

ご挨拶

電気泳動法はさまざまな研究において重要なツールとして使われてきました。タンパク質や核酸などの生体物質をそれぞれの物理的な特性にしたがって分離し、分取し、解析することで、私たちは生命現象の分子背景に迫る研究を行ってきました。電気泳動法は基礎研究のみならず疾患研究や臨床検査にも広く用いられ、多くの研究室や検査センターにおいて、なくてはならない技術として使われています。電気泳動法は我々の社会においてこれからも重要な位置を占めていくでしょう。

一方で、電気泳動法の可能性はまだまだ追及する余地があること、そして長年の課題が依然として残されていることにも我々は目を向ける必要があります。たとえば、電気泳動法で観察される多くのタンパク質は翻訳後修飾を受けていますが、分離されたタンパク質を効率よく分取し解析する手法や、翻訳後修飾のデータを機能と結びつけて解析する方法は標準化されておらず、個々の研究者の経験や力量に委ねられています。また、ゲノム解析で同定される興味深い遺伝子の機能を調べるにあたりタンパク質の機能解析は必須になるわけですが、タンパク質を多角的に調べるための方法論はいまだ確立されていません。このような課題を解決していくことで、電気泳動法は時代に即して発展していくでしょう。

今回の総会は、コロナ禍の状況を鑑みてオンラインの開催としました。オンラインの開催はすっかり定着した感があります。皆様にはリラックスして聴講、議論に御参加していただければと思います。

オーガナイザー 近藤 格

国立がん研究センター研究所

希少がん研究分野

第 72 回日本電気泳動学会総会

Time Schedule

14 日（水）	
12:00 ～ 15:00	理事会
15:00 ～ 15:30	休憩
15:30 ～ 15:40	開会の挨拶
15:40 ～ 16:40	シンポジウム 1：Phos-tag が拓く生命科学
16:40 ～ 16:50	休憩
16:50 ～ 17:50	シンポジウム 2：臨床検体を用いたバイオマーカー研究
17:50	初日終了
15 日（木）	
9:00 ～ 10:00	評議委員会
10:00 ～ 10:10	休憩
10:10 ～ 10:40	総会
10:40 ～ 10:50	休憩
10:50 ～ 11:50	受賞講演
11:50 ～ 13:00	ポスターセッション I
13:00 ～ 14:00	シンポジウム 3：プロテオーム：色々な角度から
14:00 ～ 14:10	休憩
14:10 ～ 15:10	特別講演：バイオバンクの現状と展望
15:10 ～ 15:20	休憩
15:20 ～ 16:20	シンポジウム 4：Top-down proteomics and peptidomics
16:20 ～ 16:30	休憩
16:30 ～ 17:30	特別講演：逆相タンパクアレイ基盤のがん精密医療への応用
17:30	2 日目終了
16 日（金）	
9:00 ～ 10:00	シンポジウム 5：電気泳動法を用いた生体分子解析の新技术
10:00 ～ 10:10	休憩
10:10 ～ 11:10	ポスターセッション II
11:10 ～ 11:20	休憩
11:20 ～ 12:20	シンポジウム 6：がん予防研究と今後の展開
12:20	閉会の挨拶

Program

受賞講演

座長：亀山 昭彦 産業技術総合研究所 細胞分子工学研究部門

第 60 回日本電気泳動学会学会賞（児玉賞）

2 型糖尿病の糖毒性におけるインスリン発現抑制機構の解析

香川大学農学部応用生物科学科

杉山 康憲

第 21 回日本電気泳動学会奨励賞（服部賞）

革新的オンライン試料濃縮技術に基づく超高感度キャピラリー電気泳動法の開発と応用

九州大学大学院理学研究院化学部門

川井 隆之

卵巣明細胞癌の新規バイオマーカー探索とその機能解析：病理検体を用いたショットガンプロテオミクス法

北里大学医学部病理学

松本 俊英

シンポジウムセッション 1

Phos-tag が拓く生命科学

座長：木下 英司 広島文教大学人間科学部

木下 恵美子 広島大学大学院医系科学研究科

演題 1

GK3 β とタウの in vivo リン酸化の Phos-tag 電気泳動法による解析

東京都立大学、東京都医学総合研究所

久永 眞市

演題 2

Phos-tag を用いた葉緑体チラコイド膜におけるタンパク質リン酸化の解析

摂南大学農学部

加藤 裕介

演題 3

Phos-tag 誘導体化法による新たな質量分析イメージング法の開発

東京大学大学院薬学系研究科

可野 邦行

シンポジウムセッション2

臨床検体を用いたバイオマーカー研究

座長：長塩 亮 北里大学 医療衛生学部 医療検査学科臨床検査学

演題1

Auto-immunomics を基盤としたがん患者血清中自己抗体の網羅的探索

福島県立医科大学医学部基礎病理学講座

小林 信

演題2

細胞接着分子クロードインとがんマーカー分子としての有用性と治療標的としての可能性

福島県立医科大学医学部基礎病理学講座

杉本 幸太郎

演題3

肺がんのバイオマーカーとがん細胞の分化系統

北里大学医学部呼吸器内科学

慶應義塾大学医学部呼吸器内科

佐藤 崇

シンポジウムセッション3

プロテオーム：色々な角度から

座長：野口 玲 国立がん研究センター研究所希少がん研究分野

演題1

非小細胞肺がんの予後予測バイオマーカーの探索：非小細胞肺がん生検サンプルの網羅的キナーゼ活性解析を用いて

国立がん研究センター研究所希少がん研究分野

野口 玲

演題2

大規模プロテオゲノミクスにおける数理解析アプローチCancer complexome を例としてー

名古屋大学糖鎖生命コア研究所 統合生命医科学糖鎖研究センター

名古屋大学大学院医学系研究科

松井 佑介

演題3

酵素活性の網羅的解析（enzymomics）に基づく新規疾患関連酵素の発見

東京大学大学院薬学系研究科

小松 徹

シンポジウムセッション 4

Top-down proteomics and peptidomics

座長：小寺 義男 北里大学理学部物理学科 物性物理学講座

演題 1

微量生体試料を対象としたペプチドミクス

北里大学理学部物理学科物性物理学講座

小寺 義男

演題 2

PEPPI-MS：トップダウンプロテオミクスのためのサンプル前分画ワークフロー

愛媛大学先端研究・学術推進機構

武森 信曉

演題 3

ネイティブ質量分析ーリコンビナントタンパク質複合体から一細胞分析までー

横浜市立大学理学部理学科生命医科学研究科

明石 知子

シンポジウムセッション 5

電気泳動法を用いた生体分子解析の新技術

座長：大石 正道 北里大学理学部物理学科 生物物理学講座

演題 1

タンパク質変性剤の濃度変化を利用したゲル電気泳動の新たな利用法

北里大学理学部物理学科生物物理学講座

大石 正道

演題 2

E. coli タンパク質共発現系を利用したチロシンキナーゼアッセイ

広島大学大学院医系科学研究科

木下 恵美子

演題 3

キャピラリー電気泳動法による DNA アプタマー-トロニン三元複合体の結合サイト、平衡および速度パラメーターの測定

埼玉大学大学院理工学研究科

齋藤 伸吾

シンポジウムセッション 6

がん予防研究と今後の展開

座長：藏満 保宏 北海道医療大学 医療技術学部

演題 1

実験的炎症発がんモデルから考えるがん予防

鳥取大学医学部実験病理学分野
鳥取大学染色体工学研究センター
岡田 太

演題 2

がん予防研究と今後の展開～大腸がんの化学予防を例に～

京都府立医科大学分子標的予防医学
武藤 倫弘

演題 3

フコキサンチンによるマウス大腸がん予防作用

北海道医療大学薬学部先端研究推進センター
寺崎 将

特別講演

バイオバンクの現状と展望

菊田 一貴 栃木県立がんセンターバイオバンクセンター 栃木がんセンターバイオバンク

がんの新しい診断治療法開発の発展を目指し設立した栃木がんセンターバイオバンクの紹介

栃木県立がんセンターバイオバンクセンター
栃木がんセンターバイオバンク
菊田 一貴

特別講演

逆相タンパクアレイ基盤のがん精密医療への応用

増田 万里 国立がん研究センター研究所プロテオーム解析部門

逆相タンパクアレイ基盤のがん高精度医療への応用

国立がん研究センター研究所プロテオーム解析部門
増田 万里

ポスターセッション

No.	タイトル	発表者	所属
P-1	SARS-CoV-2 スクロカプシドタンパク質のリン酸化およびプロリン異性化酵素 Pin1 との相互作用解析	井野 洋子	横浜市立大学 先端医科学研究センター
P-2	Kidney injury molecule-1 の早期腎症診断マーカーとしての有用性	五十嵐 久留未	麻布大学生命・環境科学部生化学研究室
P-3	Claudin-9 は子宮体がんの新規予後マーカーである	遠藤 雄大	福島県立医科大学 産科婦人科学講座 / 基礎病理学講座
P-4	低濃度 SDS 抽出液を用いた筋肉および魚卵タンパク質の加熱変性過程の解析	大石 正道	北里大学理学部物理学科 生物物理学講座
P-5	Phos-tag 対角線電気泳動を用いた血清中リン酸化タンパク質の解析法の検討	大川原 佑季	学校法人群馬バース大学大学院保健科学研究科
P-6	ホロ / アポ変換二次元尿素 PAGE によるヒト血清試料中トランスフェリンの鉄結合状態と遊離 Fe ³⁺ 濃度の測定	大野 萌衣	埼玉大学大学院理工学研究科
P-7	いくらアレルギーにおける新規アレルゲンの探索・同定	小澤 彩夏	麻布大学生命・環境科学部生化学研究室
P-8	骨巨細胞腫の新規患者由来細胞株 NCC-GCTB4-C1 の樹立と特性評価	小野 拓也	国立がん研究センター研究所希少がん研究分野
P-9	絹の質量分析法の改良と他の動物性繊維への応用	梶原 英之	農業食品産業技術総合研究機構（農研機構）
P-10	Bmi-1 ノックアウトマウスと老化マウスにおける顎下腺ムチンの類似性	亀山 昭彦	産業技術総合研究所細胞分子工学研究部門
P-11	血清 / 血漿プロテオーム解析による COVID-19 の重症化関連因子の探索	木村 弥生	横浜市立大学先端医科学研究センター
P-12	臨床検査の電気泳動法における酵素のアイソザイム検査の問題点ーアイソザイムによって Km が大きく異なる LD を例にー	楠 美理沙	埼玉県立大学 保健医療福祉学部
P-13	非小細胞肺癌における術後補助化学療法効果予測マーカーとしての TRAP1 の有用性について	朽津 有紀	北里大学医療衛生学部臨床検査学 / 北里大学医療衛生学部附属再生医療・細胞デザイン研究施設細胞デザイン研究開発センター / 北里大学大学院医療系研究科応用腫瘍病理学
P-14	被包化肝細胞癌組織のプロテオーム解析から狙う浸潤抑制	久原 啓資	北海道医療大学 歯学部 生体機能・病態学系 顎顔面口腔外科学分野 / 北海道医療大学 先端研究推進センター
P-15	生体膜局所の脂質プロファイリングに向けた微量質量分析技術の開発	久保田 颯	九州大学
P-16	スフェロイド培養および単層培養した患者由来がん細胞株を用いた CIC-arranged 肉腫の in vitro での薬剤スクリーニング	桑田 優	国立がんセンター研究所希少がん研究部 / 株式会社 Biospecimen Laboratories
P-17	Phos-tag 電気泳動法を活用した MAPK phosphatase (MKP) と MAPK 経路の相互調節機構の解析	齊藤 まりこ	東京大学医科学研究所
P-18	ゼブラフィッシュをモデルとしたチロシン硫酸化の生理機能解明	榊原 陽一	宮崎大学農学部応用生物科学科
P-19	Stable Isotope Labeling by Amino acids in Cell culture 法による膵臓癌の早期新規診断マーカーの解析	佐藤 里奈	麻布大学生命・環境科学部生化学研究室
P-20	非変性等電点電気泳動分離したタンパク質複合体の溶出法の検討とその特性分析	島崎 洋次	愛媛大学大学院理工学研究科 / 愛媛大学理学部
P-21	悪性末梢神経鞘腫瘍の患者由来細胞株 NCC-MPNST6-C1 の樹立	申 育實	国立がん研究センター研究所希少がん研究分野
P-22	Phos-tag Click tip を用いて新規合成タンパク質を選択的に濃縮する新しい方法	Shin Jihye	横浜市立大学先端医科学研究センター
P-23	薬剤耐性菌モニタリングのための免疫沈降 - 質量分析 (IP-MS) 抗体の作製と検証	高橋 正弥	横浜市立大学大学院 医学研究科 微生物学 / 横浜市立大学 先端医科学研究センター
P-24	P2 Tag System: Development and analysis of a novel tag system using the anti-P2 monoclonal antibody	Kiho Tanaka	Department of Microbiology, Yokohama City University, School of Medicine
P-25	プロテオーム解析と患者由来肉腫細胞株により同定した悪性末梢神経鞘腫の新規治療薬候補	土屋 流人	国立がん研究センター研究所希少がん研究分野 / 千葉大学大学院医学研究院整形外科学

No.	タイトル	発表者	所属
P-26	In situ ビオチン化法を用いた B 型肝炎ウイルスのコアタンパク質と相互作用する宿主因子群の探索	中居 佑介	横浜市立大学医学研究科 微生物学 / 横浜市立大学 先端医科学研究センター
P-27	逆相タンパクアレイ (Reverse-Phase Protein Array; RPPA) 技術基盤の最適化	中川 莉杏	学習院大学大学院 / 国立がん研究センター研究所
P-28	早期肺腺癌患者における NAP1L1 発現の予後予測マーカーとしての有用性について	長塩 亮	北里大学医療衛生学部 臨床検査学 / 北里大学医療衛生学部附属再生医療・細胞デザイン研究施設細胞デザイン研究開発センター / 北里大学大学院医療系研究科 応用腫瘍病理学
P-29	ビトリゲル膜を介した両面培養を応用した中枢神経系原発悪性リンパ腫細胞と脳血管周皮細胞との相互作用解析	西 真由子	横浜市立大学大学院医学研究科 微生物学
P-30	サンプル特異的データベースを作成するプロテオゲノミクスの革新的なソフトウェア: OncoProGx	野口 玲	国立がん研究センター研究所希少がん研究分野
P-31	キノーム解析による皮膚 T 細胞リンパ腫に対する HDAC 阻害剤の併用療法の探索	藤井 一恭	鹿児島大学医学部皮膚科 / 国立がん研究センター研究所希少がん研究分野
P-32	超高感度 CE-MS リピドーム分析に向けた新規オンライン試料濃縮法の開発	藤村 泰地	九州大学
P-33	ヒト血中プロレニンの分子存在様式	藤本 和実	文京学院大学 保健医療技術学部
P-34	アルファスクリーンを用いた血清中の抗 HTLV-1 抗体測定法の開発	船橋 利佳子	横浜市立大学大学院医学研究科 微生物学・分子生体防御学教室
P-35	近位ビオチン標識法と質量分析を活用した熱刺激誘導性液-液相分離顆粒コア蛋白質の探索	松田 碧	東京大学医科学研究所 分子シグナル制御分野 / 東京大学大学院新領域創成科学研究科 メディカル情報生命専攻
P-36	JDP2 を介したインスリン遺伝子発現の促進と抑制	松本 涼花	香川大学農学部応用生物科学
P-37	新規ヒスチジンキナーゼ阻害剤スクリーニングのためのイムノドットプロットアッセイ	丸田 志乃	広島大学薬学部
P-38	キャピラリー電気泳動を用いた超高感度次世代糖鎖解析法の開発	三木 太陽	九州大学
P-39	卵巣がんにおける Spondin-1 タンパク質の発現解析	宮川 諒也	福島県立医科大学医学部 基礎病理学講座
P-40	マクロエンザイム 5 年間の集計結果 一特にマクロ AST について	森山 隆則	札幌保健医療大学
P-41	患者由来「希少がん」モデルの樹立; 機能的なオミクスデータの解釈に向けて	吉松 有紀	国立がん研究センター研究所希少がん研究分野
P-42	大腸菌の共発現システムを利用した ABL チロシンキナーゼアッセイ	吉本 萌々香	広島大学薬学部
P-43	血清中の細胞外小胞のプロテオーム解析による膵臓癌の新規診断マーカーの探索	米窪 莉子	麻布大学生命・環境科学部生化学研究室
P-44	ケモプロテオミクスおよび分子動力学シミュレーションが明らかにした、延命草の苦味成分ラブドシアノン I の標的タンパク質と抗腫瘍メカニズム	渡邊 元樹	京都府立医科大学 分子標的予防医学

お知らせとお願い

本学会総会はオンラインで開催いたします。

①オンラインでの参加方法のご案内

オンラインマニュアルは以下、第 72 回日本電気泳動学会総会ホームページで確認できます。

大会特設サイト <https://www.2021jelectrophoresis.com/>

(大会特設サイトはすでにオープンしております。)

当日の ZOOM アカウントは事前登録された方に事務局からメールで送付いたします。

②ポスターセッションの参加方法のご案内

ポスターセッションはセッション開始時刻から ZOOM で 1 人 1 分毎ポスターを紹介していただき、その後、Slack にて質疑応答と閲覧を行います。

Slack のオンラインマニュアルは以下、第 72 回日本電気泳動学会総会ホームページで確認できます。

大会特設サイト <https://www.2021jelectrophoresis.com/>

③座長の先生方へのご案内

- ・座長の先生はご担当セッションの開始予定時刻の 10 分前までに“Zoom 会場”にいらしてください。
- ・セッションの進行は座長にお任せいたします。プログラムの円滑な進行のため、ご担当セッションの時間を厳守していただくようお願いいたします。

④講演発表者の先生方へのご案内

- ・演者の先生はご担当セッションの開始予定時刻の 10 分前までに“Zoom 会場”にいらしてください。
- ・シンポジウムの運営は座長に一任しておりますが、プログラムの円滑な進行のために時間を厳守して発表をお願いいたします。

⑤ご参加の皆様へのご案内

質疑応答の方法につきましては、上記大会特設サイト内にございますオンラインマニュアルをご確認ください。

抄録集



抄 録 集

目 次

第 60 回日本電気泳動学会学会賞（児玉賞）

2 型糖尿病の糖毒性におけるインスリン発現抑制機構の解析

杉山 康憲

香川大学 農学部 応用生物科学科……………(s1)

第 21 回日本電気泳動学会奨励賞（服部賞）

革新的オンライン試料濃縮技術に基づく超高感度キャピラリー電気泳動法の開発と応用

川井 隆之

九州大学 大学院理学研究院 化学部門……………(s2)

卵巣明細胞癌の新規バイオマーカー探索とその機能解析：病理検体を用いたショットガンプロテオミクス法

松本 俊英

北里大学医学部病理学……………(s3)

シンポジウム セッション 1

Phos-tag が拓く生命科学

S-1 GSK3 β とタウの in vivo リン酸化の Phos-tag 電気泳動法による解析

久永 眞市

東京都立大学

東京都医学総合研究所……………(s4)

S-2 Phos-tag を用いた葉緑体チラコイド膜におけるタンパク質リン酸化の解析

加藤 裕介

摂南大学 農学部……………(s5)

S-3 Phos-tag 誘導体法による新たな質量分析イメージング法の開発

可野 邦行

東京大学 大学院薬学系研究科……………(s6)

