プロテオミクス（iMPAQT法）受託解析サービス

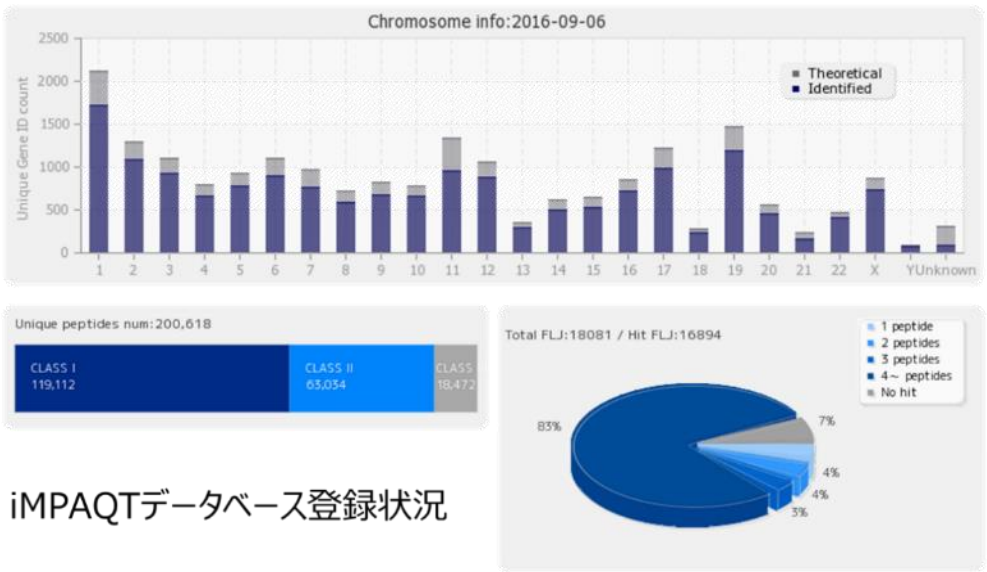
概要・特徴

プロテオーム解析には対象となるタンパク質の同定を目的とした定性分析から、個々の分子の量的関係を把握する定量分析まで、用途によって様々な分析法が存在します。当組合ではターゲット定量プロテオミクスである『iMPAQT法』を提供しています。
『iMPAQT法 (**i**n vitro proteome-assisted **M**RM for **P**rotein **A**bsolute **Q**uan**T**ification)』は九州大学・生体防御医学研究所の中山敬一 先生・松本雅記 先生らによって開発された次世代の定量プロテオミクス技術です[1)] 。約18000種類のヒト組換えタンパク質について質量分析計で測定するためのメソッドデータベースを構築しており、数百種類のタンパク質を同時定量（最大400種/時間）することが可能です。特定のパスウェイのタンパク質を一度に定量分析したい場合や、抗体では分離の難しいサブタイプの分析をされたい方にお勧めです。

1）Matsumoto M, et al., A large-scale targeted proteomics assay resource based on an in vitro human proteome., Nat Methods., 2017 Mar;14(3):251-258.

特徴①：18000種類のヒト組換えタンパク質から構築された質量分析データベース

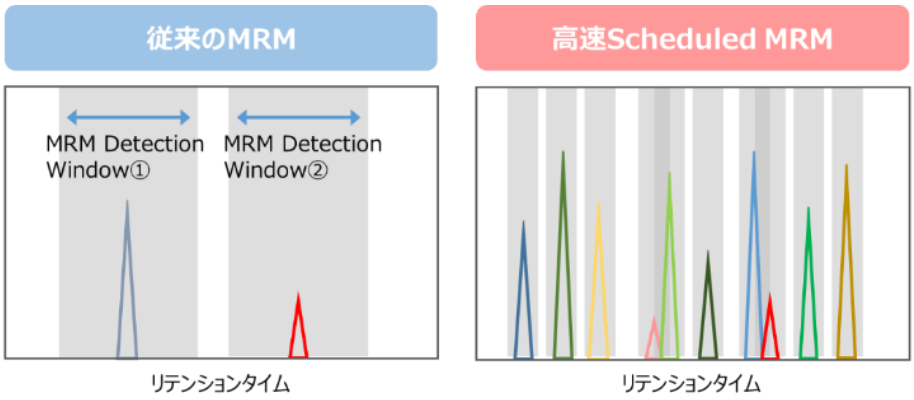
人工合成したヒト組換えタンパク質約18000種類をLC-MS/MS測定することにより、各タンパク質を質量分析測定するためのメソッドデータベースを構築しています。データベースは順次拡大しており、マウスなど動物への適用も可能となりました（iMPAQT Version 2）。



