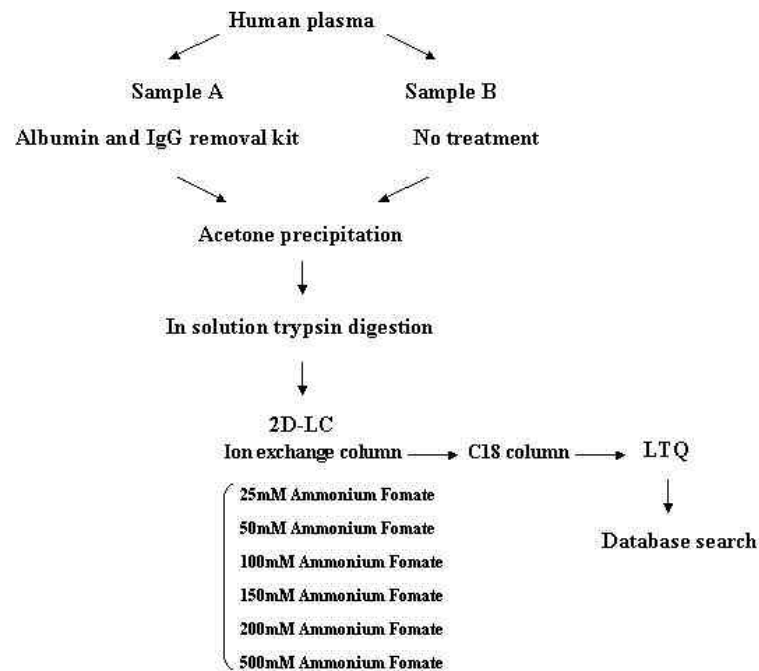


Fig. 1 Flow chart for human proteomics

参考文献

- 1) Linke. T *et al.*, J. Chromatography A, 1123 (2006) 160-169