シンポジウム セッション 2

臨床検体を用いたバイオマーカー研究

S-4 Auto-immunomics を基盤としたがん患者血清中自己抗体の網羅的探索

小林 信

福島県立医科大学医学部基礎病理学講座……………(s7)

S-5 細胞接着分子クロードンとがんマーカー分子としての有用性と治療標的としての可能性

杉本 幸太郎

福島県立医科大学医学部基礎病理学講座……………(s8)

S-6 肺がんのバイオマーカーとがん細胞の分化系統

佐藤 崇

北里大学医学部呼吸器内科学

慶應義塾大学医学部呼吸器内科……………(s9)

シンポジウム セッション 3

プロテオーム：色々な角度から

- S-7 非小細胞肺がんの予後予測バイオマーカーの探索：非小細胞肺がん生検サンプルの網羅的キナーゼ活性解析を用いて
野口 玲
国立がん研究センター研究所希少がん研究分野……………(s10)
- S-8 大規模プロテオゲノミクスにおける数理解析アプローチ – Cancer complexome を例として –
松井 佑介
名古屋大学糖鎖生命コア研究所 統合生命医科学糖鎖研究センター
名古屋大学大学院医学系研究科……………(s11)
- S-9 酵素活性の網羅的解析 (enzymomics) に基づく新規疾患関連酵素の発見
小松 徹
東京大学大学院薬学系研究科……………(s12)

シンポジウム セッション 4

Top-down proteomics and peptidomics

- S-10 微量生体試料を対象としたペプチドミクス
小寺 義男
北里大学理学部物理学科 物性物理学講座……………(s13)
- S-11 PEPPI-MS：トップダウンプロテオミクスのためのサンプル前分画ワークフロー
武森 信暁
愛媛大学 先端研究・学術推進機構……………(s14)
- S-12 ネイティブ質量分析 —リコンビナントタンパク質複合体から一細胞分析まで—
明石 知子
横浜市立大学理学部 理学科 生命医科学研究科……………(s15)

シンポジウム セッション 5

電気泳動法を用いた生体分子解析の新技術

- S-13 タンパク質変性剤の濃度変化を利用したゲル電気泳動の新たな利用法
大石 正道
北里大学理学部物理学科 生物物理学講座……………(s16)
- S-14 E. coli タンパク質共発現系を利用したチロシンキナーゼアッセイ
木下 恵美子
広島大学大学院医系科学研究科……………(s17)
- S-15 キャピラリー電気泳動法による DNA アプタマー- トロンビン三元複合体の結合サイト、平衡および速度パラメータの測定
齋藤 伸吾
埼玉大学大学院理工学研究科……………(s18)

シンポジウム セッション 6

がん予防研究と今後の展開

- S-16 実験的炎症発がんモデルから考えるがん予防
岡田 太
鳥取大学医学部実験病理学分野
鳥取大学染色体工学研究センター……………(s19)
- S-17 がん予防研究と今後の展開～大腸がんの化学予防を例に～
武藤 倫弘
京都府立医科大学 分子標的予防医学……………(s20)

S-18 フコキサンチンによるマウス大腸がん予防作用

寺崎 将

北海道医療大学薬学部 先端研究推進センター..... (s21)

特別講演：バイオバンクの現状と展望

がんの新しい診断治療法開発の発展を目指し設立した栃木がんバイオバンクの紹介

菊田 一貴

栃木県立がんセンターバイオバンクセンター

栃木がんバイオバンク..... (s22)

特別講演：逆相タンパクアレイ基盤のがん精密医療への応用

逆相タンパクアレイ基盤のがん高精度医療への応用

増田 万里

国立がん研究センター研究所プロテオーム解析部門..... (s23)

ポスターセッション

P-1 SARS-CoV-2 ヌクレオカプシドタンパク質のリン酸化のおよびプロリン異性化酵素 Pin1 との相互作用解析

井野 洋子

横浜市立大学 先端医科学研究センター..... (s24)

P-2 Kidney injury molecule-1 の早期腎症診断マーカーとしての有用性

五十嵐 久留未

麻布大生命・環境科学部生化学研究室..... (s25)

P-3 Claudin-9 は子宮体がんの新規予後マーカーである

遠藤 雄大

福島県立医科大学医学部 産科婦人科学講座

福島県立医科大学医学部 基礎病理学講座..... (s26)

P-4 低濃度 SDS 抽出液を用いた筋肉および魚卵タンパク質の加熱変性過程の解析

大石 正道

北里大学理学部物理学科 生物物理学講座..... (s27)

P-5 Phos-tag 対角線電気泳動を用いた血清中リン酸化タンパク質の解析法の検討

大川原 佑季

学校法人群馬パース大学大学院保健科学研究科..... (s28)

P-6 ホロ / アポ変換二次元尿素 PAGE によるヒト血清試料中トランスフェリンの鉄結合状態と遊離 Fe^{3+} 濃度の測定

大野 萌衣

埼玉大学大学院理工学研究科..... (s29)

P-7 いくらアレルギーにおける新規アレルゲンの探索・同定

小澤 彩夏

麻布大生命・環境科学部生化学研究室..... (s30)

P-8 骨巨細胞腫の新規患者由来細胞株 NCC-GCTB4-C1 の樹立と特性評価

小野 拓也

国立がん研究センター研究所希少がん研究分野..... (s31)

P-9 絹の質量分析法の改良と他の動物性繊維への応用

梶原 英之

農業食品産業技術総合研究機構 (農研機構)..... (s32)

P-10 Bmi-1 ノックアウトマウスと老化マウスにおける顎下腺ムチンの類似性

亀山 昭彦

産業技術総合研究所細胞分子工学研究部門..... (s33)

- P-11 血清 / 血漿プロテオーム解析による COVID-19 の重症化関連因子の探索
木村 弥生
横浜市立大学先端医科学研究センター……………(s34)
- P-12 臨床検査の電気泳動法における酵素のアイソザイム検査の問題点—アイソザイムによって Km が大きく異なる LD を例に—
楠 美理沙
埼玉県立大学 保健医療福祉学部……………(s35)
- P-13 非小細胞肺癌における術後補助化学療法効果予測マーカーとしての TRAP1 の有用性について
朽津 有紀
北里大学医療衛生学部臨床検査学
北里大学医療衛生学部附属再生医療・細胞デザイン研究施設細胞デザイン研究開発センター
北里大学大学院医療系研究科応用腫瘍病理学……………(s36)
- P-14 被包化肝細胞癌組織のプロテオーム解析から狙う浸潤抑制
久原 啓資
北海道医療大学 歯学部 生体機能・病態学系 顎顔面口腔外科学分野
北海道医療大学 先端研究推進センター……………(s37)
- P-15 生体膜局所の脂質プロファイリングに向けた微量質量分析技術の開発
久保田 颯
九州大学……………(s38)
- P-16 スフェロイド培養および単層培養した患者由来がん細胞株を用いた CIC-arranged 肉腫の in vitro での薬剤スクリーニング
桑田 優
国立がんセンター研究所希少がん研究部
株式会社 Biospecimen Laboratories……………(s39)
- P-17 Phos-tag 電気泳動法を活用した MAPK phosphatase (MKP) と MAPK 経路の相互調節機構の解析
齊藤 まりこ
東京大学医科学研究所……………(s40)
- P-18 ゼブラフィッシュをモデルとしたチロシン硫酸化の生理機能解明
榊原 陽一
宮崎大学農学部応用生物科学科……………(s41)
- P-19 Stable Isotope Labeling by Amino acids in Cell culture 法による膵臓癌の早期新規診断マーカーの解析
佐藤 里奈
麻布大生命・環境科学部生化学研究室……………(s42)
- P-20 非変性等電点電気泳動分離したタンパク質複合体の溶出法の検討とその特性分析
島崎 洋次
愛媛大学大学院理工学研究科
愛媛大学理学部……………(s43)
- P-21 悪性末梢神経鞘腫瘍の患者由来細胞株 NCC-MPNST6-C1 の樹立
申 育實
国立がん研究センター研究所希少がん研究分野……………(s44)
- P-22 Phos-tag Click tip を用いて新規合成タンパク質を選択的に濃縮する新しい方法
Shin Jihy
横浜市立大学 先端医科学研究センター……………(s45)
- P-23 薬剤耐性菌モニタリングのための免疫沈降－質量分析 (IP-MS) 抗体の作製と検証
高橋 正弥
横浜市立大学大学院 医学研究科 微生物学
横浜市立大学 先端医科学研究センター……………(s46)

- P-24 P2 Tag System: Development and analysis of a novel tag system using the anti-P2 monoclonal antibody
 Kiho Tanaka
 Department of Microbiology, Yokohama City University, School of Medicine.....(s47)
- P-25 プロテオーム解析と患者由来肉腫細胞株により同定した悪性末梢神経鞘腫の新規治療薬候補
 土屋 流入
 国立がん研究センター研究所希少がん研究分野
 千葉大学大学院医学研究院整形外科学.....(s48)
- P-26 In situ ビオチン化法を用いた B 型肝炎ウイルスのコアタンパク質と相互作用する宿主因子群の探索
 中居 佑介
 横浜市立大学医学研究科 微生物学
 横浜市立大学 先端医科学研究センター.....(s49)
- P-27 逆相タンパクアレイ (Reverse-Phase Protein Array; RPPA) 技術基盤の最適化
 中川 莉杏
 学習院大学大学院
 国立がん研究センター研究所.....(s50)
- P-28 早期肺腺癌患者における NAP1L1 発現の予後予測マーカーとしての有用性について
 長塩 亮
 北里大学医療衛生学部 臨床検査学
 北里大学医療衛生学部附属再生医療・細胞デザイン研究施設細胞デザイン研究開発センター
 北里大学大学院医療系研究科 応用腫瘍病理学.....(s51)
- P-29 ビトリゲル膜を介した両面培養を応用した中枢神経系原発悪性リンパ腫細胞と脳血管周皮細胞との相互作用解析
 西 真由子
 横浜市立大学大学院医学研究科 微生物学.....(s52)
- P-30 サンプル特異的データベースを作成するプロテオゲノミクスの革新的なソフトウェア : OncoProGx
 野口 玲
 国立がん研究センター研究所希少がん研究分野.....(s53)
- P-31 キノーム解析による皮膚 T 細胞リンパ腫に対する HDAC 阻害剤の併用療法の探索
 藤井 一恭
 鹿児島大学医学部皮膚科
 国立がん研究センター研究所希少がん研究分野.....(s54)
- P-32 超高感度 CE-MS リピドーム分析に向けた新規オンライン試料濃縮法の開発
 藤村 泰地
 九州大学.....(s55)
- P-33 ヒト血中プロレニンの分子存在様式
 藤本 和実
 文京学院大学 保健医療技術学部.....(s56)
- P-34 アルファスクリーンを用いた血清中の抗 HTLV-1 抗体測定法の開発
 船橋 利佳子
 横浜市立大学大学院医学研究科 微生物学・分子生体防御学教室.....(s57)
- P-35 近位ビオチン標識法と質量分析を活用した熱刺激誘導性液 - 液相分離顆粒コア蛋白質の探索
 松田 碧
 東京大学医科学研究所 分子シグナル制御分野
 東京大学大学院新領域創成科学研究科 メディカル情報生命専攻.....(s58)
- P-36 JDP2 を介したインスリン遺伝子発現の促進と抑制
 松本 涼花
 香川大学農学部応用生物科学.....(s59)

P-37	新規ヒスチジンキナーゼ阻害剤スクリーニングのためのイムノドットプロットアッセイ 丸田 志乃 広島大学薬学部.....	(s60)
P-38	キャピラリー電気泳動を用いた超高感度次世代糖鎖解析法の開発 三木 太陽 九州大学.....	(s61)
P-39	卵巣がんにおける Spondin-1 タンパク質の発現解析 宮川 諒也 福島県立医科大学医学部 基礎病理学講座.....	(s62)
P-40	マクロエンザイム 5 年間の集計結果 ―特にマクロ AST について― 森山 隆則 札幌保健医療大学.....	(s63)
P-41	患者由来「希少がん」モデルの樹立；機能的なオミクスデータの解釈に向けて 吉松 有紀 国立がん研究センター研究所希少がん研究分野.....	(s64)
P-42	大腸菌の共発現システムを利用した ABL チロシンキナーゼアッセイ 吉本 萌々香 広島大学薬学部.....	(s65)
P-43	血清中の細胞外小胞のプロテオーム解析による膵臓癌の新規診断マーカーの探索 米窪 莉子 麻布大学生命・環境科学部生化学研究室.....	(s66)
P-44	ケモプロテオミクスおよび分子動力学シミュレーションが明らかにした、延命草の苦味成分ラブドシアノン I の 標的タンパク質と抗腫瘍メカニズム 渡邊 元樹 京都府立医科大学 分子標的予防医学.....	(s67)

2 型糖尿病の糖毒性におけるインスリン発現抑制機構の解析

杉山 康憲

香川大学 農学部 応用生物科学科

はじめに

2 型糖尿病は生活習慣や遺伝的な要因によって高い血糖値を示す疾病であり、世界に約 4 億 6 千万人の患者が存在している。2 型糖尿病において高血糖状態が長期間持続すると、膵臓β細胞におけるインスリン分泌障害、インスリン発現抑制、アポトーシス、および肝臓や筋肉などの代謝組織におけるインスリン抵抗性が引き起こされる。これらの現象は“糖毒性”と呼ばれ、糖尿病を深刻化させる要因の一つとして知られている。2 型糖尿病患者において糖毒性状態が持続することにより糖尿病性網膜症や糖尿病性腎症などの合併症が引き起こされ、QOL (quality of life) が著しく低下することが問題となっている。これまでに糖毒性に関する研究として、2 型糖尿病モデルラットや肥満モデルマウスを用いた生理学的な解析が行われ、糖毒性におけるインスリン分泌・発現低下にインスリン転写因子である *pancreatic duodenal homeobox-1* (PDX-1) や *musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family A* (MafA) が関与することが明らかにされてきた。しかしながら、膵臓β細胞において糖毒性が引き起こされる分子メカニズムについてはほとんど明らかではなかった。そこで我々は、膵臓β細胞におけるインスリン発現抑制機構を明らかにするため、ラット膵臓β細胞由来インスリノーマ INS-1 細胞を用いた解析を展開してきた。本発表では、長期間の高グルコース処理を行って糖毒性状態を誘起した INS-1 細胞を用いて明らかにした糖毒性におけるインスリン発現抑制を制御する新規シグナル経路について報告する。

Calpain-CaMKIV を介したインスリン発現抑制機構

これまでに我々は、様々な生命現象に関わるシグナル経路を明らかにするため、細胞内プロテインキナーゼを幅広く認識することができるモノクローナル抗体としてマルチ PK 抗体を開発してきた。この抗体を用いて、様々な濃度(2.8, 5.6, 11.2, 22.4 mM)で長期間培養した INS-1 細胞におけるプロテインキナーゼの発現を解析したところ、インスリン分泌量と相関して発現量が変動する 63 kDa のバンドが検出された。このバンドの発現量は糖毒性状態において減少していた。そこで、このキナーゼを同定するため、INS-1 細胞抽出液を一次元目として液相等電点分離を行う二次元電気泳動に供したところ、63 kDa のキナーゼの等電点が約 5 であることを明らかにした。加えて、独自に開発した二次元電気泳動（一次元目の SDS-PAGE 後にゲル内臭化シアン分解を行い、二次

元目の SDS-PAGE を行う二次元電気泳動法）後に、マルチ PK 抗体を用いてキナーゼ断片を検出したところ、エピトープを含む断片の分子量が約 19 kDa であることが示された。これらの情報を基に *Swiss-Prot database* の *TagIdent program* により該当するキナーゼを探索した。さらに、該当キナーゼ特異的抗体を用いたウェスタンブロット解析により、このキナーゼが *calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV* (CaMKIV) であることを明らかとした。さらに、糖毒性状態の INS-1 細胞における CaMKIV の減少がカルシウム依存性プロテアーゼである *calpain* によることを *calpain* 阻害剤を用いた解析により明らかとした。続いて、糖毒性状態の INS-1 細胞に活性型 CaMKIV を過剰発現したところ、インスリン発現の抑制がレスキューされることが示された。これらの結果から、糖毒性におけるインスリン発現抑制に *calpain*-CaMKIV が寄与することが示唆された。

CPG16-JDP2 を介したインスリン発現抑制機構

糖毒性におけるシグナル経路の変化の全体像を明らかにするため、マイクロアレイおよびリアルタイム PCR により糖毒性状態の INS-1 細胞における遺伝子発現を網羅的に解析した。その結果、9 種類のプロテインキナーゼの発現量が 1.5 倍以上変化することが明らかとなった。これらの中で、*candidate plasticity gene 16* (CPG16) がインスリン発現を抑制することがインスリンプロモーターアッセイにより示された。さらに、*in vitro* キナーゼアッセイにより CPG16 の基質として *Jun dimerization protein 2* (JDP2) が見出され、JDP2 がインスリンの発現を正に制御する転写因子であることが明らかとなった。次に、ネイティブゲル電気泳動を利用した *electrophoretic mobility shift assay* (EMSA) により、JDP2 がインスリンプロモーター上の G1 領域に結合することが示された。さらに、JDP2 とインスリンプロモーターの結合が糖毒性状態の INS-1 細胞において減少することが明らかとなった。続いて、INS-1 細胞に CPG16 および JDP2 を共発現してインスリンプロモーター活性に及ぼす影響を解析したところ、CPG16 は JDP2 によるインスリンプロモーターの活性化を抑制することが明らかとなった。これらより、CPG16-JDP2 が糖毒性におけるインスリン発現抑制において重要な役割を果たすと考えられる。

第 21 回日本電気泳動学会奨励賞（服部賞）

革新的オンライン試料濃縮技術に基づく
超高感度キャピラリー電気泳動法の開発と応用

川井 隆之

九州大学 大学院理学研究院 化学部門

この度は荣誉ある電気泳動学会の服部賞を賜りまして、大変光栄に存じます。本受賞までに多くの方々のお世話になりましたが、特に労力を惜しまずにご指導下さいました京都大学の大塚浩二先生、弘前大学の北川文彦先生、大阪府立大学の末吉健志先生、産業技術総合研究所の萩原義久先生・永井秀典先生、名古屋大学の馬場嘉信先生、イリノイ大学の Jonathan Sweedler 先生、理化学研究所の田中陽先生・柳田敏雄先生・西田栄介先生・清水義宏先生、国立がん研究センターの安永正浩先生、九州大学の松森信明先生に深く御礼申し上げます。

生命は膨大な種類の生体分子が時空間的に緻密に制御された非常に複雑なシステムです。私は「生命というシステムはどのようにすれば解き明かせるか?」という問いに興味を持ち、主に分析化学・デバイス工学の観点から、微量の生体試料を高性能に分析するための技術開発を進めてきました。本受賞に至った一連の研究の中で、キャピラリー電気泳動 (CE) に関連する成果を紹介させていただきます。

CE は nL 体積の試料を高速・高分離能で分析できる優れた分離分析手法であり、レーザー励起蛍光 (LIF) や質量分析 (MS) と接続することで高感度な化学分析を実現できます。しかし注入可能な試料量が nL 体積であるために濃度感度が低いという欠点もあり、実用的な注入量 (μL 体積) を実現する手法が求められていました。これを解決するため、試料の電気泳動速度を制御することで一点に試料を収束させる「オンライン試料濃縮法」を開発してきました。その結果、糖鎖・アミノ酸・タンパク質などの生体関連物質を最大で 1 万倍程度濃縮することに成功し [1-7]、さらに近年では、耐塩性能と分離性能に優れた large-volume dual preconcentration by isotachopheresis and stacking (LDIS) 法を開発し、zmol レベルの超高感度バイオ分析基盤を構築しました。

