

## タンパクチップの開発

株式会社カケンジェネックス（共同研究員）志水加代、窪田純一  
（専務取締役）後藤征人（社長）吉岡弘料

### 【目的】

本研究では、(株)カケンジェネックス内で既に開発したタンパク質チップ用スライドガラスを用いてタンパク質チップ・抗体チップを作製する。これを用いた汎用性の高いタンパク質チップ・抗体チップの開発を目的として、複数種類のタンパク質の固定化とその活性を検出する。

### 【背景】

ポスト・ゲノム・シーケンシング時代の焦点はタンパク質（プロテオーム）機能解析を網羅的に行うプロテオミクスが今や世界の主流となりつつある。こうした需要を満たすものとして、直接タンパク質をアレイする技術が各方面から求められるようになってきている。しかし、タンパク質はプロセッシング、糖鎖付加、リン酸化、脂肪付加などさまざまな修飾を受けており、その多岐にわたる活性はDNAと異なり熱やpHの影響を受けやすい為、アレイ化が難しいとされてきた。

そこで本研究では、平成16年度で商品化にも成功したタンパク/抗体アレイヤーを用いてタンパク質アレイを作製し、タンパク質濃度と固定化効率及び、活性の安定化について検討する。

### 【研究成果：フェーズII】

平成17年度には、まず表面を化学修飾したスライドガラス基板へのタンパク質の固定化を確認した。固定化するタンパク質はビオチン標識し、ビオチンとの結合能を有するCy5-conjugated streptavidineにより蛍光強度として検出した。最も効率的に固定化されるタンパク質濃度を確認した後、同様の手法を用いて30種類のタンパク質の基板への固定化を確認した。結果、蛍光強度の強弱は存在するものの、全てのタンパク質の固定化が確認された（図1）。この30種類のタンパク質について既存の検出方法であるELISA法と比較したところ、相関性が確認された。更に数種類のタンパク質について、その活性が維持される期間について確認した。初期の手法では製造翌日に3割、1週間後に9割の活性低下が確認されたタンパク質について検討を進め、一定の条件下で2週間、活性を維持することができた。タンパク質活性については、市販基板との比較についても平行して試験を進めており、(株)カケンジェネックス内で開発したタンパク質チップ用基板において良好な結果を確認している。

本研究において複数種類のタンパク質を基板に固定化できたことで、基板自体の汎用性が期待される。又、既存の検出方法であるELISA法との相関性により、平成17年度の成果として作製されたタンパク質チップの有用性が示唆された。

平成18年度には、三種類の緩衝液を溶媒として31種類のタンパク質の基板への固定化が確認された。更に抗体チップにも着手し、抗原との結合をサンドイッチアッセイにより検出した。これにより、本タンパク質チップの適用がより広範囲であることが示唆された。

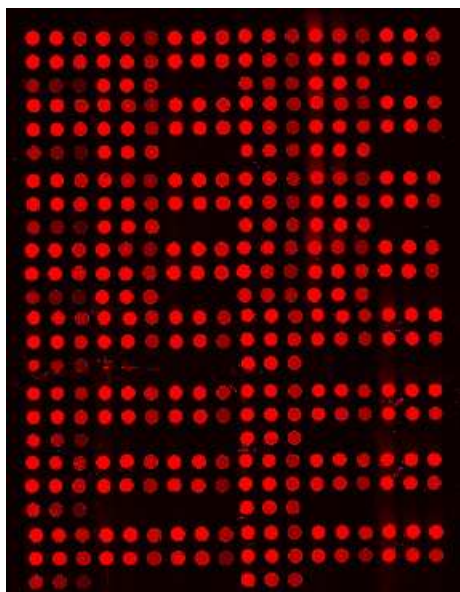


図1. ビオチン標識した30種類のタンパク質をCy5-conjugated streptavidineにより検出した。検出にはAxon社のGenePix4000Bを用いた。三点の濃度で同じサンプルを三回ずつアレイしたため、総スポット数は270となる。

#### 【今後の展開】

課題として、タンパク質チップが活性を有する期間を延長する必要性が挙げられる。一般にタンパク質は金属やガラス等の固体表面との接触で変性しやすいため、基板の表面修飾について更に検討を重ねる。これについては現在も検討を継続しており、良好な結果が得られつつある。又、具体的な検出対象についても対応する必要があり、タンパク質の提供を含めた提携先を模索する必要がある。

本研究では抗体及び抗体以外のタンパク質、いずれのタンパク質チップについても着手しており、複数種類の緩衝液を溶媒として用いた場合でもタンパク質の固定化が検出されている。本手法がより広い範囲のタンパク質に適応することが可能となれば、医療分野におけるタンパク質機能解析はもとより、網羅的タンパク質発現解析における検出手段としての利用が期待される。