iMPAQTデータベース登録状況

特徴②：高感度プロテオミクス前処理と高速スケジュール化 MRM分析

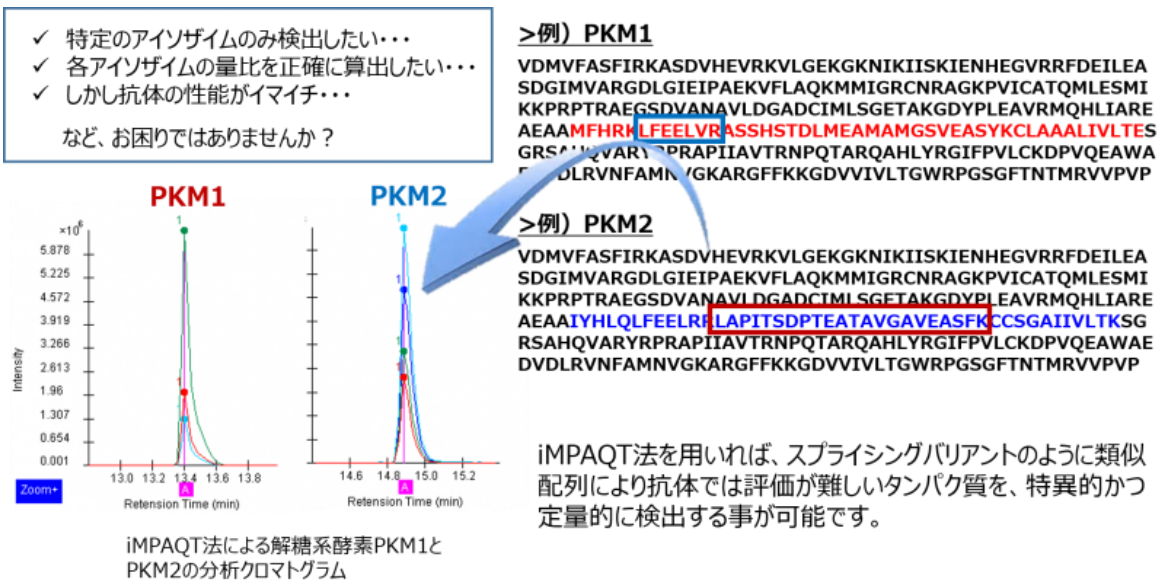
九州大学生体防御医学研究所の中山敬一 先生・松本雅記 先生の元で考案されたプロテオミクス用前処理手法を用いて分析を行います。消化効率改善や吸着抑制効果を高めた前処理法となっており、目的タンパク質を高感度かつ高精度に検出します。また、高度にスケジュール化されたMRM分析により１時間で最大400種のタンパク質を定量分析することが可能です。



事前取得情報による各ペプチドLCリテンションタイムの正確な予測と、装置性能の飛躍的な進歩によって、高速transition切り替えによる多成分同時分析が可能となりました。

特徴③：大規模分析から個別分析まで幅広いニーズに対応可能

iMPAQTデータベースを活用すれば、アイソザイムなど抗体では非特異反応により定量的な評価が難しいものも分析することが可能です。抗体性能でお困りの際は是非ともご相談ください。[2)]。



2）Morita M, et al., PKM1 Confers Metabolic Advantages and Promotes Cell-Autonomous Tumor Cell Growth., Cancer Cell. 2018 Mar 12;33(3):355-367.