開発した超高感度 CE 技術を応用し、1~100 細胞程度の微量生体試料を分析しました。糖鎖分析では LDIS 法と CE-LIF を組み合わせることで、僅か 100 個の HeLa 細胞から得られた N 結合糖鎖を定量的にプロファイルすることに成功しました [8]。メタボローム分析では LDIS 濃縮法に加え、超高感度イオン化技術 nanoCESI を新たに開発して CE-MS と組み合わせることで、1 細胞から 40 種類の代謝物を検出し、HeLa や MCF-7 などの細胞種による代謝個性を一細胞レベルで世界で初めて評価しました (図 1) [9]。

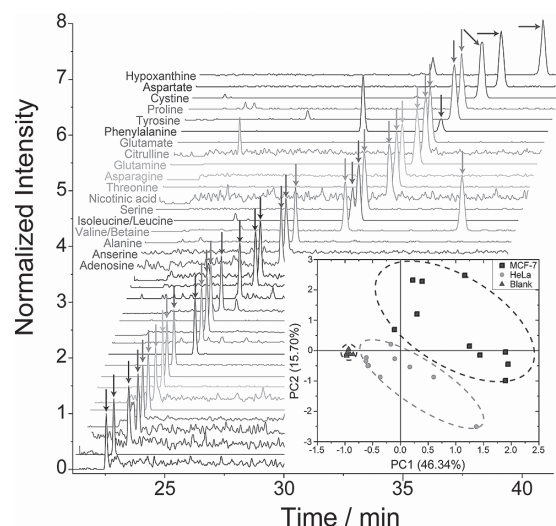


図 1. 単一細胞の CE-MS メタボローム分析で同定された 40 種類の代謝物ピークと HeLa 細胞・MCF-7 細胞の主成分分析結果。

現在本技術をさらに応用し、ヒト臨床検体を用いた応用研究などを進めています。例えば、病理組織切片中に $100\ \mu\text{m}$ 程度の領域として観察される『がん微小領域』などをレーザーマイクロダイセクションなどで単離してメタボローム・グライコーム解析することに成功しており、局所的に変異している代謝動態や糖鎖プロファイルを標的とした創薬研究を推進しています。また製薬企業と協力し、従来技術では困難であった、中分子薬剤の細胞内浸透性の評価などを実施しています [10]。このように、独自の電気泳動技術を基軸に世界最高感度のバイオ分析技術基盤を確立し、これを利用した医学・薬学等への応用研究を積極的に展開しており、今後も本研究を継続して社会へ貢献していきたいと思っております。

- [1] T. Kawai et al., *Anal. Chem.* **2010**, 82, 6504.
- [2] T. Kawai et al., *J. Chromatogr. A*, **2012**, 1232, 52.
- [3] T. Kawai et al., *J. Chromatogr. A*, **2012**, 1246, 28.
- [4] T. Kawai et al., *J. Chromatogr. A*, **2012**, 1267, 65.
- [5] T. Kawai et al., *Electrophoresis*, **2013**, 34, 2303.
- [6] T. Kawai et al., *Anal. Chem.* **2013**, 85, 6587.
- [7] T. Kawai et al., *Electrophoresis*, **2014**, 35, 2229.
- [8] T. Kawai et al., *J. Chromatogr. A*, **2018**, 1565, 138.
- [9] T. Kawai et al., *Anal. Chem.* **2019**, 91, 10564.
- [10] T. Kawai et al., *Anal. Chem.* **2021**, 93, 3370.

第 21 回日本電気泳動学会奨励賞（服部賞）

卵巣明細胞癌の新規バイオマーカー探索とその機能解析： 病理検体を用いたショットガンプロテオミクス法

松本 俊英^{1,2}、川島 祐介³、紺野 亮⁴、小寺 義男⁴、横井 愛香¹、秋谷 雅史⁵、小栗 康子¹、橋村 美紀¹、三枝 信¹

¹ 北里大学医学部病理学、² 北里大学医療衛生学部病理学、³ かずさ DNA 研究所、
⁴ 北里大学理学部附属疾患プロテオミクスセンター、⁵ がん研究会有明病院病理部

【背景】

卵巣癌の 4 大組織型（明細胞癌（OCCCa）、漿液癌、粘液癌、類内膜癌）のうち、OCCCa は本邦における発生率が上皮性卵巣腫瘍の約 20% で、欧米の 4-6% に比して極めて高いことが知られている（Onco Rep, 2009）。また、卵巣癌はシスプラチン（CDDP）などのプラチナ製剤を基盤とした抗癌剤療法に感受性が高く比較的良好な治療成績を示すにも関わらず、OCCCa は低細胞増殖能と抗癌剤耐性を示すことにより、進行癌における予後は極めて不良である。そこで、我々は臨床的にも生物学的にも特異な様相を示す OCCCa の診断や分子標的となるような新規バイオマーカーの探索に着手した。

【成果①：LEFTY の同定】

卵巣癌検体（4 大組織型の卵巣癌から夫々 4 例ずつ：計 16 例）のホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）検体から抽出したタンパク質をショットガンプロテオミクス法により網羅的に解析した結果、52 種のタンパク質が OCCCa にのみ検出された。我々はその中から最も高発現であった LEFTY（Left-right determinant factor）に着目した。LEFTY は TGF- β により誘導される分泌型タンパク質であり、細胞の増殖や分化に関与するとの報告がある。

免疫染色を行った結果、LEFTY 発現は他の組織型に比して OCCCa で有意に高発現であり、*in situ* hybridization 法による mRNA 発現レベルと相関性を示した。

次に OCCCa における LEFTY の発現意義を検索するため、OCCCa 培養細胞を用いて、上皮間葉転換（EMT）及びがん幹細胞（CSC）の観点から解析した。OVISE 細胞を間葉系幹細胞培地 STK2 で培養した結果、細胞形態の線維芽細胞様変化と細胞増殖能の低下といった EMT 現象が生じ、LEFTY と Snail タンパク質発現が亢進した。さらに ALDH や CD133 といった CSC マーカーの発現亢進や Spheroid 形成能の亢進が認められた。

LEFTY ノックダウン系細胞では線維芽細胞様の形態変化と Spheroid 形成能の低下、CSC マーカーの発現低下による EMT/CSC 化の低下が認められた一方、LEFTY 恒常発現系細胞では EMT/CSC 化の亢進を認めた。LEFTY 発現調節機構を解析した結果、TGF- β 刺激により活性化 Akt の亢進とともに GSK-3 β の不活性化を認め、LiCl 刺激による GSK-3 β の不活性化は LEFTY と Snail の発現亢進を認めた。

臨床検体による検討においては、Lefty 高発現群は低発

現群に比して有意に Vimentin 発現が高く、Sox2 と ALDH1 発現が高い傾向を示した。

以上より、LEFTY は OCCCa における新規バイオマーカーである TGF- β /LEFTY/Akt/Snail シグナルを介した EMT/CSC 化を誘導することにより、OCCCa の化学療法抵抗性といった生物学的特性を有する役割を担っている可能性を見出した（Akiya M et al. Oncotarget 2015; Matsumoto T et al. Mol Carcinog 2018）。

【成果②：EBP50 の同定】

再発 OCCCa 例で高発現となるタンパク質を網羅的に探索するため、5 症例の OCCCa 原発及び再発病変、計 10 例の FFPE 検体を用いたショットガンプロテオミクス法を行った。その結果、総計 2273 種のタンパク質から原発巣に比べて再発巣で特異的に発現する EBP50（ezrin-radixin-moesin binding phosphoprotein 50）を見出した。EBP50 は細胞膜近傍で PTEN と結合することにより PI3K/Akt シグナル系を阻害する一方で、細胞質においては Akt による核内移行で細胞増殖に関与するなど、その局在により機能が異なる分子として報告されている。

免疫組織化学染色を行った結果、EBP50 は原発巣に比して再発巣で有意に高発現であり、その局在は細胞質と核であった。EBP50 の機能解析を検索するため、TOV21 細胞を用いて EBP50 ノックダウン系を作製した結果、CDDP 処理により細胞生存率の低下とアポトーシス数亢進、bax や cleaved caspase-3 といったアポトーシス関連タンパク質の発現亢進を認めた。

次に EBP50 と結合するタンパク質を免疫沈降（IP）・ショットガンプロテオミクス法で網羅的に解析した結果、DNA 修復に関与する PARP（Poly ADP ribose polymerase）-1 を同定した。IP-Western blot 及び Pull down assay により、EBP50 の PDZ1 ドメインが PARP1 と結合することが明らかとなった。EBP50 ノックダウン系では、CDDP 処理科の PARP1 は発現及び PARP 活性の低下を認めた。臨床検体においても、原発巣における EBP50 細胞質または核発現と PARP1 高発現群は、全生存期間、無増悪生存期間ともに予後不良であった。

以上より、EBP50 は PARP1 発現とその機能の安定化からアポトーシス制御を行い、結果として癌細胞の生存と OCCCa 患者の再発・予後へ寄与することが示唆された（Matsumoto T et al. submitted）。

S-1 GSK3 β とタウの in vivo リン酸化の Phos-tag 電気泳動法による解析

久永 眞市

東京都立大学

東京都医学総合研究所

共著者氏名 木村 妙子^{1,2}、Ambika Krishnankutty¹、Nastaran Samimi^{1,3}

共著者所属 ¹ 東京都立大学、² 東京都医学総合研究所、³ Fasa University of Medical Sciences

Phos-tag SDS-PAGE 法を用いて、タウタンパク質とそのキナーゼの一つである GSK3 β の in vivo リン酸化を解析した。タウは微小管結合タンパク質であり、リン酸化により微小管重合活性が制御されている。一方、タウはアルツハイマー病 (AD) 脳では異常リン酸化されている。AD の病理診断はリン酸化抗体を用いて行われているが、AD 脳では 40 ヶ所以上のリン酸化部位が報告されており、多くの研究にも関わらずその全容は分かっていない。ここでは我々の Phos-tag 法による生理的、病的リン酸化解析を紹介する。GSK3 β はタウキナーゼの一つである。その活性は活性阻害部位 Ser9 のリン酸化で推定されている。しかし、その方法では活性型の測定はできないはずである。Phos-tag 法により、活性型を同定し、GSK3 β の活性制御について検討した結果も紹介する。

S-2 Phos-tag を用いた葉緑体チラコイド膜における タンパク質リン酸化の解析

加藤 裕介

摂南大学 農学部

共著者氏名 西岡 佳司、坂本 亘

共著者所属 岡山大学 資源植物科学研究所

葉緑体チラコイド膜では光化学系 II 複合体や集光性アンテナ複合体を構成するタンパク質での可逆的タンパク質リン酸化が知られ、これらは光合成機能調節に重要である。一方、近年のプロテオミクス解析では、さらなるチラコイド膜タンパク質のリン酸化が報告されている。また葉緑体チラコイド膜はグラナコア、グラナマージン、ストロマラメラという空間的に異なる3つの構造ドメインから成り、構造ドメイン間のタンパク質リン酸化状態に差があると考えられている。本研究では、生化学的にリン酸化タンパク質を分離する Phos-tag システムに着目し、葉緑体チラコイド膜におけるリン酸化タンパク質の 2D Phos-tag SDS-PAGE、及び構造ドメイン間のリン酸化状態の解析を試みた。これら結果を報告し、Phos-tag 利用の有用性について議論したい。

S-3 Phos-tag 誘導体化法による 新たな質量分析イメージング法の開発

可野 邦行

東京大学 大学院薬学系研究科

共著者氏名 岩間 大河³、青木 淳賢^{1,2}

共著者所属 ¹ 東京大学・大学院薬学系研究科、² 東北大学・大学院薬学研究科、³ AMED-LEAP

近年、新たな質量分析技術として質量分析 (MS) イメージング法が注目されている。MS イメージング法は、組織切片上でダイレクトに質量分析を行い、その結果から標的分子の局在をラベルフリーに可視化する手法である。本手法は生体内の様々な代謝物に応用可能である一方、一部の微量な代謝物は感度や特異度の問題からイメージングが困難であった。そこで最近我々は、Phos-tag を用いた誘導体化反応によって、リン酸モノエステル含有分子を組織切片上で特異的に標識し、これらの分子の高感度 MS イメージングを達成する手法を開発した。特に本手法によって、これまで我々が研究に取り組んできた微量脂質メディエーターであるリゾホスファチジン酸 (LPA) やスフィンゴシン 1 リン酸 (S1P) を初めて可視化することが可能となった。本発表ではこの Phos-tag 誘導体化 MS イメージング法を概説するとともに、その利用方法についても議論を行いたい。

S-4 Auto-immunomics を基盤とした がん患者血清中自己抗体の網羅的探索

小林 信

福島県立医科大学医学部基礎病理学講座

共著者氏名 片山 博之²、杉本 幸太郎¹、千葉 英樹¹

共著者所属 ¹ 福島県立医科大学医学部基礎病理学講座、

² Department of Clinical Cancer Prevention, The University of Texas M.D. Anderson
Cancer Center

自己抗体は腫瘍関連抗原それ自体よりも早期に患者血清から検出でき、がんの早期診断マーカーとしての有用性が示されている。近年、自己抗体には疾患特異的なサブタイプ、自己抗原やエクソソームと結合した複合体など様々な種類の存在が明らかになってきた。

本研究ではこれら様々な種類の自己抗体を網羅的に獲得し診断マーカーとしての有用性を検証するため、タンパク質マイクロアレイと質量分析法を組み合わせることで卵巣がん患者血清中自己抗体の網羅的プロファイリングを施行した。得られた分子に関して Ingenuity パスウェイ解析を施行したところ、先行研究により早期診断への有用性が示されている p53 や c-myc を含む特徴的な自己抗体シグネチャーが見出された。今後は自己抗体シグネチャーの早期診断への応用を目指すと共に、それに含まれる抗体の標的分子の機能解析や自己抗体形成のメカニズムについて検討を進めたいと考えている。

S-5 細胞接着分子クロードンとがん — マーカー分子としての有用性と治療標的としての 可能性

杉本 幸太郎

福島県立医科大学医学部基礎病理学講座

共著者氏名 小林 信、千葉 英樹

共著者所属 福島県立医科大学医学部基礎病理学講座

細胞間接着分子クロードン（CLDN）は20種類以上からなるファミリーを形成し、組織ごとに特定の組合せで分布している。細胞の腫瘍化に伴ってCLDNの発現パターンが変化することから、CLDNはがん診断マーカーとして利用できる。我々はいくつかの抗CLDNモノクローナル抗体を開発し、特に婦人科がんの予後予測マーカーとしての有用性を示してきた。一方でCLDNは物理的な接着のみならず様々なシグナル伝達の間としても機能し、異所性発現したCLDNが転移や薬剤耐性獲得など腫瘍の悪性形質増強に寄与することも報告されている。最近我々はCLDNの対合から核内受容体のセリンリン酸化に至る新しいシグナル伝達経路を発見し、これが子宮体がんの増殖能や遊走能を亢進することを明らかにした。このリン酸化はリガンド結合ポケットの三次元構造を変えることによってリガンド感受性に影響していると考えられ、同経路を標的とする新規治療法の開発も期待される。

S-6 肺がんのバイオマーカーとがん細胞の分化系統

佐藤 崇

北里大学医学部呼吸器内科学

慶應義塾大学医学部呼吸器内科

シグナル伝達分子の体性遺伝子異常を標的として分子標的療法、免疫チェックポイントを標的として免疫療法が導入され、肺がんに対する薬物療法は目覚ましい進歩を遂げてきた。非小細胞肺がんにおいてはEGFR、ALK、ROS1、BRAF、METの遺伝子変異/融合遺伝子やPD-L1発現が治療選択のバイオマーカーとして用いられ、標的療法が奏効すればそのメリットは大きい。しかし、肺腺がん以外においてはほとんど分子標的治療に結びつかず、標的治療可能な症例の多くはいずれ薬剤耐性となる。また免疫療法が長期奏効する症例もごく一部である。近年、肺がんの中でも極めて予後不良である小細胞肺がんにおいて、神経内分泌細胞系統因子によって規定される分子サブタイプの存在が明らかになってきた。一方、発表者らはエピゲノム解析によって各種肺がんにおける多様な分化プログラムを探索している。肺扁平上皮がんにおける新規分化系統の発見および今後の取り組みについて紹介する。

S-7 非小細胞肺がんの予後予測バイオマーカーの探索： 非小細胞肺がん生検サンプルの網羅的キナーゼ活 性解析を用いて

野口 玲

国立がん研究センター研究所希少がん研究分野

共著者氏名 吉村 彰紘²、竹田 隆之³、千原 佑介⁴、平沼 修⁵、大田 隆代⁶、行徳 宏⁷、
内野 順治²、高山 浩一²、近藤 格¹

共著者所属 ¹ 国立がん研究センター研究所希少がん研究分野、
² 京都府立医科大学大学院医学研究科呼吸器内科学、
³ 京都第二赤十字病院 呼吸器内科、⁴ 宇治徳洲会病院 呼吸器内科、
⁵ 市立大津市民病院 呼吸器内科、⁶ 和泉市立総合医療センター 腫瘍内科、
⁷ 長崎大学病院 第二内科 呼吸器内科・感染症内科

非小細胞肺がんの治療成績を改善するためにゲノムやトランスクリプトームのデータを用いて予後予測バイオマーカーの開発が試みられているが、臨床的に有用なものは見つかっていない。我々は非小細胞肺がんの予後と網羅的キナーゼ活性プロファイルの関係性を明らかにすることで、予後予測バイオマーカーの候補の同定を試みた。EGFR 遺伝子変異を有する stage IVb の非小細胞肺がんの生検サンプル 18 症例を用いて、PamStation12（ペプチドアレイ）で網羅的キナーゼ活性解析を行った。キナーゼ活性のプロファイルが予後良好群と不良群にて異なることがわかった。微量な生検検体で網羅的キナーゼ活性解析を行うことで、新しい角度からのバイオマーカーの開発が可能になると考えられる。

S-8 大規模プロテオゲノミクスにおける数理解析アプローチ – Cancer complexome を例として –

松井 佑介

名古屋大学糖鎖生命コア研究所 統合生命医科学糖鎖研究センター
名古屋大学大学院医学系研究科

がんは、ゲノム変異だけでなく、エピジェネティックおよびトランスクリプトームの制御異常を含む多くの分子イベントによって駆動される複雑なシステムである。しかし、それらの上流のイベントが下流のメカニズムをタンパク質レベルでどのように特徴づけているのかについての知識は、依然として乏しい。そのためプロテオゲノムの観点からの俯瞰的ながんシステムの攻略は今後重要なアプローチであると考えられるが、複数階層のオミックスデータを統合して扱うためのシステム生物学的な解析技術は依然として十分とはいえない。我々はタンパク質レベルの異常からゲノム異常へ原因を遡るための統計・数理的モデリング手法の研究を行っている。本講演では、主にがん特異的なタンパク質複合体（Complexome）の異常に着目した解析方法について近年の動向を踏まえて議論し、CPTAC / TCGA より公開されている大規模ながんコホートのデータを用いた応用例をいくつか紹介する。

