

イメージング MS、メタボロミクス・プロテオミクス、 バイオ医薬品分析に関する前処理及び分析ソリューションのご紹介

○塩田晃久¹・板東泰彦¹

(エーエムアール株式会社¹)

1) サンプルの安定化

生体組織などのサンプルには多くの酵素が働いており、生体サンプルを抽出した後、それらの酵素の働きにより代謝物、タンパク質、脂質などは量/質的変動は瞬時に起こる。網羅的な物質の変動を時系列的に解析するオミックスにおいて、それらの変動をつかさどる酵素群を Heat Stabilization によって瞬時に不活化させることが重要である。生体組織中のペプチド、タンパク質、リン酸化タンパク質 (キナーゼ)、代謝物の解析 (LC/MS, イメージング MS) にとって不可欠である。Pathogen inactivation における効果も知られている。

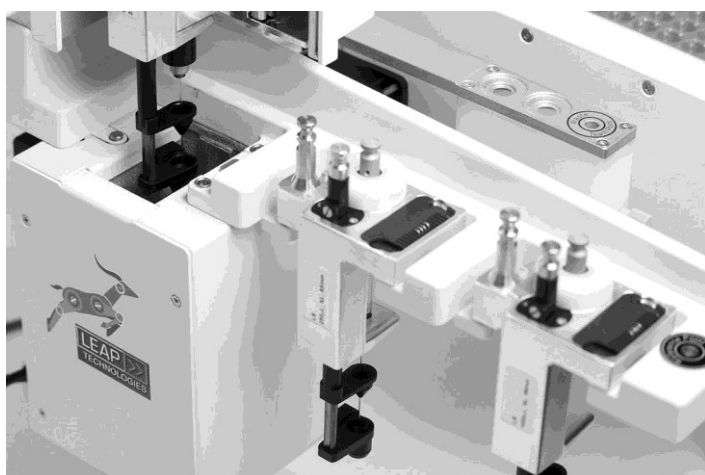
2) 酵素消化時間の短縮 (オーバーナイト→約 1 時間)

プロテオーム解析やタンパク質の糖鎖解析などで多くのサンプルを解析する上で、トリプシンなどの酵素消化はオーバーナイト処理で行われており、ハイスループット分析を行ううえでボトルネックとなっている。マイクロウェーブを利用することにより反応効率を高め、トリプシン消化を 15 分ほどで完了することが可能になった。

3) 抽出やクリーンナップ、誘導体化や HDX などの自動化

Bligh and dyer 法や誘導体化、サンプルのクリーンナップなど、時間や手間の短縮だけではなく、反応時間を一定に調整しながらそれぞれのサンプルを GC/MS などの分析装置にインジェクションすることが可能な自動化装置をご紹介します。

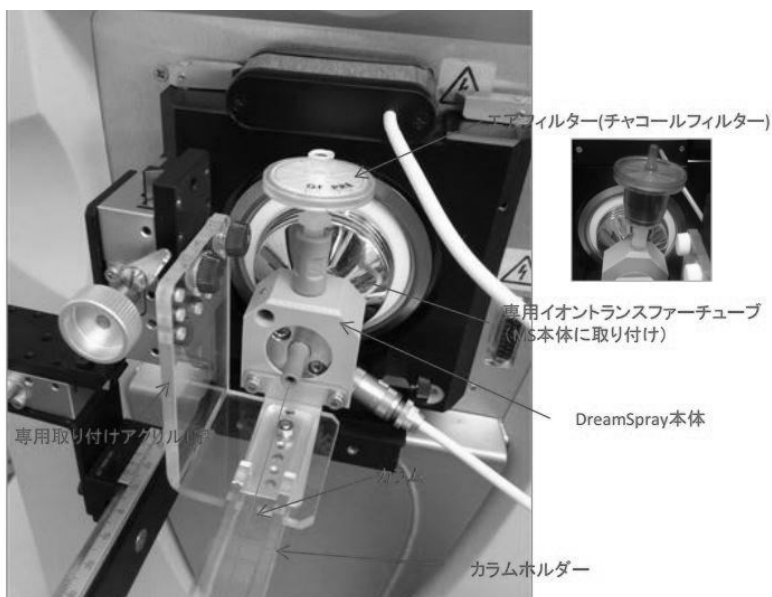
システム全体を冷却しながら HDX→酵素消化→LC/MS へのインジェクションを行うことも可能である。



4) ホルマリン固定パラフィン包埋組織からのタンパク質 LC/MS 分析

ホルマリンで架橋されたタンパク質を消化・抽出する特殊な試薬や、切片をマイクロダイセクションによりコンタミなしで回収可能なスライドガラスの開発、そしてインターフェースを含むナノフロー LC/MS システムの細部に亘る最適化により、FFPE 組織切片を用いたプロテオミクスが現実になった。

5) 最適化を突き詰めたナノインターフェース

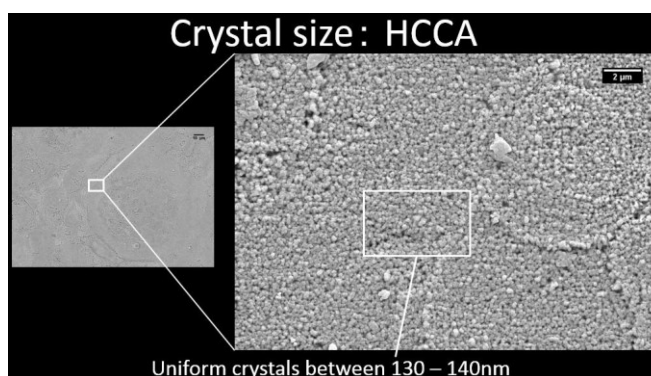


スプレー位置の調節がない、クローズドタイプのナノ LC/MS インターフェースを開発。エアフィルターを追加することにより、ベースラインも安定する。プラチナ電極スプレー (オプション) と組み合わせることで、ノンメタル分析も可能。ESI カラムも使用することができる。

6) エアブラシの自動化に近づいた MALDI スプレイヤー

MALDI イメージングにおいて、マトリックスを均一に塗布し結晶化しながらターゲット化合物によっては抽出を効率的に行うことが重要になるが、それを可能にする自動スプレイヤーをご紹介します。

消化酵素をスプレーし、高精度に湿度コントロールできる専用インキュベータと組み合わせることにより、ペプチドのイメージングにもご使用いただける。



7) 100 %イナートな Bio-SEC システム

Agilent 1260 Infinity Bio-SEC システムは、高分子特性解析のために、Agilent 1260 Infinity バイオイナート LC システムに、一体型の光散乱検出器 (動的/静的) を接続させたシステムです。

抗体医薬やバイオ医薬品に対して、絶対分子量、サイズコンフォメーション、アグリゲーションのデータを経験に頼らず誰でも簡単に得ることができます。

8) 200 万 Da まで検出可能な MALDI デテクター

高分子の検出は、MALDI 法などでイオン化し、飛行時間型質量分析計でマイクロチャンネルプレート(MCP)を用いて検出する。一定の電圧で加速されたイオンの質量が大きければ大きいほど、MCP に衝突する速度が遅くなるため検出感度は低くなる。この欠点を克服するために、前段に二次イオン生成とこれらを高電圧加速する新しい検出器が開発され、IgM(973kD) のような高い質量をもつ生体分子の intact 質量が測定できるようになった。

さらに、非共有結合性タンパク質の複合体を安定させる試薬により、抗体抗原反応の解析やエピトープマッピング、タンパク質凝集の解析、タンパク質相互作用の阻害アッセイなどが可能になる。