原理

基本的な原理はLC-MS/MSを用いたMultiple Reaction Monitoring（MRM）分析となります。MRM法は、四重極（Q-pole：Quadrupole）を３つタンデムに連ねた三連四重極型質量分析計において、プリカーサーイオンを通すQ1フィルターと、CID（衝突誘起解離）による開裂後の断片であるプロダクトイオンを通過させるQ3フィルターの組み合わせを設定することで、特定のペプチドを特異的かつ高感度に定量検出する分析法です。

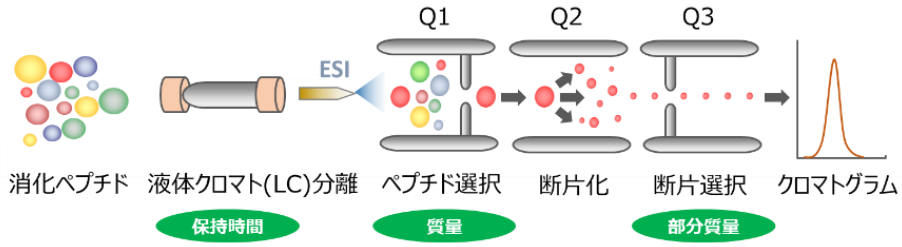


図１　Multiple Reaction Monitoring(MRM)法の原理

MRMの感度や定量ダイナミックレンジは通常のフルスキャンMSスペクトルの取得と比べて格段に高いですが、一方で選択するペプチドやCIDによるフラグメントの質量を事前に知っておく必要があり、対象に合わせた各分析パラメーターの最適化も不可欠となります。iMPAQT法では組換えタンパク質をベースにこれら事前情報を取得・データベース化しているため、細胞や組織検体などの内在性タンパク質を効率よく定量分析することが可能です。