S-9 酵素活性の網羅的解析 (enzymomics) に基づく 新規疾患関連酵素の発見

小松 徹

東京大学大学院薬学系研究科

共著者氏名 坂本 眞伍¹、浦野 泰照^{1,2,3}

共著者所属 ¹ 東京大学大学院薬学系研究科、² 東京大学大学院医学系研究科、³AMED-CREST

生体内には数千種類を超える酵素が存在し、これらによって担われる代謝反応によって生体の恒常性が維持されています。これらの機能の異常は多くの疾患とも関わることが知られており、その機能異常を理解することは疾患の本質の理解や、その診断、治療法の開発に繋がることが期待されます。演者らは、酵素の機能である酵素活性を直接的に可視化する蛍光プローブをライブラリ的に調整し、疾患時、正常時の酵素活性の変化を網羅的解析から明らかにする enzymomics の方法論の開発を進めてきました。本講演では、本法の検出感度を大幅に高める実験系として、微小サイズの反応容器を並列するマイクロデバイスを用いることで、1 分子レベルの酵素活性の検出を可能とし、疾患時、正常時の血液の状態変化を理解することを可能とした新たな実験系の開発について紹介させていただきます (S. Sakamoto et al. Sci. Adv. 2020)。

S-10 微量生体試料を対象としたペプチドミクス

小寺 義男

北里大学理学部物理学科 物性物理学講座

質量分析計の発展は著しく、細胞中のタンパク質を酵素消化して分析することにより 2 時間の分析で 10,000 種類に近いタンパク質の定量情報の取得が可能となりつつある。このことは素晴らしいことである。しかし一方では、酵素消化によって生体内で働くタンパク質、ペプチドの機能に関する情報は失われてしまう。そこで私は以前より生体内のネットワーク媒体であるペプチドを組織や体液から取り出し、高感度に観測することを目指して研究を進めてきた。現在までに血漿 0.2 mL から既知の生理活性ペプチドを含む 10,000 種類を超えるペプチドの検出に成功し、数種類の新規生理活性ペプチドの提案に至っている。また、組織についてはサブミリグラムの凍結切片から多数の既知ペプチドホルモンの検出に成功した。本シンポジウムでは、高効率なペプチド抽出法を基盤として包括的なペプチド分析についてお話しし、議論したい。

S-11 PEPPI-MS : トップダウンプロテオミクスのための サンプル前分画ワークフロー

武森 信暁

愛媛大学 先端研究・学術推進機構

生体内では1遺伝子から様々なタンパク質形態（プロテオフォーム）が生み出され、タンパク質の生理機能を多様なものにしている。タンパク質の消化ペプチドを解析対象とするボトムアップ型の質量分析はタンパク質の同定や定量化に有効であるが、しばしば解読不能な配列が生じ、プロテオフォームの特性評価への使用には問題がある。一方、トップダウン型の質量分析はインタクトタンパク質の配列解読が可能であり、高感度プロテオフォーム解析を可能にする技術として注目されている。トップダウン質量分析を用いて生体内のプロテオフォームを大規模に解析するには、生体サンプルの前分画処理が不可欠となるが、高分解能なタンパク質分離を可能にするポリアクリルアミドゲル電気泳動（PAGE）の活用は有効な選択肢であるといえる。本講演では、我々の開発した PAGE ベースのプロテオーム分画ワークフロー「PEPPI-MS」を解説し、トップダウンプロテオミクスへの活用例を紹介する。

S-12 ネイティブ質量分析 —リコンビナントタンパク質複合体から一細胞分析まで—

明石 知子

横浜市立大学理学部 理学科 生命医科学研究科

私が質量分析を用いたタンパク質の一次構造研究を始めたのは、プロテオーム解析という概念が存在しなかった 1980 年代後半でした。その後、タンパク質の機能を考える上で一次構造だけでは不十分と考え、1990 年代に入ってから、相互作用を質量分析で解析する研究を始め、本日はお話しするネイティブ質量分析へとつなげています。一次構造解析では、変性したタンパク質を用いるため、測定に酸や有機溶媒を用いて高感度で精密に質量を求めることができます。一方、ネイティブ質量分析では、変性しない条件下で質量分析を行う必要があり、測定に有利な酸や有機溶媒を用いることはできず、データを得るには試料ごとに厳しい最適化が求められます。本日は、リコンビナントタンパク質から再構成したタンパク質複合体のネイティブ質量分析や、細胞一つを質量分析計に導入し、その中に存在するタンパク質複合体を観測した例についてご紹介いたします。

S-13 タンパク質変性剤の濃度変化を利用した ゲル電気泳動の新たな利用法

大石 正道

北里大学理学部物理学科 生物物理学講座

ポリアクリルアミドゲルやアガロースゲルを用いたゲル電気泳動法は、長年にわたって、生体分子、特にタンパク質の分離・精製に用いられてきた。SDS-PAGE や等電点電気泳動法、そしてそれらを組み合わせた二次元電気泳動法がタンパク質分離に威力を発揮し、プロテオミクスではタンパク質分離およびパターン比較のツールとして重宝されてきた。

できるだけ多種多様のタンパク質（難溶性タンパク質や高分子量タンパク質などを含む）を解析するため、尿素やチオ尿素などのタンパク質変性剤や、SDS や CHAPS などの界面活性剤、S-S 結合の解離のために β -メルカプトエタノールや DTT などの還元試薬が、可能な限り高濃度の条件で使用されてきた。すなわち、タンパク質の立体構造やタンパク質複合体は無視され、どんな手段を使ってでも変性状態でタンパク質をゲル中に入れることに労力が注がれた。

しかしその一方で、非変性マイクロ 2 次元電気泳動法¹⁾や Blue-Native 電気泳動法²⁾は、タンパク質複合体解析に重要な役割を果たし、Phos-tag を用いた親和性電気泳動法³⁾は、リン酸化の数だけでなく部位特異的なリン酸化タンパク質の分離に威力を発揮した。

変性系の電気泳動法では、変性剤を最大限添加するプロトコルが採用される一方で、非変性系の電気泳動ではできるだけ変性剤を入れない条件でのプロトコルが作成され、その中間の濃度での事例はほとんどなかった。我々は、抽出液中の SDS 濃度を再検討し、タンパク質の変性状態を解析する新たな手法を開発した。

本シンポジウムでは、尿素やチオ尿素などの変性剤、あるいは SDS などの界面活性剤のタンパク質変性作用、およびそれぞれの試薬濃度を低下させた場合、電気泳動にどのような影響を及ぼすかを紹介するとともに、具体例として低濃度 SDS-PAGE の事例を紹介する。

我々は、低濃度の SDS を含む SDS 処理液中で牛肉から筋肉タンパク質を抽出し、6,200 rpm で 10 分遠心することで不溶性タンパク質を除去した後、上清を SDS-PAGE にかけた。牛肉の加熱温度に伴い、40°C ではミオシン重鎖、60°C ではコラーゲン、70°C ではトロポミオシン、80°C ではアクチンが、それぞれ凝集体を形成して沈殿し、ゲル中から失われていった。このことは、筋肉タンパク質は種類ごとに変性温度が異なることを示唆している。この低濃度 SDS と加熱を利用した手法は、タンパク質の分離法として利用できる可能性を示唆している。

【文献】(1) Manabe T, et al. Clin Chem. 1982;28:824–827.

(2) Schagger H, et al. Anal Biochem. 1991;199:223–231.

(3) Kinoshita E, et al. Mol Cell Proteomics. 2006;5:749–757.

S-14 E. coli タンパク質共発現系を利用した チロシンキナーゼアッセイ

木下 恵美子

広島大学大学院医系科学研究科

共著者氏名 木下 英司²、小池 透¹

共著者所属 ¹広島大学大学院医系科学研究科、²広島文教大学人間科学部

ヒトチロシンキナーゼ（9種）とその基質ペプチド（N-末に GST を融合）を大腸菌で共発現させた。その大腸菌の全タンパク質の Phos-tag SDS-PAGE, 抗 GST 抗体による WB 解析により、大腸菌内での活性を検討した。9種のキナーゼ全てが発現したが活性型は4種であった。9種のキナーゼを4種の *in vitro* タンパク質合成系で合成した場合は、大腸菌内で活性型として発現したものは、多くの *in vitro* タンパク質合成系でも活性型として合成された。チロシンキナーゼはリン酸化修飾が活性制御に関わるものが多いが、各種系で合成したタンパク質のリン酸化状態（Phos-tag パターン）と活性には相関があることがわかった。このことから、翻訳後修飾が機能に大きく関わるタンパク質の発現において、タンパク質合成系の選択には詳細な検討が必要であることが示唆された。

S-15 キャピラリー電気泳動法による DNA アプタマー- トロニン三元複合体の結合サイト、平衡および 速度パラメーターの測定

齋藤 伸吾

埼玉大学大学院理工学研究科

キャピラリー電気泳動法 (CE) は高度な分離分析手法として知られるが、平衡解析、速度解析手法としても有用である。特に均一系 (自由溶液) で平衡混合物の反応物と生成物をそれぞれ単離して精密計測できることが、他の解析法にない強みである。

この発表では DNA アプタマー (標的と特異的に結合する一本鎖 DNA) とトロニンタンパク質 (Thr) の複合体の平衡および速度解析について紹介する。DNA アプタマーの Thr への結合サイトは二種類知られており、三元錯体も形成可能である。三元錯体を形成する場合にはアロステリック効果も生じるため、その平衡および速度論は非常に複雑である。しかし、CE-レーザー励起蛍光検出法 (LIF) を用い、精密に空間分離するとともにそのピーク形状を解析することで、およそ 20 種類の DNA アプタマーの結合サイトを判別し、平衡および速度パラメーターをすべて求めることが可能であり、高機能なアプタマー配列を判別できることが分かった。

S-16 実験的炎症発がんモデルから考えるがん予防

岡田 太

鳥取大学医学部実験病理学分野
鳥取大学染色体工学研究センター

炎症は発がんとの因果関係が明確な要因である。発がんを促す遷延した炎症を惹起する病原体には、ウイルス、細菌、寄生虫などがある。これまでの基礎ならびに臨床研究により、これら慢性炎症によってもたらされる発がんの予防が現実のものとなる成果が現れてきた一方で、炎症発がん機構の全容を把握するには至っていないのが現状である。こういった状況を踏まえ、我々は異物基材を変えるだけで炎症の質（急性～慢性）を任意に、かつ限局した誘導ができ、しかも炎症反応を定量解析できる方法を考案した。この異物移入による炎症反応を利用して、マウス、ラットあるいはヒト由来の細胞が種を越えて発がん・プロGRESSIONを起こす動物モデルを作製してきた。これらのモデルから、発がんに占める炎症の確固たる科学的根拠を示し、原因を決定し、予防手段を開発してきた。本シンポジウムでは実験的炎症発がんモデルから考えるがん予防を紹介したい。

S-17 がん予防研究と今後の展開 ～大腸がんの化学予防を例に～

武藤 倫弘

京都府立医科大学 分子標的予防医学

ゲノム医療の時代を迎えて国民が病気のリスクに正面から向き合う可能性が高くなった今こそ、有効な先制医療の確立は、非常に重要な課題である。がんの高リスク者に対しては、1次予防である生活習慣・環境面の改善からがんの発生率を下げることや2次予防であるがん検診だけでは不十分である。化学予防のようにより積極的ながん予防を加えた総合的ながん予防対策が必須と考える。これまでに、発がんメカニズムの解明も進み、そのメカニズムに即したスクリーニングなどを介して、がん化学予防剤の開発が粛々と進められている。動物実験、臨床試験共にまだ解決しなければならない点が多々あるが、これまでがん化学予防剤の開発にとってボトルネックと考えられてきた臨床試験の基盤整備がわが国で進んだ今こそ、真にがんの先制医療に向けた議論をこのシンポジウムでは行いたい。

S-18 フコキサンチンによるマウス大腸がん予防作用

寺崎 将

北海道医療大学薬学部 先端研究推進センター

共著者氏名 窪田 篤人¹、小島 弘幸^{1,2}

共著者所属 ¹北海道医療大学薬学部、²先端研究推進センター

フコキサンチン (Fx) は、ワカメ等の褐藻類に含まれるキサントフィルの一つであり、マウス等に強い抗がん作用を示すが、その機序は不明な点が多い。我々は、大腸発がんモデル AOM/DSS マウスを用いて Fx による抗がん作用を調べた。その結果、Fx を投与した AOM/DSS マウスでは、大腸腺がん発症抑制と共に、腫瘍微小環境形成抑制効果が認められた。また、大腸組織において、基質剥離型細胞死アノイキスを誘導した細胞の増加や、Cell cycle、PI3K/AKT 等の増殖関連シグナルの抑制効果が示された。さらに、糞便中の Lachnospiraceae 菌群の増加、及びこの糞便を投与したマウスにおけるがん予防効果が認められた。以上の結果より、Fx を投与した AOM/DSS マウスでは、腫瘍微小環境形成抑制、アノイキス誘導、増殖関連シグナル伝達抑制、腸内細菌叢変質等を介してがん予防効果が得られた可能性が示唆された。

特別講演：バイオバンクの現状と展望

がんの新しい診断治療法開発の発展を目指し設立した 栃木がんセンターバイオバンクの紹介

菊田 一貴

栃木県立がんセンターバイオバンクセンター

栃木がんセンターバイオバンク

共著者氏名 近藤 格^{1,2}、吉松 有紀^{1,2}、仲谷 博安³、佐々木 里奈³、中野 公子¹、
吉田 祐甫¹、尾澤 巖¹

共著者所属 ¹ 栃木県立がんセンターバイオバンクセンター栃木がんセンターバイオバンク、
² 国立がん研究センター研究所希少がん研究分野、³ 株式会社ビジコムジャパン

昭和 61 年に開設された栃木県立がんセンターは、都道府県がん連携拠点病院として多くのがん患者の診療を行ってきた。近年の科学技術革新に伴うがん診断治療法の急速な変化・発展に対応するためバイオバンクやデータベース構築の重要性が増している。バイオバンクやデータベースを活用することで、分子情報をもとに個々の症例に最適な治療法を選択したり、少数の症例からは得ることができない普遍的な情報を得たり、希少がんや難治性がんの研究を行ったりすることも可能になる。そこで、栃木県立がんセンターではがんゲノム検査をはじめとする患者組織を用いた検査に備えることと、がんの基礎研究および新規治療法開発のためのトランスレーショナルリサーチを推進することを目的に 2021 年 4 月に栃木がんセンターバイオバンクを開設した。本学会にて、当院で開設したバイオバンクの目的や特徴について紹介する。

特別講演：逆相タンパクアレイ基盤のがん精密医療への応用

逆相タンパクアレイ基盤のがん高精度医療への応用

増田 万里

国立がん研究センター研究所プロテオーム解析部門

がん治療の中心的役割を果たす分子標的治療薬の投与対象者をコンパニオンマーカーによって層別化する高精度医療が一般化しつつある。本邦においても 2018 年にゲノム医療が本格始動し、医療の質の向上や医療財源に対する経済効果、更には医薬品開発の加速化に寄与することが期待されている。しかし、検出された遺伝子変異に対し適切な治療が提示され、その恩恵を受けることのできる症例は全体の 10% に至らず、初回及び獲得薬剤耐性もゲノム解析のみでは克服に至っていない。今後はゲノム解析に加えプロテオーム解析等のデータ情報を統合し、病態をより正確に把握することで治療戦略を提示する高精度医療が求められる。本講演では、多くの分子標的治療薬が制御するシグナル経路上のタンパク質のリン酸化を検出する方法として我々が開発した逆相タンパクアレイ法の技術とがん医療における有用性、そして今後の高精度医療への応用の展望について紹介する。

P-1 SARS-CoV-2 ヌクレオカプシドタンパク質のリン酸化 のおよびプロリン異性化酵素 Pin1 との相互作用解析

井野 洋子

横浜市立大学 先端医科学研究センター

共著者氏名 西 真由子²、山岡 悠太郎^{2,3}、宮川 敬²、木村 弥生¹、梁 明秀²

共著者所属 ¹横浜市立大学 先端医科学研究センター、²横浜市立大学 医学部、

³ 関東化学株式会社 技術・開発本部 生命科学研究所

ウイルスタンパク質のリン酸化は、ウイルスの感染、増殖および病原性発現に関与していることが知られている。本研究では、Phos-tag マグネットビーズを用いて SARS-CoV-2 のヌクレオカプシドタンパク質 (NP) のリン酸化部位を同定した。同定されたリン酸化部位は、近縁のコロナウイルスでは保存されていない、SARS-CoV-2 特有のアミノ酸であった。またこのリン酸化部位の次のアミノ酸残基がプロリンであったことから、NP と宿主プロリン異性化酵素 Pin1 との相互作用について確認したところ、Pin1 が本リン酸化部位に結合することが明らかとなった。さらに、Pin1 ノックダウンにより細胞上清中のウイルス RNA 量が顕著に低下した。これらの結果から、SARS-CoV-2 NP は進化の過程で新たなリン酸化を獲得し、本リン酸化部位における Pin1 との相互作用が、ウイルス複製を正に制御している可能性が示唆された。

P-2 Kidney injury molecule-1 の 早期腎症診断マーカーとしての有用性

五十嵐 久留未

麻布大学生命・環境科学部生化学研究室

共著者氏名 前田 浩人²、曾川 一幸¹

共著者所属 ¹麻布大学生命・環境科学部生化学研究室、²前田獣医科医院

近年イヌの飼育頭数の減少に伴い、ネコの飼育頭数がイヌを上回りつつある。特にネコにおいては、腎機能不全症例がイヌと比較して高率に発症することから治療する機会も多く、早期の段階で腎臓機能の評価を行い、それぞれの症状に合わせた対応が必要と思われる。今回我々は、ヒトにおいて近位尿細管損傷のバイオマーカーとして応用されている Kidney Injury molecule-1 (KIM-1) を尿中から検出測定し、腎機能不全早期診断マーカーとしての有用性について検討した。検体は、臨床的に正常と診断されたネコ尿 25 検体、IRIS 分類 stage I ネコ尿 25 検体、IRIS 分類 stage II ネコ尿 8 検体、合計 58 検体を用いた。尿検体はネコ腎症の尿 3 検体、正常ネコの尿 3 検体を任意に抽出し、Albumin & IgG Depletion SpinTrap で処理し、各サンプルを安定同位体標識試薬 Tandem Mass Tag で標識した。酵素消化したサンプルは LC-MS/MS 測定を行い、データベースサーチによりタンパク質同定と比較定量を同時に行った。腎症で発現量の変化がみられた新規マーカー候補タンパク質の検証は ELISA を構築して評価した。KIM-1 は全ての検体において、腎症群の比率（腎症群 / 正常群）が 2.0 以上を示し、腎症の変動を反映するマーカーであった。尿 KIM-1 濃度は正常ネコで 33.8 ± 10.6 pg/mL、慢性腎症ネコ尿 (Stage I) で 59.9 ± 9.5 pg/mL、慢性腎症ネコ尿 (Stage II) で 89.1 ± 19.3 pg/mL であり、慢性腎症ネコは正常ネコに比べ、 $p < 0.001$ と有意に高値を示した。

