

DIA プロテオーム解析受託・マルチオミックス解析受託

概要

- DIA-MS 技術によるプロテオーム解析を開始 (9,500 タンパク質の網羅的、比較可能な解析)
- 真のプロテオーム解析とトランスクリプトーム解析 (RNAseq) を組み合わせたリーズナブルなオミックス解析を提案
- マルチオミックス解析はフェノールグアニジン系の試薬に漬けたサンプルを送るだけでデータを取得

はじめに

DNA シーケンシングの黎明期だった 1970 年後半から 1980 年代始めに大学院で生命科学の研究をされていたシニア世代にとっては当時の「シーケンシング」と言えば、タンパク質のアミノ酸配列決定だったという生命科学の歴史を思い出されることもあると思います。生体システムの機能を司る主役は、間違いなくタンパク質です。タンパク質の定性的・定量的な計測データから生体システムの機能的な「状態」を記載することは王道中の王道です。しかし、これまで多くの方は圧倒的にトランスクリプトーム解析を生体システムの網羅的な記載に用いてきましたが、転写はタンパク質翻訳への過程に過ぎず、タンパク質解析への回帰が不可欠であることは明らかです。

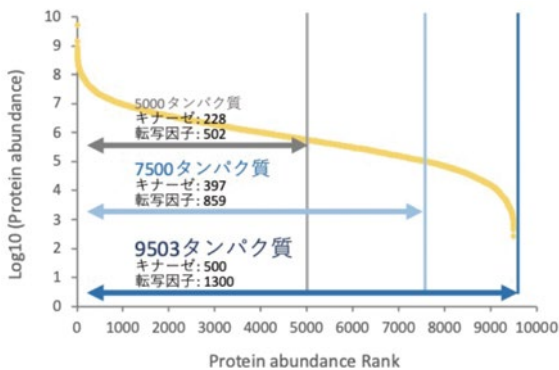


図 1. DIA プロテオーム解析による分析深度の飛躍的進歩 HEK293 細胞を用いて高深度 DIA プロテオーム解析で観測されたタンパク質のダイナミックレンジを示す。本解析では HEK293 細胞から約 8400 種類のタンパク質が観測された (同定の閾値: Protein FDR < 1%, Peptide FDR < 1%)。一般的なプロテオーム解析を想定して、発現量の多い 5000 タンパク質からキナーゼならびに転写因子の数を調べるとキナーゼが 228 種類、転写因子が 502 種類であった。それに対して観測された全タンパク質ではキナーゼが 500 種類、転写因子が 1300 種類と格段に増加した。このことから、キナーゼや転写因子を含めた微量タンパク質を対象とする場合に高深度 DIA プロテオーム解析を行うことに大きなアドバンテージがある。

次世代プロテオミクス解析

タンパク質に関する網羅的な解析が主役になりきれなかった原因は、トランスクリプトーム解析などと比較すると分析深度が低く、一般的なプロテオーム解析では約 3000 ~ 5000 種類のタンパク質を同定・比較定量できる程度にとどまっていたことです。これでは様々な分野で着目されることの多いキナーゼや転写因子などの微量タンパク質を観測するには不十分であり、さらなる分析深度の拡大が期待され続けてきました (図 1)。かすさ DNA 研究所では次世代プロテオミクスと称されている分析深度、定量性に優れた DIA プロテオミクス技術を取り入れ、さらに最新鋭の質量分析計 (Orbitrap Exploris 480, Thermo Fisher Scientific 社) で測定することにより、最大 9500 種類のタンパク質を同定・比較定量 (HEK293 細胞を用いた系で行った場合。観測できるタンパク数はサンプルの種類に依存) を行えるシステムを構築しています。私たちは同じ検体からこうした網羅的解析のための RNA とタンパク質を同時に調製できる系も確立しており、更により微量タンパク質からの高感度検出に向けての開発研究を実施しており、正当な「オミックス解析」と呼ぶにふさわしい解析メニューを開発中です。当受託ではここで構築した最先端のプロテオーム解析サービスを提供します。また、この技術をベースにした高深度リン酸化プロテオーム解析なども対応しておりますので、ご興味があればお問い合わせください。

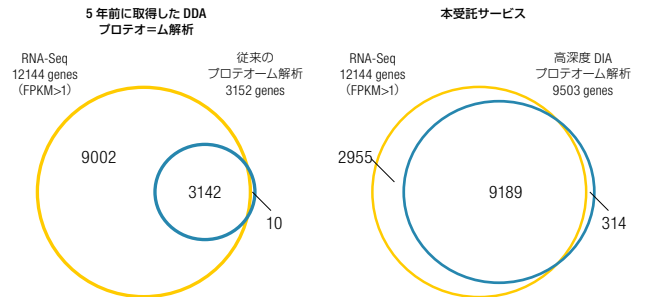


図 2. RNA-Seq とプロテオーム解析で観測された mRNA とタンパク質をコードする遺伝子の重複 上図は RNA-Seq と 5 年前に測定したデータ依存型分析法 (DDA) によるプロテオーム解析との比較、右図は RNA-Seq と本受託サービスの高深度 DIA プロテオーム解析との比較を示す。分析したサンプルは HEK293 細胞である。RNA-Seq とプロテオーム解析のそれぞれの解析で用いたデータベースに共通して存在した遺伝子のみを対象とした。以前のプロテオーム解析では RNA-Seq で観測できる遺伝子数との差が大きかったが、本受託サービスの高深度 DIA プロテオーム解析ではその点が大きく改善され、マルチオミックス解析を行う上で対象となる分子が大幅に増加した。



公益財団法人かすさ DNA 研究所
臨床オミックスユニット
研究員
川島祐介 研究員

プロテオーム解析技術の開発を主な研究テーマとして取り組んでおり、開発した技術や培ってきたノウハウをもと様々な研究室と共同研究を行い、それぞれのニーズに対応しながら多種多様なサンプルのプロテオーム解析をしてまいりました。プロテオミクスという言葉ができてから 20 年以上経ちますが、残念ながらだれもが簡単にプロテオーム解析が行えるわけではなく、同じ質量分析計を持っていても使い手によって観測できるタンパク質数が倍近く変わることも珍しくありません。高度なプロテオーム解析を実現させるためには、サンプルの種類ごとに応じた適切な前処理、目的に合わせた適切な質量分析計のセッティング、パフォーマンスを維持するための質量分析計の適切な管理が必要不可欠です。本受託解析ではこれまでの経験をもとに以上の点を押さえた高度なプロテオーム解析を提供できればと思っています。