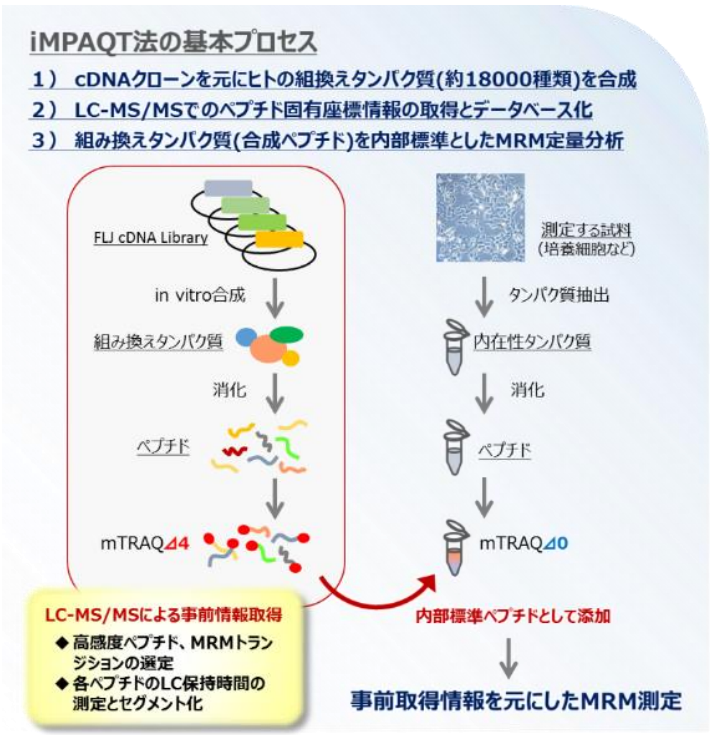


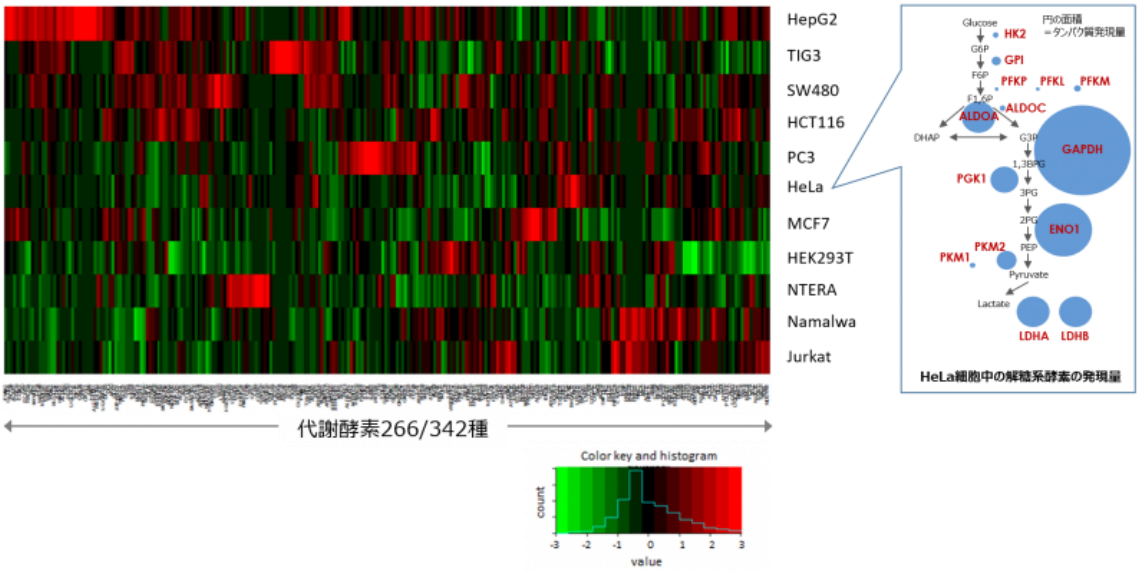
図２　iMPAQT法の基本原理

iMPAQT分析についての注意事項

本受託サービスでは、標準品として合成ペプチドを用いて分析を行うため、得られる定量値は合成ペプチド換算の値となります（前処理工程でのタンパク質の精製や、酵素消化効率は反映されておりません）。また、定量値は添加した内部標準ペプチド濃度から算出した（一点検量線）での値となります。あらかじめご了承ください。

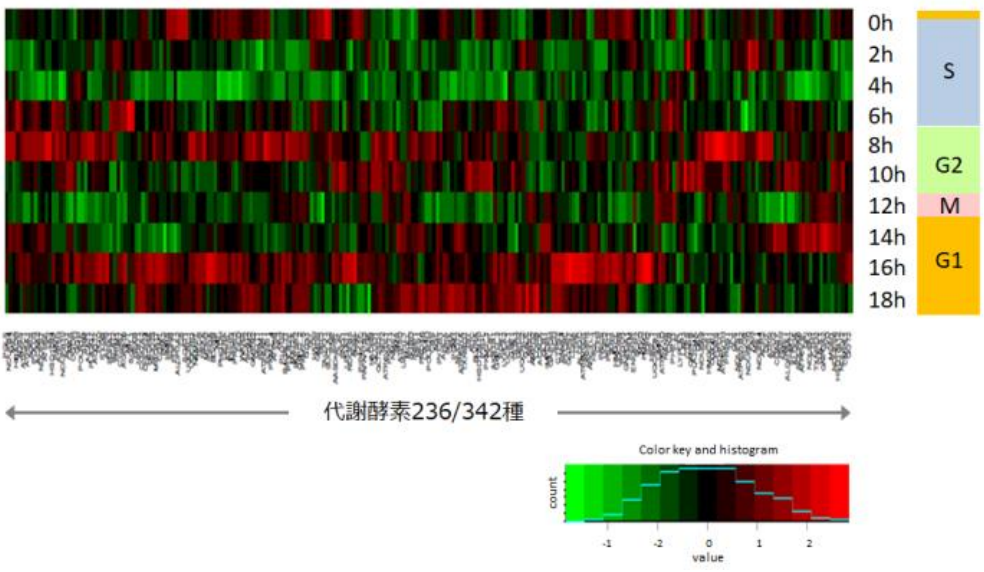
分析例 1

11種類のヒト細胞培養中の代謝酵素約340種を一斉分析メソッドにて分析し、ヒートマップを作成しました。各がん細胞の由来によって代謝酵素の特徴的な発現パターンを示しており、各細胞が増殖するためにどの経路を活性化させているのかを可視化する事が出来ました。またiMPAQT法では従来のショットガン法に代表される相対定量分析とは異なり、各酵素の発現量を定量値として算出できるため、それぞれの経路中での重要となる因子を把握する事が可能となります。