P-3 Claudin-9 は子宮体がんの新規予後マーカーである

遠藤 雄大

福島県立医科大学医学部 産科婦人科学講座

福島県立医科大学医学部 基礎病理学講座

共著者氏名 杉本 幸太郎、Rahman Abidur、小林 信、千葉 英樹

共著者所属 福島県立医科大学医学部 基礎病理学講座

細胞間接着分子クローディン（CLDN）は20種類以上からなるファミリー分子で、組織や細胞ごとに特有の組合せで発現している。腫瘍化に伴い CLDN の発現パターンが変化することから、がん診断マーカーとしての有用性が示されている。最近我々は CLDN6 高発現が子宮体がんの予後不良因子であることやその分子機構を解明した。また TCGA データベースによれば CLDN6 と進化的に近縁な CLDN9 も子宮体がんの予後不良因子であることが示唆された。そこで本研究では CLDN9 特異抗体を樹立し、子宮体がんにおける CLDN9 発現を半定量評価して予後や臨床病理学的因子との関連を検討した。その結果 CLDN9 高発現は子宮体がんの予後不良因子であり、進行期や悪性度と正の相関を示した。一方で CLDN9 は同様に予後不良因子である CLDN6 とは異なる発現分布を示し、両者は異なる機構で発現制御されている可能性が考えられた。

P-4 低濃度 SDS 抽出液を用いた筋肉および魚卵タンパク質の加熱変性過程の解析

大石 正道

北里大学理学部物理学科 生物物理学講座

共著者氏名 渡邊 沙巴羅、松本 開夢

共著者所属 北里大学理学部物理学科生物物理学講座

【背景】筋肉タンパク質は、長期保存や加熱処理によってタンパク質の変性が生じ、立体構造が崩れてアグリゲートを形成し他のタンパク質との結合性が変化する。しかし、タンパク質の等電点や分子量に変化がなければ、タンパク質を変性条件で解析する SDS-PAGE や二次元電気泳動法ではその違いは区別できない。そこで、我々は抽出液に含まれる SDS 濃度を低下させることによって、タンパク質の加熱変性を調べる手法を開発した。また、この方法で SDS-PAGE を行い、魚卵アレルギー患者血清を用いて、アレルゲンの検出を試みた。

【材料および方法】市販の牛肉、魚肉を材料に用いて、加熱温度の上昇に伴う各タンパク質の変性状況を調べた。5 mm 角の肉片を 30 秒それぞれの温度に加熱した湯煎に浸し、SDS 濃度を 0% または 0.1% に低下させた抽出液（SDS 以外は通常の SDS- サンプルバッファーと同じ組成のもの）を使って、筋肉片をテフロンホモジェナイザーで破碎し、6,200 rpm で 5 分遠心した上清を SDS-PAGE 用サンプルとして用いた。魚卵の場合は、低濃度 SDS 抽出液でタンパク質を抽出後、SDS-PAGE と Western Blotting (WB) を行い、魚卵アレルギー患者の血清と反応させた。比較のために、非変性または加熱後の魚卵抽出物をドットブロットし、魚卵アレルギー患者の血清と反応させた。

【結果】牛肉をそれぞれの温度で加熱した結果、40℃ではミオシン重鎖、60℃ではコラーゲン、70℃ではトロポミオシン、80℃ではアクチンが、それぞれ凝集体を形成して沈殿し、ゲル中から失われていった。魚肉では、ミオシン重鎖は 4℃でも抽出されにくく、50℃でアクチンとトロポミオシンが失われた。魚卵を用いた場合、低濃度の SDS を含む抽出液で SDS-PAGE から WB を行ったが、魚卵アレルギー患者血清とは全く反応が見られなかった。

【考察】牛肉または魚肉を用いた場合、温度依存的に特異的なタンパク質がゲル中から消失したことから、この方法は筋肉タンパク質の分離に利用できる可能性を示唆している。しかし、ドットブロットを行った結果、魚卵アレルギー患者血清は魚卵タンパク質と強い反応が見られ、魚卵抽出物に変性剤を加えずに、ただ加熱しただけで反応性が激減した。これは、加熱のみで魚卵アレルゲンの立体構造が崩れて患者血清との反応性が失われたことを意味する。本研究では、SDS 処理液から SDS は除いたものの、還元剤として β メルカプトエタノールは含まれており、ゲル中には 0.1% SDS が含まれていることから、アレルゲンの反応性が失われたことは当然であると考えられた。変性剤なしの条件では、多くのタンパク質をモノマーに解離することはできず、ゲル電気泳動を行うことは難しい。従って、本研究の結果から、SDS-PAGE と WB からアレルゲンを同定する方法では、タンパク質の立体構造を認識する多くのアレルゲンを見逃していた可能性を示唆している。

P-5 Phos-tag 対角線電気泳動を用いた 血清中リン酸化タンパク質の解析法の検討

大川原 佑季

学校法人群馬パース大学大学院保健科学研究科

共著者氏名 木村 鮎子¹、林 由里子¹、平野 久²、長田 誠¹

共著者所属 ¹学校法人群馬パース大学大学院保健科学研究科、²学校法人群馬パース大学

血清中には数千種類以上のタンパク質が含まれ、その大部分が糖タンパク質であるといわれている。一方で、これらのタンパク質のリン酸化状態の解析はほとんど進んでいないのが現状である。発表者らは、SDS-PAGE と Phos-tag SDS-PAGE を組み合わせた Phos-tag 対角線電気泳動法を用いて、血清中リン酸化タンパク質の分離条件の検討を試みた。

血清中の 14 種類の高濃度タンパク質をスピニングカラムで除去したものをを用いて泳動を行ったところ、血清中に多い約 60 kDa 以上の比較的高分子量のタンパク質スポットが密集して検出された。そこで、一次元目のアクリルアミド濃度を 15% から 10% に下げ、さらに二次元目のアクリルアミド濃度を 10% と 7.5% に、Phos-tag 濃度を通常の 50 μ M から 25 μ M に変更して分離が改善されるか検証するとともに、検出したスポットの切り出しと質量分析による同定を進めている。

P-6 ホロ / アポ変換二次元尿素 PAGE によるヒト血清試料 中トランスフェリンの鉄結合状態と遊離 Fe^{3+} 濃度の 測定

大野 萌衣

埼玉大学大学院理工学研究科

共著者氏名 石川 順子、半田 友衣子、齋藤 伸吾

共著者所属 埼玉大学大学院理工学研究科

生体中の金属イオンはメタロタンパク質と複合体を形成し生命活動に必須の機能を有する一方、疾病にも深く関与する。そのためメタロタンパク質の分析は重要であるが、分離場の汚染金属イオンの存在やメタロタンパク質の単離が困難な点が大きな課題である。本研究では、これらの課題を解決したトランスフェリン (Tf) に対する分析手法としてホロ / アポ変換二次元 - 汚染金属イオンスウィーピング - 尿素 - PAGE を開発した。この手法では、分離場の汚染金属イオンをキレート錯体に誘導体化して電気泳動的に排除する。さらに、尿素変性下でホロ型 Tf とアポ型 Tf の電気移動度が異なることに着目し、試料中からホロ型 Tf だけを二次元対角外へと単離可能であった。これにより、ヒト血清中 Tf の鉄結合状態のスペシエーションに成功した。さらに単離した 3 種のホロ型 Tf の濃度比から超微量に存在する遊離 Fe^{3+} 濃度の測定に初めて成功した。

P-7 いくらアレルギーにおける新規アレルゲンの探索・同定

小澤 彩夏

麻布大学生命・環境科学部生化学研究室

共著者氏名 藤田 雄治²、下条 直樹³、曾川 一幸¹

共著者所属 ¹麻布大学生命・環境科学部生化学研究室、²獨協医科大学医学部小児科学、

³千葉大学予防医学センター

魚卵アレルギーは食物アレルギーの中で、食生活の広がる幼児期以降で主要な原因のひとつであり、1歳児で7%、2.3歳児で5%を占めている。さらに、いくらアレルギーは近年、消費拡大に伴って増加しており、アナフィラキシーショックを呈する頻度は全食物アレルギーの中でも高いと報告されている。獨協医科大学病院小児科に受診したいくらアレルギー患者5名の血清検体を用いた。0.5gのいくらかと300 µLのサンプルバッファーを混合し、21130 gで遠心後、上清をタンパク質抽出液とした。一次抗体はブロッキングバッファーで20倍希釈したいくらアレルギー患者血清、二次抗体はMouse Anti human IgE抗体、三次抗体はMouse Immnoglobulins/HRPを用い、検出はLight-Capture II (Cooled CCD Camera System)を用いた。ウエスタンブロット法で検出したタンパク質はSDS-PAGE後CCB染色を行い、バンドを切り出し、トリプシン消化後、LC-MS/MSにより同定した。ウエスタンブロット法にてアレルギー患者5名で3バンドが検出され、Vitellogeninの分解産物であるLipovitellin I、Phosvitin、Lipovitellin IIが同定された。特にLipovitellin Iは鱈、飛魚、柳葉魚の魚卵において交差反応を示した。今後、Lipovitellin Iのエピトープ解析を行う予定である。

P-8 骨巨細胞腫の新規患者由来細胞株 NCC-GCTB4-C1 の樹立と特性評価

小野 拓也

国立がん研究センター研究所希少がん研究分野

共著者氏名 野口 玲¹、吉松 有紀¹、土屋 流人¹、申 育實¹、清 茜¹、桑田 優¹、
平林 かおる²、尾澤 巖³、菊田 一貴⁴、近藤 格¹

共著者所属 ¹ 国立がん研究センター研究所 希少がん研究分野、² 栃木県立がんセンター 病理診断科、
³ 栃木県立がんセンター 肝胆膵外科、⁴ 栃木県立がんセンター 骨軟部腫瘍・整形外科

骨巨細胞腫（GCTB）は H3F3A 遺伝子の変異、そして骨形成マーカー Osterix の発現および特徴的な組織像を有する稀な中間悪性腫瘍である。完全切除が GCTB の標準的な治療法だが、高頻度で局所再発し、稀に遠隔転移するため、効果的な集学的治療が求められる。患者由来細胞株は前臨床研究や基礎研究の重要なツールだが、GCTB の細胞株は 11 のみの報告にとどまる。本研究では新規の GCTB 細胞株の樹立を目的とした。我々は GCTB の腫瘍組織から細胞株を樹立し、NCC-GCTB4-C1 と命名した。電気泳動を用いた解析により、H3F3A 遺伝子の変異および Osterix の発現を NCC-GCTB4-C1 において確認できた。NCC-GCTB4-C1 を用いて 214 種類の抗がん剤スクリーニングを実施し、有効な薬剤 7 剤を特定した。以上より NCC-GCTB4-C1 は GCTB の前臨床研究や基礎研究の発展への寄与が期待できる。

P-9 絹の質量分析法の改良と他の動物性繊維への応用

梶原 英之

農業食品産業技術総合研究機構（農研機構）

共著者氏名 村上 理都子、伊賀 正年、小瀬川 英一

共著者所属 農業食品産業技術総合研究機構（農研機構）

繭および絹をギ酸等で部分分解し、それをマトリックス支援飛行時間型質量分析装置で調べることによって、種さらに品種の判別ができることを第 71 回日本電気泳動総会で発表した。本法は約 10 分で品種差まで判別できたが、最終的に絹織物となるフィブロインの段階になると、質量分析で得られるピーク数が少なく、判別できない場合があった（旧法）。しかし、さらにマイクロ波または加熱処理することによって、より多くのペプチド断片が出てくることが見出された（新法）。

旧法ではフィブロインの C 末端領域のみが断片化していたが、新法ではその他の部分も断片化することがわかった。これによって、旧法では品種判別が困難だったものも判別できると期待された。また、旧法では、動物性繊維（獣毛、羽毛、クモ糸、皮革、角など）の分析はできなかった。しかし、新法ではこれらの繊維でも短時間で断片化し、質量分析で差異を見出すことができた。

P-10 Bmi-1 ノックアウトマウスと老化マウスにおける 顎下腺ムチンの類似性

亀山 昭彦

産業技術総合研究所細胞分子工学研究部門

共著者氏名 テッティンウェイウェイ¹、西島 理咲²、山越 貴水²

共著者所属 ¹産業技術総合研究所細胞分子工学研究部門、²国立長寿医療研究センター研究所

唾液腺で産生される粘性糖タンパク質であるムチンの変化は、加齢による口腔乾燥症の発症やそれに伴う口腔衛生状態の悪化に寄与していると考えられる。私たちは分子マトリックス電気泳動を用いて加齢に伴うマウスの顎下腺ムチンの変化を調べたところ、糖鎖プロファイルの異なる3種のムチンの発現が月齢に伴って変化し、老化によって増加するムチンには特徴的な糖鎖が含まれることを明らかにした。また、ポリコーム複合体の一つであり老化の抑制に働くとされる Bmi-1 遺伝子をノックアウトしたマウスにおいて、顎下腺ムチンの発現量が増加し、そのムチンには野生型にはほとんど含まれていない糖鎖が結合していた。クロマチン免疫沈降実験により、Bmi-1 はマウスムチン MUC10 のスプライシングバリエーションである *smgc* と GlcNAc 転移酵素の一つである *Gcnt3* を抑制していることが明らかとなった。本ポスターでは老化したマウスと Bmi-1 ノックアウトマウスの顎下腺ムチンにおける類似性を議論する。

P-11 血清 / 血漿プロテオーム解析による COVID-19 の重症化関連因子の探索

木村 弥生

横浜市立大学先端医科学研究センター

共著者氏名 中居 佑介¹、Shin Jihye¹、久保 創介²、Sundararaj S Jeremiah²、井野 洋子¹、
秋山 知子¹、森山 佳谷乃¹、梁 明秀^{1,2}

共著者所属 ¹横浜市立大学先端医科学研究センター、²横浜市立大学大学院医学研究科微生物学

SARS-Cov-2 を原因とする新型コロナウイルス感染症（COVID-19）患者の 20% 程度は重症化するが、その機構は未だ十分に明らかになっておらず、治療方針を決定するための予後因子も特定されていない。本研究では独自構築したスペクトルライブラリを活用したデータ非依存質量分析法（DIA-MS）により、重症 COVID-19 の予後と密接に関連する血清タンパク質を探索した。その結果、予後に関連して 27 種類の血清タンパク質量が有意に変動することが確認され、その中の 15 個はサイトカインシグナルによって発現制御され、その発現の違いが全身の炎症反応や心血管疾患に関与している可能性が示唆された。また ELISA 法を用いた解析から高感度で強力な 2 種類の予後マーカーを見いだした。今回の結果は、重症の COVID-19 患者を正確に識別するための診断法の策定や、予後予測に基づいた適切な治療の提供に役立つと考えられる。

P-12 臨床検査の電気泳動法における酵素のアイソザイム検査の問題点—アイソザイムによって K_m が大きく異なる LD を例に—

楠 美理沙

埼玉県立大学 保健医療福祉学部

共著者氏名 神永 瞳¹、渡辺 俊太²、松下 誠¹

共著者所属 ¹ 埼玉県立大学 保健医療福祉学部 健康開発学科 検査技術科学専攻、

² 埼玉県立大学大学院 保健医療福祉学研究科

【背景・目的】臨床検査における酵素活性測定は、勧告法の設定により基準範囲の共有化が図られ、液状試薬であるため基質濃度は均一と考えられる。一方、アイソザイム分析は支持体上で活性染色が行われるため、染色中の基質濃度は不均一と推測される。今回アイソザイムで K_m が大きく異なる LD を対象に、基質濃度の不均一に伴うアイソザイム検査の問題点を検討した。

【方法】LD1 と LD5 のアイソザイム試料を等量混合したものを使用し、LD 活性および LD アイソザイム分析を行った。また比較するため蛋白分画を実施した。

【結果】電気泳動法では 1 枚のゲルで 20 検体測定可能である。LD アイソザイムは、塗布位置による分画値に変動したが、蛋白分画ではほとんど変動が認められなかった。

【考察】LD アイソザイムは酵素反応速度染色、蛋白分画は終点染色している。LD アイソザイムではゲル内の基質濃度が不均一なため、 K_m が約 4 倍異なる LD1 と LD5 の分画値が変動したと考えられた。

P-13 非小細胞肺がんにおける術後補助化学療法効果予測 マーカーとしての TRAP1 の有用性について

朽津 有紀

北里大学医療衛生学部臨床検査学

北里大学医療衛生学部附属再生医療・細胞デザイン研究施設細胞デザイン研究開発センター

北里大学大学院医療系研究科応用腫瘍病理学

共著者氏名 井川 聡⁴、楠原 政一郎⁴、猶木 克彦⁴、土屋 紅緒^{2,3,5}、佐藤 之俊⁶、一戸 昌明⁷、
村雲 芳樹⁷、三枝 信⁷、佐藤 雄一⁸、長塩 亮¹⁻³

共著者所属 ¹ 北里大学医療衛生学部臨床検査学、
² 北里大学医療衛生学部附属再生医療・細胞デザイン研究施設細胞デザイン研究開発センター、
³ 北里大学大学院医療系研究科応用腫瘍病理学、⁴ 北里大学医学部呼吸器内科学、
⁵ 北里大学医療衛生学部病理学、⁶ 北里大学医学部呼吸器外科学、⁷ 北里大学医学部病理学、
⁸ 北里大学医学部泌尿器科学

現在、手術可能な非小細胞肺がん（NSCLC）患者に対し、再発防止を目的として行う術後補助化学療法が標準治療となっている。しかし、この治療効果を予測するバイオマーカーに関する報告はほとんどない。本研究では、術後補助化学療法を受けた NSCLC 患者血清中の自己抗体を用いたプロテオーム解析により新たな治療効果予測マーカーの探索を行った結果、TRAP1 を見出した。Stage II-III A 期で術後補助化学療法を受けた NSCLC 患者 107 症例を対象として免疫染色を行い、TRAP1 発現量と臨床病理学的因子との関連性を統計学的に解析した。その結果、TRAP1 の高発現はステージの進行、リンパ節転移およびリンパ管侵襲ありと有意な相関を示した（全て $P < 0.001$ ）。また、無再発生存期間（DFS）との関連性については、TRAP1 高発現群では低発現群に比して DFS が有意に短期であった（ $P < 0.001$ ）。NSCLC 患者における単変量解析では、TRAP1 と DFS に有意な相関関係が認められ（ $P < 0.001$ ）、TRAP1 が治療効果予測マーカーとして有用であることが示唆された。

P-14 被包化肝細胞癌組織のプロテオーム解析から狙う 浸潤抑制

久原 啓資

北海道医療大学 歯学部 生体機能・病態学系 顎顔面口腔外科学分野

北海道医療大学 先端研究推進センター

共著者氏名 北川 孝雄²、小林 正伸²、永易 裕樹¹、藏満 保宏²

共著者所属 ¹北海道医療大学 歯学部 生体機能・病態学系 顎顔面口腔外科学分野、

²北海道医療大学 先端研究推進センター

【目的】肝細胞癌（HCC）は腫瘍周囲に線維性の被膜を形成することが多く見られる。そこで HCC の被膜維持が癌浸潤抑制となる可能性を仮定し HCC の被膜維持と破綻に関与する蛋白質同定を目的とした。【材料と方法】外科切除された HCC 組織の被膜形成群と破綻群を二次元電気泳動（2-DE）と質量分析法（LC-MS/MS）でのプロテオーム解析で被膜維持に関与する可能性のある蛋白質を同定した。【結果】14 スポットに有意な発現の増強・減弱を確認し、LC-MS/MS で 12 種類の蛋白質が同定された。被膜破綻群において有意に発現が減弱した蛋白質として PCK2、LAP3、PEBP1 が同定されウェスタンブロットで PCK2、LAP3 の有意な発現減弱が確認できた。【結論】HCC の被膜破綻には PCK2 と LAP3 が関与している可能性が示唆された。

P-15 生体膜局所の脂質プロファイリングに向けた 微量質量分析技術の開発

久保田 颯

九州大学

共著者氏名 木下 祥尚、松森 信明、川井 隆之

共著者所属 九州大学

脂質ラフトなどの「生体膜マイクロドメイン」は、細胞内外の物質移動・シグナル伝達・ウイルス感染などの重要な生命現象に関与している。脂質ラフトを解析する手法として、蛍光標識脂質プローブや人工膜を用いた間接的手法が挙げられるが、生細胞膜局所の脂質プロファイルを直接取得できる分析法は存在しない。そこで、一細胞レベルの微量試料をガラス製マイクロニードルで採取し、そのままナノエレクトロスプレーイオン化質量分析 (nanoESI-MS) で解析する「一細胞質量分析」に注目した。この技術を用い、生体膜局所を直接採取して解析することで、世界初の膜局所における脂質プロファイリングを実現することを着想した。本発表では、解析に用いるガラス製マイクロニードルの加工法や nanoESI-MS 分析条件の最適化結果および、人工膜である giant unilamellar vesicle をモデル試料とした分析結果を報告する予定である。

P-16 スフェロイド培養および単層培養した患者由来がん細胞株を用いた CIC-arranged 肉腫の in vitro での薬剤スクリーニング

桑田 優

国立がんセンター研究所希少がん研究部

株式会社 Biospecimen Laboratories

共著者氏名 吉松 有紀¹、野口 玲¹、土屋 流人¹、申 育實¹、小野 拓也¹、仲谷 博安¹、
川井 章³、近藤 格¹

共著者所属 ¹ 国立がんセンター研究所希少がん研究部、² 株式会社 Biospecimen Laboratories、

³ 国立がんセンター病院 骨軟部腫瘍・リハビリテーション科

CIC 遺伝子再構成肉腫は有効な治療法は確立されておらず、予後不良な肉腫である。我々は、CIC 遺伝子再構成肉腫の 3 症例の腫瘍組織から樹立された 3 つの細胞株を、スフェロイド培養と単層培養の二つの方法を用いて培養し、薬効試験を行った。214 種類の抗がん剤の抗増殖効果を評価した結果、培養方法によって細胞はグループ化される傾向があった。1 つのクラスターに含まれる 10 種類の抗がん剤は、両方の培養方法においてすべての細胞株の増殖を阻害することがわかった。この 10 種類の抗がん剤は CIC 遺伝子再構成肉腫以外の悪性腫瘍で臨床的に使われている。培養法を問わず CIC 遺伝子再構成肉腫へ増殖抑制効果があることから、同腫瘍へ適応拡大可能な抗がん剤として検討する価値があると考えられる。

P-17 Phos-tag 電気泳動法を活用した MAPK phosphatase (MKP) と MAPK 経路の相互調節機構の解析

齊藤 まりこ

東京大学医科学研究所

共著者氏名 久保田 裕二、武川 睦寛

共著者所属 東京大学医科学研究所 分子シグナル制御分野

MAPK 経路は細胞の生存・運命決定に必須のシグナル伝達経路であり、3 種のプロテインキナーゼ (MAPKKK-MAPKK-MAPK) による連続的なリン酸化反応によって活性化される。一方で、ヒト細胞内には MAPK を基質とし、脱リン酸化することで不活性化を導く MAPK phosphatase (MKP) ファミリーも存在するが、その詳細な機能調節機構や細胞内動態などについては未解明な部分が多い。本経路の活性化時における MAPK と MKP 分子の挙動を詳細に解析した結果、特定の MKP 分子が、自身の基質である MAPK によって高率かつ直接的にリン酸化されることが明らかとなった。さらに、Phos-tag 電気泳動を活用した実験により、MKP のリン酸化部位を特定することに成功した。現在、同リン酸化の機能的意義について解析を進めており、MAPK-MKP 間のリン酸化・脱リン酸化反応による相互機能調節機構の可能性について報告したい。

P-18 ゼブラフィッシュをモデルとしたチロシン硫酸化の生理機能解明

榊原 陽一

宮崎大学農学部応用生物科学科

共著者氏名 奥田 菜月¹、黒木 勝久¹、上地 珠代²、剣持 直哉³

共著者所属 ¹ 宮崎大学農学部応用生物科学科、² 宮崎大学医学部、

³ 宮崎大学フロンティア科学総合研究センター

【目的】 翻訳後修飾の一つであるチロシン硫酸化は、膜タンパク質や分泌タンパク質の機能発現に重要な役割を有する。このチロシン硫酸化は、ゴルジ体内腔の膜に存在するチロシンタンパク質硫酸転移酵素（TPST:Tyrosylprotein Sulfotransferase）によって触媒され、免疫や恒常性の維持、細胞外のタンパク質間相互作用の調節など、様々な過程で重要な役割を果たすことが知られている。本研究ではゼブラフィッシュをモデル生物として、3種類のTPST遺伝子ノックダウン実験を行い、生化学的解析を行った。

【方法・結果】 ゼブラフィッシュの胚にモルフォリノアンチセンスオリゴをインジェクションしてそれぞれのTPST遺伝子をノックダウンし、表現型の解析を行った。また、タンパク質を抽出後、蛍光デュープレックス二次電気泳動を用いてタンパク質発現への影響を解析し、発現変動の確認されたタンパク質を同定した。

P-19 Stable Isotope Labeling by Amino acids in Cell culture 法 による膵臓癌の早期新規診断マーカーの解析

佐藤 里奈

麻布大学生命・環境科学部生化学研究室

共著者氏名 高野 重紹²、島崎 玲理²、大塚 将之²、野村 文夫³、曾川 一幸¹

共著者所属 ¹ 麻布大学生命・環境科学部生化学研究室、² 千葉大学大学院医学研究院臓器制御外科学、

³ 千葉大学医学部附属病院遺伝子診療部

浸潤性膵管癌(膵癌)はすべての膵臓腫瘍の 85 ～ 90% を占め、悪性腫瘍の中でも予後不良の癌である。最近の診断・治療の進歩にも関わらず、膵癌患者の生存期間の中央値は 1 年未満であり、5 年生存率は約 10% である。これを改善するには、高感度で特異的なマーカーを特定することが急務となる。マウス前癌病変 (PanIN) 細胞株とマウス膵癌細胞株から SILAC 法で得られた培養上清を用い、細胞分泌タンパク質を比較分析し、新たな腫瘍マーカー候補タンパク質の探索を行った。その候補タンパク質は、Lectin ELISA を用いて、健常者 20 名、膵炎患者 20 名、膵癌患者 60 名、胆管癌患者 16 名の血清検体を用いて測定し検証した。SILAC 法により細胞分泌タンパク質を比較分析し、PanIN 細胞株より膵癌細胞株で発現が 5 倍以上増えていたものが 7 種類検出された。特に 9.3 倍の違いがある Protein X に注目した。血清 Protein X 濃度は健常者 167.4 ± 72.80 AU/mL、PDAC 患者 299.2 ± 170.9 AU/mL (stage I : 327.5 ± 152.8 AU/mL、stage II : 349.5 ± 195.0 AU/mL)、膵癌患者は健常者に比べ $p < 0.001$ と有意に高値を示した。Protein X は、早期膵癌診断マーカーとして有用であることが示唆された。今後、検体数を増やして臨床応用可能かどうか検証していく予定である。

P-20 非変性等電点電気泳動分離したタンパク質複合体の 溶出法の検討とその特性分析

島崎 洋次

愛媛大学大学院理工学研究科

愛媛大学理学部

共著者氏名 藪 隼大、塚野 鈴

共著者所属 愛媛大学理学部

非変性条件のゲル等電点電気泳動法（IEF）は生体タンパク質をインタクトの状態で分離することができる。しかしながら、分離されたタンパク質はゲル内に分離されているため、その活性を測定する方法は限られている。本研究では、卵白タンパク質を IEF 分離した後に、陰極方向に再度電気泳動させることにより、リゾチーム結合オボトランスフェリン複合体を溶液状態で溶出する方法を検討した。また、その結合タンパク質をトリプシン処理することにより、リゾチーム活性の変化を分析した。IEF 分離と溶液溶出を組み合わせた本方法は、生体タンパク質複合体の本来の特性を調べるのに有効であると考えられる。

P-21 悪性末梢神経鞘腫瘍の患者由来細胞株 NCC-MPNST6-C1 の樹立

申 育實

国立がん研究センター研究所希少がん研究分野

共著者氏名 野口 玲¹、吉松 有紀¹、土屋 流人¹、小野 拓也¹、清 茜¹、桑田 優¹、
菅谷 潤²、川井 章²、近藤 格¹

共著者所属 ¹ 国立がん研究センター研究所希少がん研究分野、

² 国立がん研究センター中央病院骨軟部腫瘍科・リハビリテーション科

悪性末梢神経鞘腫瘍（MPNST）は、末梢神経から発生する稀な肉腫である。治療においてはまず手術が行われるが、半数以上の患者に転移が認められるうえに有効なアジュバント化学療法は確立されていない。予後改善の為に更なる研究が必要である。そこで本研究では、有効な抗がん剤の同定を目的として MPNST の新規細胞株を作成した。外科的に切除した組織を用いて細胞株を樹立し、NCC-MPNST6-C1 と命名した。NCC-MPNST6-C1 細胞は染色体異常を示し、35 継代以上増殖した。次にキャピラリー電気泳動で DNA 分析を行い元腫瘍との同一性を証明した。またスフェロイド形成能や浸潤能を有した。更に、増殖抑制効果のある抗がん剤を複数同定した。NCC-MPNST6-C1 細胞は、MPNST の研究に有用なリソースである。

P-22 Phos-tag Click tip を用いて新規合成タンパク質を 選択的に濃縮する新しい方法

Shin Jihy

横浜市立大学 先端医科学研究センター

共著者氏名 小橋 達弘²、木下 英司³、梁 明秀¹、木村 弥生¹

共著者所属 ¹横浜市立大学 先端医科学研究センター、²株式会社ナード研究所、

³広島文教大学人間科学部

BONCAT 法は、培地中にメチオニンアナログ (AHA) を添加し、新規タンパク質を代謝的に標識し濃縮方法である。従来の BONCAT 法では AHA 標識タンパク質をアジド-アルキン反応でビーズ上に固定化した状態で酵素消化し、ペプチドを回収することが多い。そのため質量分析にて AHA 標識ペプチドは検出できず、同定したペプチドが AHA 標識タンパク質由来か判断することが難しい。本研究では、アルキン基とリン酸基をもつ化合物を新たに開発し、AHA 標識ペプチドの選択的な濃縮と溶出が容易な Phos-tag™ Click tip 法を確立した。これにより、非特異的結合ペプチドの混入が抑制でき、濃縮効率も 85% まで改善し、AHA 標識ペプチドの網羅的な解析が可能となった。さらに、液体クロマトグラフィーでの分離条件を検討した結果、100 µg の細胞抽出液から約 1500 種類の AHA 標識ペプチドを同定することが可能になった。

P-23 薬剤耐性菌モニタリングのための免疫沈降 – 質量分析 (IP-MS) 抗体の作製と検証

高橋 正弥

横浜市立大学大学院 医学研究科 微生物学

横浜市立大学 先端医科学研究センター

共著者氏名 Shin Jihye^{1,2}、西 真由子¹、山岡 悠太郎^{1,3}、木村 弥生²、梁 明秀^{1,2}

共著者所属 ¹横浜市立大学大学院 医学研究科 微生物学、²横浜市立大学 先端医科学研究センター、
³関東化学株式会社 技術・開発本部 生命科学研究所

近年、複数の抗菌薬に抵抗性を示す多剤耐性 (AMR) 菌の発生が、国際的にも大きな問題となっている。多剤耐性菌は基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ (Extended spectrum β -lactamases : ESBL) やカルバペネマーゼを産生し、大腸菌、肺炎桿菌、プロテウス・ミラビリス等の腸内細菌から多く検出されている。一方、病院排水などの環境排水中の AMR 菌排出基準は設定されていない。そこで私たちは、ESBL 産生菌のタンパク質を標的としたターゲットプロテオミクスを目的とし、AMR 関連タンパク質を濃縮するための免疫沈降法の確立を試みた。ResFinder database に登録されている AMR 関連タンパク質に共通するアミノ酸配列を選定し、そのうち、B 細胞エпитープとなりうる 10 種類のペプチドに対するポリクローナル抗体を作製した。本発表では、各抗体の性状解析の結果や免疫沈降法と質量分析を用いた定量解析法を開発状況について報告する。

P-24 P2 Tag System: Development and analysis of a novel tag system using the anti-P2 monoclonal antibody

Kiho Tanaka

Department of Microbiology, Yokohama City University, School of Medicine

共著者氏名 Yutaro Yamaoka^{1,2}, Yoko Ino³, Kei Miyakawa¹, Yayoi Kimura³, Akihide Ryo^{1,3}

共著者所属 ¹Department of Microbiology, Yokohama City University, School of Medicine,

²Life Science Laboratory, Technology and Development Division, Kanto Chemical Co., Inc.,

³Advanced Medical Research Center, Yokohama City University

Various tag systems are widely used in experiments to advance cell biology research. Polyclonal/monoclonal antibodies are developed and their epitope binding enables the purification and identification of proteins/peptides of interest. Here, we report a novel tag system called P2 tag system, which employs the P2 peptide and the pair mouse monoclonal antibody. The seven amino acid long epitope, HHHDYDI, allows the detection of the protein of interest and the P2 antibody shows low background and limited cross-reactivity in mammalian cell cultures. The unique quality of this tag is that the addition of the four amino acids, DYDI, following the common histidine tag sequence will ameliorate the possible risks of non-specific binding of the antibody towards other histidine repeats and also attenuate the chance of post-translational modifications of the tag itself compared to other existing commercially available tags. Given the nature of its small size, this P2 tag could be used in a multi-tag system and might enable Two-Step-purification for the protein/peptide-of-interest. Its successful application in multiple assays, especially the ability to be employed in a comprehensive proteomics analysis and to further investigate the direct protein-protein interactions, provides an ample reassurance that this novel system could be utilised in versatile occasions.

P-25 プロテオーム解析と患者由来肉腫細胞株により同定した悪性末梢神経鞘腫の新規治療薬候補

土屋 流人

国立がん研究センター研究所希少がん研究分野

千葉大学大学院医学研究院整形外科学

共著者氏名 野口 玲¹、吉松 有紀¹、申 育實¹、小野 拓也¹、清 茜¹、小迫 英尊²、
川井 章³、近藤 格¹

共著者所属 ¹ 国立がん研究センター研究所希少がん研究分野、

² 徳島大学先端酵素学研究所藤井節郎記念医科学センター細胞情報学分野、

³ 国立がん研究センター中央病院骨軟部腫瘍科・リハビリテーション科

悪性末梢神経鞘腫（MPNST）は末梢神経から生じる高悪性度肉腫の1つである。高率に局所再発・遠隔転移を生じ、化学療法・放射線療法抵抗性であることから予後は不良であり、新規治療法の開発が望まれている。そこで我々はプロテオーム解析と患者由来細胞株を用いた薬剤スクリーニング試験を統合することにより新規治療薬候補の同定を試みた。

対象は2004年6月～2019年3月までの期間に、国立がん研究センター中央病院にて手術を行ったMPNST41症例。質量分析・SDS-PAGE/Western BlottingによりMPNSTの予後に関わるバイオマーカータンパク質を同定した。またMPNST腫瘍組織より樹立に成功した患者由来細胞株5株を用いて、214薬剤による薬剤スクリーニング試験を行った。

同定したタンパク質のパスウェイ解析の結果と、薬剤スクリーニング試験で著明な腫瘍増殖抑制効果を示した薬剤の作用機序には共通点を持つものがあり、新たな新規治療薬候補と考えられた。

P-26 In situ ビオチン化法を用いた B 型肝炎ウイルスのコアタンパク質と相互作用する宿主因子群の探索

中居 佑介

横浜市立大学医学研究科 微生物学

横浜市立大学 先端医科学研究センター

共著者氏名 宮川 敬¹、山岡 悠太郎^{1,3}、鈴木 秀文⁴、高橋 秀尚⁴、木村 弥生²、
梁 明秀^{1,2}

共著者所属 ¹横浜市立大学医学研究科 微生物学、²横浜市立大学 先端医科学研究センター、
³関東化学株式会社 技術・開発本部 生命科学研究所、
⁴横浜市立大学医学研究科 分子生物学

B型肝炎ウイルスはヘパドナウイルス科に属する DNA ウイルスであり、急性・慢性肝炎、肝硬変、肝臓の原因となる。HBV コアタンパク質 (HBc) はヌクレオカプシドの構成因子であるが、近年、ウイルスゲノムの核内輸送や、宿主遺伝子の発現制御などの複数の機能を有することが報告されている。HBV 感染のメカニズム解明には、HBc と相互作用する宿主因子の探索が重要である。

本研究では、新規に作製した抗 HBc マウスモノクローナル抗体と HBV 感染細胞を用いて、in situ ビオチン標識法により HBc 近傍タンパク質をビオチン化した。ストレプトアビジンビーズで回収したサンプルを質量分析した結果、173 種類の宿主タンパク質を同定した。GO 解析の結果、翻訳や細胞内輸送に係わるタンパク質が多く含まれていた。今後は、これらのタンパク質と HBc の相互作用と、ウイルス複製や病原性発現との関連について解析を行う予定である。

P-27 逆相タンパクアレイ (Reverse-Phase Protein Array; RPPA) 技術基盤の最適化

中川 莉杏

学習院大学大学院

国立がん研究センター研究所

共著者氏名 増田 万里

共著者所属 国立がん研究センター研究所プロテオーム解析部門

RPPA 法は多数検体における標的タンパク質の発現を同一条件で検出できるプロテオーム技術である。多くの分子標的治療薬の標的はシグナル経路上のタンパク質であり、それらのリン酸化レベルを RPPA 法で測定できれば、適切な治療選択や薬剤耐性克服が可能になると期待される。我々は RPPA 基盤の診断への応用を目指し最適化を進めている。本研究では、A431 類表皮がん細胞と A549 肺腺がん細胞を上皮成長因子 (EGF) で刺激し、下流シグナル分子のリン酸化プロファイル取得し、コントロールとしての妥当性を比較検討した。一方、本基盤によるリン酸化プロファイリングの検証として、EGFR チロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) 治療後の獲得耐性の原因となる T790M 変異が陽性の H1975 と陰性の PC9 肺がん細胞を TKI で処理し、RPPA 法でリン酸化プロファイリングを取得した。また、ウェスタン法との比較検証で同様の傾向が認められた。