分析例 2

同様の代謝酵素メソッドを用いて、細胞周期毎の分析を行いました。
HeLa細胞をthymidine blockにて細胞周期を同調後、2時間毎に細胞回収し代謝酵素発現量を測定しました。各代謝酵素定量値を元にヒートマップを作成すると、DNA合成期には多くの代謝酵素発現が抑制され、細胞分裂後成長期に入ると、解糖系・TCAサイクルの酵素が大きく発現上昇（白〇部分）している事が示されました。一つの細胞であっても、周期によってダイナミックに変化する事が、タンパク質発現のレベルで明らかにすることが可能となりました。本技術を用いれば、遺伝子発現解析だけではできなかった新たな知見を得るだけでなく、遺伝子解析のデータを補う研究にも活用いただく事ができます。



測定機器

QTRAP®6500 （SCIEX社）
ACQUITY UPLC Premier（Waters社）

測定サンプル

ヒト培養細胞
ヒト凍結組織
ゼノグラフトなど、ヒトサンプルを移植した組織
ヒト白血球、赤血球などの血球成分（お客様にて各血球を単離した場合のみ）
エクソソーム（お客様にてエクソソームを単離したサンプルの場合のみ）

その他につきましてはお問い合わせください。

サンプル調製

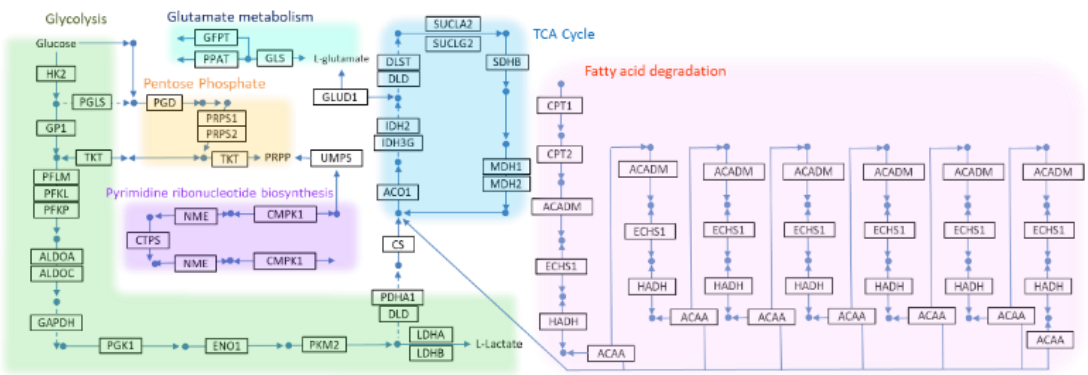
ヒト培養細胞：PBSで洗浄した培養細胞（2×10^6 cells以上）をペレットにし、－80°C以下で凍結保存
ヒト凍結組織：30 mg ～ 50 mg（5 mm×5 mm程度）にカットし、専用のマイクロチューブに入れ－80°C以下で凍結保存

詳細はお問い合わせください。

測定可能項目

①ヒト主要代謝酵素　約340種

数々の論文実績を誇るiMPAQT法を代表するアプリケーションです。



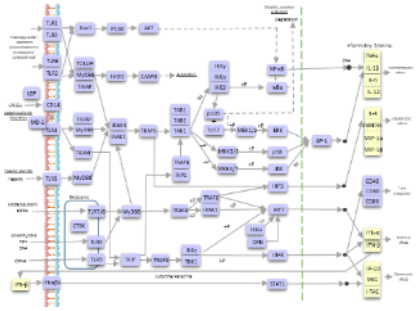
②ヒト免疫関連タンパク質　約370種

PBMCなど血液中の免疫細胞へのアプリケーションやサイトカイン測定との組み合わせにより免疫研究の新たな切り口になることが期待されます。

以下のpathwayに関わるタンパク質が対象です。

- Toll-like receptor signaling pathway
- Natural killer cell mediated cytotoxicity
- T cell receptor signaling pathway
- IL-17 signaling pathway
- B cell receptor signaling pathway
- Chemokine signaling pathway

Toll-like receptor signaling pathway



IL-17 signaling pathway



価格

ご依頼内容により変動いたします。お問い合わせください。

納期

検体受領後4～8週間程度

納品物

・報告書
・LC-MS/MS測定データ（.wiff及び.scanファイル）、クロマトグラム解析データ（.imqtファイル）、検出タンパク質名や定量値などを記載したリスト（Excelファイル）を収納したCD-R