P-28 早期肺腺癌患者における NAP1L1 発現の 予後予測マーカーとしての有用性について

長塩 亮

北里大学医療衛生学部 臨床検査学

北里大学医療衛生学部附属再生医療・細胞デザイン研究施設細胞デザイン研究開発センター

北里大学大学院医療系研究科 応用腫瘍病理学

共著者氏名 朽津 有紀¹⁻³、井川 聡⁴、楠原 政一郎⁴、猶木 克彦⁴、佐藤 之俊⁵、一戸 昌明⁶、
村雲 芳樹⁶、三枝 信⁶、佐藤 雄一⁷

共著者所属 ¹ 北里大学医療衛生学部 臨床検査学、

² 北里大学医療衛生学部附属再生医療・細胞デザイン研究施設細胞デザイン研究開発センター、

³ 北里大学大学院医療系研究科 応用腫瘍病理学、⁴ 北里大学医学部呼吸器内科学、

⁵ 北里大学医学部呼吸器外科学、⁶ 北里大学医学部病理学、⁷ 北里大学医学部泌尿器科学

肺腺癌の診断マーカー獲得のため、肺腺癌細胞株に対し iPS 化の技術を用いて癌幹細胞様細胞を樹立し、その細胞と親株を用いたプロテオーム解析を行った。癌幹細胞様細胞で高発現しており、癌の浸潤や予後との関連のある NAP1L1 に着目し、肺腺癌組織を用いた免疫染色にて、NAP1L1 発現と臨床病理学的因子との関係を統計学的に解析した。NAP1L1 発現は、分化度や腫瘍径、病理学的ステージなどと有意な相関を認めた。また、NAP1L1 低発現群に比して、NAP1L1 高発現群では有意に予後不良であった。多変量解析の結果からも NAP1L1 の染色スコアは独立した予後不良因子であった。さらに早期の肺腺癌（ステージ I）に限っても、NAP1L1 高発現群は有意に予後不良であり、早期においても独立した予後不良因子であることが分かった。肺腺癌の細胞株に対して siRNA を用いた NAP1L1 発現抑制実験を行った結果、NAP1L1 は増殖能や遊走能、そして浸潤能に寄与しており、肺腺癌の悪性度と関係している可能性が示唆された。

P-29 ビトリゲル膜を介した両面培養を応用した中枢神経系 原発悪性リンパ腫細胞と脳血管周皮細胞との相互作用 解析

西 真由子

横浜市立大学大学院医学研究科 微生物学

共著者氏名 立石 健祐²、井野 洋子³、畑山 靖佳¹、山岡 悠太郎^{1、4}、木村 弥生³、山本 哲哉²、
梁 明秀¹

共著者所属 ¹横浜市立大学大学院医学研究科 微生物学、

²横浜市立大学大学院医学研究科 脳神経外科学、

³横浜市立大学 先端医科学研究センター、

⁴関東化学株式会社 技術・開発本部 生命科学研究所

中枢神経系原発悪性リンパ腫（PCNSL）は、中枢神経に発生する節外性悪性リンパ腫であり、近年統計学的に増加傾向を示している。本研究では、PCNSLに対する新たな解析ツールとして、患者由来腫瘍細胞 PDC（patient-derived cell）を樹立、脳血管周皮細胞（HBVP）との両面培養系を構築し、それらの相互作用について解析を行った。まず、ad-MED ビトリゲル膜を用いて不死化 HBVP と PCNSL との両面培養を行い、細胞増殖および生細胞数を測定した。次に、両面培養有りまたは無しで5日間培養した PCNSL からライセートを抽出し、SDS-PAGE 電気泳動を行ったのち、Pro-Q Diamond 染色を行ったところ、リン酸化タンパク質のパターンに顕著な差が認められた。現在、両面培養有無における階層的クラスタリング解析および遺伝子オントロジー解析を実施中である。

P-30 サンプル特異的データベースを作成する プロテオゲノミクスの革新的なソフトウェア： OncoProGx

野口 玲

国立がん研究センター研究所希少がん研究分野

共著者氏名 吉松 有紀¹、申 育實¹、小野 拓也¹、土屋 流人¹、佐々木 一樹²、小迫 英尊³、
近藤 格¹

共著者所属 ¹ 国立がん研究センター希少がん研究分野、

² 公益財団法人佐々木研究所附属佐々木研究所ペプチドミクス研究部、

³ 徳島大学藤井記念医科学センター細胞シグナル分野

電気泳動法実験で用いられる質量分析の解析には、根本的な欠点が存在する。質量分析のタンパク質の配列決定に用いる SwissProt などの公的データベースにはサンプル特異的なペプチドが存在しないため同定できないという問題である。この問題を解決するために、我々はゲノム情報からプロテオームデータベースを作成するソフトウェア “OncoProGx” を開発した。患者由来肉腫細胞株の全エクソンシーケンス、RNA-Seq、LC-MS/MS のデータを用いて、SwissProt と OncoProGx で作成するデータベースを比較した。SwissProt では同定できなかった 1 塩基置換変化、スプライスバリエントを OncoProGx で作成するデータベースでは同定できた。OncoProDx により電気泳動法で観察されるタンパク質をゲノム情報に結び付けることで、電気泳動法は重要な解析手法として広く用いられると考えられる。

P-31 キノーム解析による皮膚 T 細胞リンパ腫に対する HDAC 阻害剤の併用療法の探索

藤井 一恭

鹿児島大学医学部皮膚科

国立がん研究センター研究所希少がん研究分野

共著者氏名 地村 望^{1、2}、土屋 流人²、吉松 有紀²、近藤 格²、金蔵 拓郎¹

共著者所属 ¹鹿児島大学医学部皮膚科、²国立がん研究センター研究所希少がん研究分野

皮膚 T 細胞リンパ腫（CTCL）は皮膚に原発するリンパ腫で、現時点で進行期の患者に対する根治療法は確立されていない。ヒストン脱アセチル化酵素（HDAC）阻害剤は CTCL に有効な治療法であるが、単剤では獲得耐性が必発であり、適切な併用療法の開発が求められている。我々は 3 株の CTCL の細胞株に対して 3 種の HDAC 阻害剤で刺激を加え、チロシンキナーゼ活性の変化についてペプチドアレイを用いて網羅的に解析を行った。その結果、一部のチロシンキナーゼの活性が共通して亢進していたが、その多くは Src 経路に関わる分子であった。さらに、Src 阻害剤単剤では CTCL の細胞株にアポトーシスの誘導を認めなかったが、HDAC 阻害剤と併用することで HDAC 阻害剤によるアポトーシス誘導効果を増強した。他の 2 株の CTCL の細胞株を用いた検証でも Src 阻害剤による HDAC 阻害剤のアポトーシス増強効果が認められた。

P-32 超高感度 CE-MS リピドーム分析に向けた 新規オンライン試料濃縮法の開発

藤村 泰地

九州大学

共著者氏名 木下 祥尚、松森 信明、川井 隆之

共著者所属 九州大学

脂質は生体内において細胞膜の形成、シグナル伝達、エネルギー貯蔵等の様々な生体機能に関与している。脂質はがんを始めとする多くの疾患にも関与しており、リピドーム分析は医療、創薬等においても極めて重要である。生体に存在する脂質は極めて多様であり、その網羅分析には一般的に LC-MS が用いられるが、その感度は amol (10^{-18} mol) レベルにとどまっており、一細胞レベルの微量分析のためにはさらなる高感度化が必要である。そこで、微量試料を zmol (10^{-21} mol) 感度で検出できる CE-MS に着目した。電荷を持つ代謝物を高効率に濃縮することで、一細胞レベルのメタボローム分析が実現されているが、脂質等の疎水性試料については未だ濃縮法が確立されておらず、一細胞リピドーム分析は実現されていない。そこで本研究では、超高感度 CE-MS リピドーム分析の実現のため、疎水性試料を対象とした新規オンライン試料濃縮法の開発とその性能検証を行った。

P-33 ヒト血中プロレニンの分子存在様式

藤本 和実

文京学院大学 保健医療技術学部

共著者氏名 飯島 史朗¹、小寺 義男²

共著者所属 ¹文京学院大学、²北里大学

プロレニンは血圧調節の中心的な役割を担うレニンの前駆体である。レニン、プロレニンの両者と結合する（プロ）レニン受容体が同定されて以降、（プロ）レニン受容体研究は国内外で盛んに行われてきたが、プロレニン自体の研究はまだ少ない。我々はプロレニン新規サンドイッチ ELISA 系の開発に成功した。本法を用いて測定した健常者血中濃度、ウエスタンブロット解析による半定量的な結果からプロレニンは従来考えられてきた濃度より高濃度に存在する可能性が示唆された。健常者血漿についてウエスタンブロット法を行うとプロレニン標準品と比較してバンド位置が高分子量より検出されたが、糖鎖切断酵素処理血漿を用いるとバンド位置のずれは解消された。ELISA やウエスタンブロットで検出できているものの、質量分析計による血中プロレニン検出は困難を極めていることから、質量分析計で検出されづらいタンパク、ペプチドはまだ多く存在すると予想される。

P-34 アルファスクリーンを用いた血清中の抗 HTLV-1 抗体 測定法の開発

船橋 利佳子

横浜市立大学大学院医学研究科 微生物学・分子生体防御学教室

共著者氏名 鈴木 智津¹、山岡 悠太郎^{1,2}、宮川 敬¹、木村 弥生³、梁 明秀¹

共著者所属 ¹横浜市立大学大学院医学研究科 微生物学・分子生体防御学教室、

² 関東化学株式会社 技術・開発本部 生命科学研究所、

³ 横浜市立大学 先端医科学研究センター

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) は、成人 T 細胞白血病 (ATL) や HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) などの原因となるヒトレトロウイルスである。本研究では、HTLV-1 感染者の血清中に含まれる微量抗体の検出およびエピトープ解析を行うため、コムギ無細胞タンパク質合成系によって作製した HTLV-1 抗原タンパクと、化学増幅型ルミネッセンスプロキシミティホモジニアスアッセイ (AlphaScreen) を用いた測定系を構築した。本法は、従来の抗体検出法である ELISA と比較し、簡便、短時間かつ高感度に抗体を測定でき、ハイスループット解析が可能である。今回は HTLV-1 Gag、Tax および Env の 3 つの主要ウイルスタンパク質を標的として解析を行った。続いて、バイオインフォマティクスを用いて予測した B 細胞エピトープを含むペプチドを合成し、アッセイを行うことで、新規のエピトープ候補を明らかにした。

P-35 近位ビオチン標識法と質量分析を活用した 熱刺激誘導性液 - 液相分離顆粒コア蛋白質の探索

松田 碧

東京大学医科学研究所 分子シグナル制御分野

東京大学大学院新領域創成科学研究科 メディカル情報生命専攻

共著者氏名 中村 貴紀¹、小迫 英尊³、武川 陸寛^{1, 2}

共著者所属 ¹ 東京大学医科学研究所 分子シグナル制御分野、

² 東京大学大学院新領域創成科学研究科 メディカル情報生命専攻、

³ 徳島大学先端酵素学研究所 藤井節郎記念医科学センター

液 - 液相分離顆粒の一種であるストレス顆粒 (SG) は、細胞が熱、ウイルス感染等のストレスに曝された際に細胞質に形成される動的構造体であり、翻訳停止、免疫応答制御など多様なストレス適応反応を担っている。SG の形成には通常、コア蛋白質 G3BP が必要であるが、我々は最近、G3BP 欠損細胞においても、熱刺激の場合に限って SG が形成され得ることを見出した。そこで本研究では、熱ショック下で SG の形成を担う未知コア蛋白質の同定を目指して解析を行った。SG は、液 - 液相分離現象を介して形成される流動的構造体 (液滴) であるため、免疫沈降等、従来の手法を用いて SG を細胞から精製することは困難である。我々はこの問題を解決するため、SG 構成分子を生細胞内で無作為にビオチン標識し、質量分析により同定する新たな実験法を開発して解析を行った。その結果、熱刺激特異的な SG 構成分子や未知コア分子の特定に成功したので報告する。

P-36 JDP2 を介したインスリン遺伝子発現の促進と抑制

松本 涼花

香川大学農学部応用生物科学

共著者氏名 中根 達人¹、村尾 孝児²、杉山 康憲¹

共著者所属 ¹ 香川大学農学部応用生物科学、² 香川大学医学部内分泌代謝内科

膵臓β細胞におけるインスリン遺伝子の発現は一過的なグルコース刺激に応答して促進されるが、慢性的な高血糖によって抑制される。これまでに我々は、新規インスリン転写因子として *jun dimerization protein 2* (JDP2) を見出した。本研究では、JDP2 を介したインスリン発現制御機構を解析した。ルシフェラーゼレポーターアッセイにより、JDP2 によるインスリン発現の促進にはインスリンプロモーター上の G1 領域が必須であることが示された。また、JDP2 と MafA を共発現させた場合、インスリン遺伝子の発現が相乗的に促進されることが明らかになった。一方、JDP2 は ATF2 によるインスリンプロモーターの活性化を抑制した。これまでに、JDP2 は ATF2 とヘテロ二量体を形成することが知られているため、JDP2 と MafA の結合を解析した。その結果、JDP2 は b-Zip ドメインを介して MafA と結合した。これらの結果から、JDP2 は複合体を形成する相手によってインスリン発現の ON-OFF を切り替えるスイッチとして働く可能性が示唆される。

P-37 新規ヒスチジンキナーゼ阻害剤スクリーニングのための イムノドットブロットアッセイ

丸田 志乃

広島大学薬学部

共著者氏名 木下 恵美子^{1,2}、木下 英司³、小池 透^{1,2}

共著者所属 ¹ 広島大学薬学部、² 広島大学大学院医系科学研究科、³ 広島文教大学人間科学部

細菌は、哺乳類細胞には存在しない独特の細胞内情報伝達機構を持っている。その機構は二成分情報伝達系（TCS）といわれ、細胞膜上のヒスチジンキナーゼ（HK）とその応答レギュレーター（RR）から成る。HKは環境変化を察知して自身のヒスチジンをリン酸化し、そのリン酸基をRRに転移し、リン酸化RRは遺伝子発現の制御に関わる。病原菌の毒性は環境応答の一形態であり、様々な病原体のTCSが毒性、薬剤耐性に関連することが報告されている。近年、TCSは抗生物質のターゲットとして注目され、特にHK阻害剤の開発が開始されている。既存の抗生物質と異なる作用点であることは、薬剤耐性菌対策の観点からも重要視される。本研究では、2015年に発表された抗N3リン酸化ヒスチジン抗体を使用して、イムノドットブロットティングによる新規HK阻害剤のHK阻害プロファイリングを行い、その方法の簡便さと有用性について検討した。

P-38 キャピラリー電気泳動を用いた 超高感度次世代糖鎖解析法の開発

三木 太陽

九州大学

共著者氏名 木下 祥尚¹、松森 信明¹、山本 佐知雄²、川井 隆之¹

共著者所属 ¹九州大学、²近畿大学

糖鎖は細胞接着、免疫、シグナル伝達などの重要な生体機能に関与しており、がんなどの疾患において糖鎖構造が変異することから、新たな創薬標的として期待されており、高性能なグライコーム分析法に対するニーズが高まっている。しかし、感度・定量性・網羅性を兼ね備えた標準的な糖鎖分析手法が存在しないことが問題となっている。そこで我々は、分離能と定量性に優れたキャピラリー電気泳動（CE）に注目し、新規オンライン試料濃縮法である large-volume dual preconcentration by isotachopheresis and stacking（LDIS）法を開発することで、100 細胞以下の微量生体試料の糖鎖分析を実現してきた。本研究では、次世代糖鎖解析技術を確立することを目指し、光学系の改良による高感度化、LDIS 濃縮法の自動化、液体クロマトグラフィー/CE 二次元分離による糖鎖分離能の向上などについて検討を行った。

P-39 卵巣がんにおける Spondin-1 タンパク質の発現解析

宮川 諒也

福島県立医科大学医学部 基礎病理学講座

共著者氏名 小林 信、杉本 幸太郎、千葉 英樹

共著者所属 福島県立医科大学医学部 基礎病理学講座

卵巣がんは本邦の婦人科がんの中で最も予後不良であり、その5年生存率は60%に留まる。さらに進行がんが70%を占め手術不能例に対する有効な治療法が無いことも生存率改善の弊害となっているため、新規治療標的や予後マーカーの同定が囑望されている。そこで本研究では、複数の卵巣がん遺伝子発現解析を比較検討した先行研究を出発点とし、タンパク質レベルでの発現解析や機能解析が達成されていない Spondin-1 (SPON1) に着目した。まずホルマリン固定パラフィン包埋標本を染色可能な SPON1 モノクローナル抗体を開発した。続いて卵巣がん手術材料約150例の免疫染色を施行中で、本発表では SPON1 発現を半定量評価して予後や臨床病理学的因子との関連を統計解析して示したい。また将来的には ELISA 法による血清診断マーカーとしての有用性も検討すると共に、細胞株を用いて分子機構を解明したいと考えている。

P-40 マクロエンザイム 5 年間の集計結果 —特にマクロ AST について—

森山 隆則

札幌保健医療大学

共著者氏名 安彦 裕実¹、村尾 咲音¹、松川 典子¹、中野 恵一²

共著者所属 ¹ 札幌保健医療大学、² 北海道大学病院検査・輸血部

我々は、これまで臨床検査のピットホールとなっているマクロエンザイム（酵素・免疫グロブリン複合体）^{1,2)} の検討依頼を全国の医療機関から受けてきた。今回、直近の 5 年間（2015 年 12 月～2020 年 3 月）の依頼された 28 検体の中で、マクロアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（マクロ AST）が疑われた 24 検体（時系列の検体は 1 検体とした）を中心に解析結果について報告する。

マクロ AST の同定は、アイソザイム電気泳動とゲル濾過において、それぞれ異常バンドおよびマクロエンザイムの存在を確認した。結合免疫グロブリンの同定については免疫混合法により実施した。その結果、IgG 型マクロ AST が 12 例（内母子例 2 例を含む）および IgA 型マクロ AST が 1 例同定された。母親の AST 結合性 IgG の経過胎盤移行による、患児のマクロ AST は電気泳動において追跡可能な 10 ヶ月齢まで確認された。残りのマクロ AST の依頼のあった 12 例については陰性であった。矛盾する高 AST 血症の中に依然としてマクロ AST の存在があるものの、他の要因による AST のみ高値例の存在についても示唆された。

本研究は、2018 年度～2019 年度の札幌保健医療大学研究奨励金の助成により実施された。

P-41 患者由来「希少がん」モデルの樹立；機能的なオミクスデータの解釈に向けて

吉松 有紀

国立がん研究センター研究所希少がん研究分野

共著者氏名 野口 玲¹、申 育實¹、土屋 琉人¹、小野 拓也¹、清 茜¹、菊田 一貴²、
平林 かおる³、尾澤 巖⁴、川井 章⁵、近藤 格¹

共著者所属 ¹ 国立がん研究センター研究所希少がん研究分野、
² 栃木県立がんセンター 骨軟部腫瘍・整形外科、³ 栃木県立がんセンター病理診断科、
⁴ 栃木県立がんセンター肝胆膵外科、⁵ 国立がん研究センター中央病院骨軟部腫瘍科

【背景】電気泳動法を用いた網羅的なタンパク質発現解析で同定される多数の興味深いタンパク質の機能的な解析に必要なのは細胞株である。しかし希少ながんの場合、公的な細胞バンクからは細胞株は入手しがたい。

【目的】希少がんの細胞株を樹立し、その有用性を明らかにすること。

【方法】手術検体（腫瘍組織）を用いて、細胞株を樹立した。樹立した細胞株について、分子背景および形質を調べた。

【結果・考察】肉腫症例を対象とし、手術検体（腫瘍組織）を使用して細胞株を樹立した。そしてDNA解析を行い、腫瘍組織と細胞株とが同一の症例に由来すること、元腫瘍の形質が保存されていることを確認した。約210種類の抗がん剤について増殖抑制効果を調べ、きわめて低濃度で肉腫に抗腫瘍効果を示すものを同定した。質量分析やPamStationを用いたプロテオーム解析、次世代シーケンスを用いた解析を行い、薬効の分子背景を調べている。

P-42 大腸菌の共発現システムを利用した ABL チロシンキナーゼアッセイ

吉本 萌々香

広島大学薬学部

共著者氏名 矢野 万莉奈¹、木下 恵美子^{1,2}、木下 英司³、小池 透^{1,2}

共著者所属 ¹ 広島大学薬学部、² 広島大学大学院医系科学研究科、³ 広島文教大学人間科学部

ヒトチロシンキナーゼ ABL とその基質ペプチド Abltide (N- 末に GST を融合した GST-Abltide) を大腸菌で共発現させた。その大腸菌の全タンパク質の Phos-tag SDS-PAGE, 抗 GST 抗体による WB 解析により, 活性型 ABL が大腸菌内で GST-Abltide をリン酸化することを確認した。ABL は, 染色体転座で生じた活性型 BCR-ABL が慢性骨髄性白血病の原因となることが知られるキナーゼである。本研究では, 大腸菌の共発現システムを利用して, 白血病治療薬のイマチニブ耐性に関連する 5 種類の ABL キナーゼドメイン変異体 (Y253F, E255K, T315I, M351T, H396P) の活性を評価した。活性の高い変異体ほど, 高度にリン酸化された Phos-tag SDS-PAGE パターンを示したことから, リン酸化状態がそれらのキナーゼ活性と関連することがわかった。

P-43 血清中の細胞外小胞のプロテオーム解析による 膵臓癌の新規診断マーカーの探索

米窪 莉子

麻布大学生命・環境科学部生化学研究室

共著者氏名 高野 重紹²、大塚 将之²、足立 淳³、朝長 毅³、鳴海 良平³、石田 美海子³、
磯山 純子³、曾川 一幸¹

共著者所属 ¹ 麻布大学生命・環境科学部生化学研究室、² 千葉大学大学院医学研究院臓器制御外科学、
³ 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所創薬デザインセンター創薬標的プロテオ
ミクスプロジェクト兼プロテオームリサーチプロジェクト

膵臓癌は早期発見が非常に困難な上に進行が早く、極めて予後不良の疾患である。現在、低侵襲の膵臓癌診断には腹部超音波検査が行われるが、膵臓は腹腔内の深部に存在するため、全て描出することは非常に困難で、感度の低さが問題となっている。また、現存する血液診断マーカーも特異度は低いため、他癌腫と比べ予後の改善が乏しいが、早期発見・手術が可能な症例の5年生存率は向上している。よって、早期発見のために高感度で特異的な診断マーカーを特定することは重要である。対象は膵臓癌患者血清 40 検体（術前 30 検体、術後 10 検体）、膵炎患者血清 10 検体、健常コントロール血清 10 検体である。MagCapture Exosome Isolation Kit を用いて血清から細胞外小胞を精製、タンパク質の抽出・消化後、質量分析計を用いた網羅的タンパク質比較定量解析（DIA 法と TMT 法）を行い、新しい膵癌診断マーカーを探索した。計 3362 種類のタンパク質の比較定量データが得られた。膵臓癌と膵炎患者群の比較を行った結果、膵炎患者群に比して膵臓癌患者群で 1.5 倍以上の定量値が付き有意差がみられた（ $p < 0.05$ ）タンパク質 47 種類、膵臓癌の術後に比して術前で 1.5 倍以上の定量値が付き有意差がみられたタンパク質 39 種類同定した。今後これらのタンパク質について、多検体を用いた検証でさらに特異的な新規膵臓癌診断マーカーを絞り込んでいく方針である。

P-44 ケモプロテオミクスおよび分子動力学シミュレーションが明らかにした、延命草の苦味成分ラブドシアノン I の標的タンパク質と抗腫瘍メカニズム

渡邊 元樹

京都府立医科大学 分子標的予防医学

共著者氏名 山田 恭正²、来見田 遥一³、亀田 倫史³、助野 真美子⁴、飯塚 まひろ⁵、曾和 義広¹、
飯泉 陽介¹、高倉 英樹¹、宮本 真吾⁶、増田 光治¹、成田 匠¹、酒井 敏行⁴、
武藤 倫弘¹

共著者所属 ¹ 京都府立医科大学 分子標的予防医学、² 梅花女子大学 管理栄養学科、
³ 産業技術総合研究所 人工知能研究センター、⁴ 京都府立医科大学 創薬医学、
⁵ 京都府立医科大学 内分泌・乳腺外科、
⁶ 国立がん研究センター 社会と健康研究センター

我々は生薬として伝わる延命草の苦味成分ラブドシアノン I がヒト大腸癌細胞に対し、DNA 合成酵素 thymidylate synthase (TS) の発現を抑制し、細胞増殖を抑制することを示した。次にラブドシアノン I をナノ磁性ビーズに固定化し、その結合タンパク質を精製し、質量分析計を用いてケモプロテオーム解析を行い、ラブドシアノン I がミトコンドリア内膜タンパク質 ANT2 と PHB2 に結合することを示した。さらに分子動力学シミュレーションにより、ラブドシアノン I と ANT2 の動的安定構造を明らかにした。実際、RNAi による ANT2 と PHB2 の発現枯渇は、ラブドシアノン I と同様に、TS の発現を抑制した。以上の通り、ケモプロテオミクスと分子動力学シミュレーションを組み合わせることで、ラブドシアノン I の標的分子とその結合様式が明らかとなり、ラブドシアノン I の抗腫瘍効果の作用機序を明らかにすることができた。

謝 辞

第 72 回日本電気泳動学会総会にご協賛いただきました下記企業・研究機関様に御礼申し上げます。

エーエムアール株式会社
Crimson Interactive Pvt. Ltd.
株式会社スクラム
トミーデジタルバイオロジー株式会社
株式会社ナード研究所
日本チャールスリバー株式会社
バイオ・ラッドラボラトリーズ株式会社
株式会社ビジコムジャパン
理科研株式会社

電気泳動 第 65 巻 Supplement 号（電子版）別刷

令和 3 年 7 月 14 日
発行所 日本電気泳動学会
<http://www.jes1950.jp/>
〒104-0045 東京都中央区築地 5-1-1
国立がん研究センター研究所希少がん研究分野
E-mail: secretariat@jes1950.jp

第 72 回日本電気泳動学会総会事務局
〒104-0045 東京都中央区築地 5-1-1
国立がん研究センター研究所希少がん研究分野
総会長 近藤 格
E-mail: electrophoresis2021shiretoko@gmail.com

編集／印刷 中西印刷株式会社
〒602-8048 京都市上京区下立売通小川東入ル
Tel: 075-441-3155

プロテオミクス用ナノHPLC

EVUSEP

EVOSEP ONE

キャリーオーバーのない多検体プロテオミクス

Evosep Oneは、「臨床プロテオミクスを100倍強固に、10倍高速化」という信念のもと、従来のHPLCとは異なるコンセプトを持つ革新的なHPLCとして開発されました



Evotip sample Preparation

専用ステージチップ「Evotip」によりキャリーオーバーが少なく、カラムとMSの汚れを最小限にして装置への負担を減らします。稼働率が大幅に向上し、プロテオミクスのさらなる高速化やハイスループット化を実現するHPLCです。

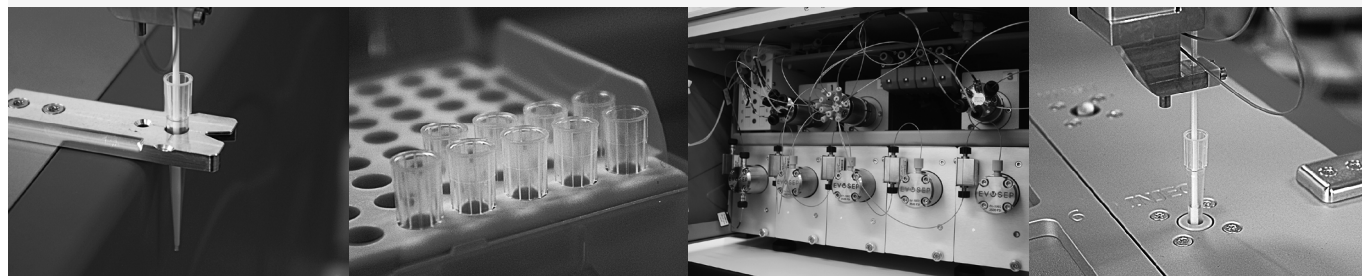
Methods

メソッドは8つのプリセットメソッドから選択し、1日あたり最大300サンプル処理可能。新たに1細胞解析を可能にする超高感度解析モードや多くの臨床検体をハイスループットに解析するモードも加わりました。



Webinar

メーカー主催ウェビナーで最新情報を随時発信中！
ウェビナーはオンデマンド配信で視聴可能です。



その他取り扱い製品

- ・蛋白質前処理チューブ「Strap」
- ・半導体技術を利用したクロマトカラム「 μ PAC」シリーズ
- ・ナノエレクトロスプレーソース及び各種エミッター
- ・蛋白質低吸着チューブ「PS Tube」

他

エーエムアール株式会社

〒152-0031 東京都目黒区中根2-13-18

Tel 03-5731-2281/Fax 03-5731-2283

<https://www.amr-inc.co.jp/>

エーエムアール



AMR
AMR INCORPORATED



charles river

バーチャル3D展示会



最新の製品/サービス情報を
バーチャル空間でご覧ください

ご来場特典：トートバッグ進呈

- ✓ 新規ご登録された方全員へ、特製トートバッグをプレゼント
- ✓ いたします
- ✓ ご登録いただきました住所へ発送いたします



入場方法

弊社WEBサイトトップページ PICK UP 注目情報 記事の「バーチャル3D展示会場」ボタンよりご入場ください。
初回の入場には、専用フォームでの参加登録が必要です。



バーチャルブース

以下の3つのバーチャルブース空間がございます。画面左上のタブでブース間を移動することができます。

- | | |
|---------|---|
| Booth A | Corporate: 会社のご案内
微生物モニタリングサービス: 検疫、定期モニタリング、緊急試験 |
| Booth B | 国内生産動物: 国内で生産供給しているマウス・ラット
輸入動物: ジャクソン研究所マウス、Charles Riverグループマウス・ラット |
| Booth C | 遺伝子改変モデルサービス: 検疫、個体復元、受託繁殖、各種マウス作製サービス
受託試験サービス(薬理)等: 受託試験、手術動物作製、生体試料 |

ウェビナー会場/アーカイブ一覧

ウェビナー会場では、過去のCharles River ウェビナーのオンデマンド配信もご覧いただけます。
次回Charles River ウェビナー 第3回は7月28日(水)開催予定です。みなさまのご来場をお待ちしております。

お問い合わせ

日本チャールス・リバー株式会社 マーケティング・ビジネスデベロップメント部 | AskCRJ@crl.com



リン酸化プロテオミクス試薬 わける 集める 見える

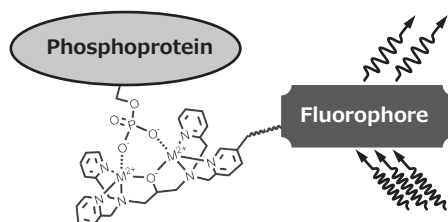
NARD institute, Ltd.

Phos-tag technology

Phos-tag (フォスタグ) とは、広島大学の医薬分子機能科学研究室が開発したリン酸モノエステルアニオン ($R-OPO_3^{2-}$) を中性 pH (生理的 pH) において捕捉する機能性分子です

Phos-tag[®] Gel Stain

ゲル内リン酸化タンパク質を高効率かつ高選択的に蛍光検出



生理 pH で染色可能な
リン酸化蛍光イメージング解析用の試薬です。

pSer、pThr、pTyr、pHis、および pAsp 残基に
選択的に結合します。

染色操作はおよそ 2 時間で完了します。

リン酸化タンパク質検出後の全タンパク質染色法も 適用可

Phos-tag SDS-PAGE や従来の SDS-PAGE と組み合わせて
可視化することも可能です

解析例：バクテリア 2 成分伝達系リン酸化タンパク質

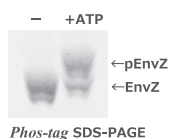
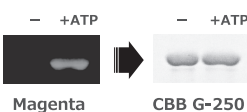
データご提供：広島大学医薬分子機能科学研究室 木下恵美子 先生、木下英司 先生、小池透 先生

pHis- タンパク質の検出例

EnvZ: 浸透圧センサー

選択性

Cyan: +++
Magenta: +++
Yellow: +++

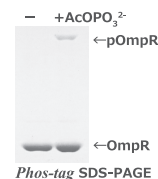
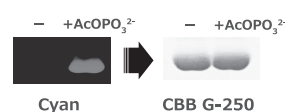


pAsp- タンパク質の検出例

OmpR: 転写調節因子 (←EnvZ)

選択性

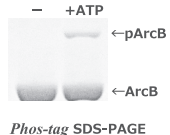
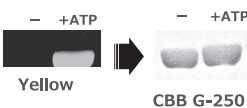
Cyan: ++
Magenta: ++
Yellow: ++



ArcB: 酸化還元センサー

選択性

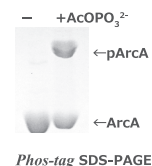
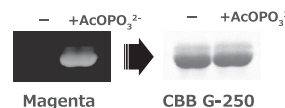
Cyan: +
Magenta: +
Yellow: +++



ArcA: 転写調節因子 (←ArcB)

選択性

Cyan: +++
Magenta: +++
Yellow: +++



Phosphoprotein Gel Staining	内容量	製品の特徴	希望小売価格(税込)
Phos-tag TM Yellow (cat# nPGS-Y01)	0.2mg	Ex/Em=505nm/514nm 遮光、冷蔵保管	¥22,000
Phos-tag TM Magenta (cat# nPGS-M01)	0.2mg	Ex/Em=547nm/561nm 遮光、冷蔵保管	¥22,000
Phos-tag TM Cyan (cat# nPGS-C01)	0.2mg	Ex/Em=643nm/661nm 遮光、冷蔵保管	¥22,000
Phos-tag TM Aqua (cat# nPGS-A01)	0.2mg	Ex/Em=547nm/561nm 遮光、冷蔵保管	¥22,000
Mixed reagents for Phos-tag TM Common Solution 5x (cat# nPGS-MR1)	500mL溶液用	500mL容器入り	¥5,500

株式会社ナード研究所 神戸研究所 コーポレート研究部



<https://www.nard.co.jp>

〒650-0047 神戸市中央区港島南町 5-4-1

TEL:078-958-7026 FAX:078-958-8026

E-mail:corporate@nard.co.jp

BioLegend社のウェスタンブロット用試薬

Western Blotting

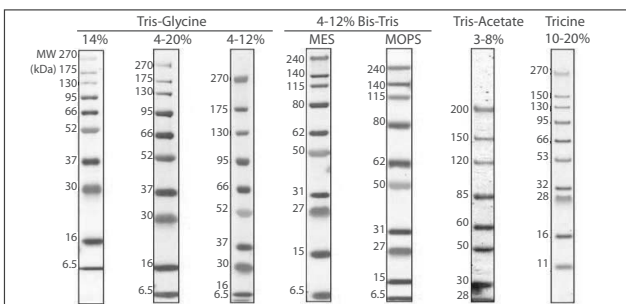
ウェスタンブロットング（WB）は、シグナル伝達経路やタンパク質間相互作用、様々な細胞株および組織におけるタンパク質発現、タンパク質レベルでの薬物もしくは治療の影響などを理解するのに役立つ基本的な技術です。BioLegendでは、タンパク質分子量マーカーや基質緩衝液から高い特異性を有する抗体まで、WBに有用な様々な製品を提供しています。WB実験において明確で解釈しやすいバンドを得るために、BioLegend製品をご活用ください。

正確なタンパク質ラダー

Prime-Step™ Prestained Broad Range Protein Ladderは、6.5-270 kDaの幅広い分子量をカバーする3色/10種類の着色済み組換えタンパク質で構成されたタンパク質スタンダードです。本製品はSDS-PAGEの際にタンパク質の分離を確認したり、メンブレンへの転写の確認、およびタンパク質の分子量推定に有用なツールです。

製品名	サイズ	製品番号	価格
Prime-Step™ Prestained Broad Range Protein Ladder	50 uL	773301	¥ 6,000
	500 uL	773302	¥ 21,000

異なるゲルやバッファーシステムにおける明確な分離、およびシャープなバンド



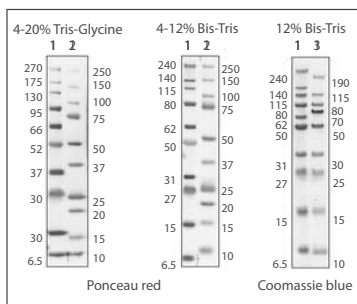
3 μ LのPrime-Step™ Prestained Broad Range Protein Ladderを異なるゲルや泳動バッファーを用いて電気泳動し、ニトロセルロース膜に転写しました。各タンパク質の分子量（MW）（kDa）は未染色のタンパク質スタンダードに対する較正によって決定しました。

注：記載されているすべてのMWはおおよその値です。

WB用の試薬・抗体の詳細：

https://www.biolegend.com/cell_biology

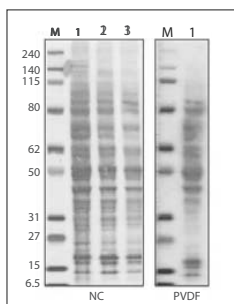
他社同等品に匹敵する精度で分子量の検出が可能



3 μ LのPrime-Step™ Prestained Broad Range Protein Ladderを異なるゲルで電気泳動しました。タンパク質をクマシーブルーで染色、もしくはニトロセルロース膜に転写してボンソーレッドで染色しました。

注：記載されているすべてのMWはおおよその値です。
Lane 1: Prime-Step™ Prestained Broad Range Protein Ladder
Lane 2: 他社タンパク質ラダー-製品1
Lane 3: 他社タンパク質ラダー-製品2

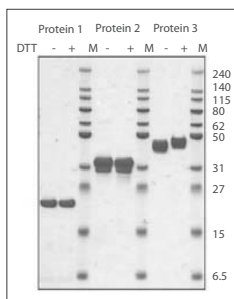
WBにおける優れた転写効率



3 μ LのPrime-Step™ Prestained Broad Range Protein Ladder（Lane M）、およびトータルセルライゼート（総タンパク質：15 μ g）を4-12% Bis-Trisゲル（MOPS泳動バッファー）を使った電気泳動により分離しました。次いでタンパク質ラダーおよびトータルセルライゼートをニトロセルロース（NC）膜、およびポリフッ化ビニリデン（PVDF）膜に転写し、ボンソーレッドで染色しました。

Lane 1: HeLa
Lane 2: Jurkat
Lane 3: NIH3T3

タンパク質精製におけるサイズ検出にも最適



3 μ LのPrime-Step™ Prestained Broad Range Protein Ladder（Lane M）、およびそれぞれ分子量が異なる3種類の組換えタンパク質1, 2, 3（各2 μ g）を12% Bis-Trisゲル（MES泳動バッファー）を用いて電気泳動を行いました。その後、クマシーブルー染色をしました。

注：記載されているすべてのMWはおおよその値です。

輸入販売元



Digital Biology®



トミーデジタルバイオロジー株式会社

〒112-0002 東京都文京区小石川1-1-17 日本生命春日駅前ビル3階

email: info-ap@digital-biology.co.jp phone: 03-6240-0843