



日本電気泳動学会

Newsletter

No. 6 MARCH 15, 2013

発行者 日本電気泳動学会 〒755-8505 山口県宇部市南小串 1-1-1 山口大学医学系研究科プロテオーム・蛋白機能制御学内 Tel: 0836-22-2213 URL: <http://www.jes1950.jp/>

新年のご挨拶

日本電気泳動学会会長

前川 真人 (浜松医科大学臨床検査医学)



新年明けましておめでとうございます。昨年から政治、経済、外交の問題で日本は大きく揺れています。技術に関しても最近では4Kテレビという新しい技術を日本のメーカーがどのように活用しアピールしていくかが問われています。

さて、電気泳動学会は電気泳動技術の進歩とともに歩んできたわけですが、多くはあたりまえに手に入るものと成熟しました。これからは、いかに新しい技術を作るか、またどのような特色を持って活用するかが大切だと考えます。電気泳動学会に参加しなければ得られない、ある領域ではオンリーワンとなる必要があります。言うは易く行うは難しで、簡単ではありませんが会員の諸兄姉の力をいただいで進めていきたいと思ひます。このように学会運営の一つの柱は、電気泳動学会の魅力作りとその広報活動による会員増です。今年の秋には、日本臨床検査医学会年次学術集会 (<http://jslm60.umin.jp>) で本会企画のシンポジウムを提案しております。電気泳動は臨床検査領域では分離分析技術の雄として長年利用されてきました。しかしながら、臨床検査の自動化が進み、手間暇がかかるマニュアル操作の電気泳動は日常検査としては行われなくなってきました。

チーム医療や生理学的検査が台頭してきています。しかしながら、チーム医療とはいろいろな技術を有した医療従事者が自分たちの得意とするところをいかに分担・協力するかが大切です。臨床検査の現場で、電気泳動をはじめとした分離分析技術を用いて異常データを解析、原因を解明することはひいてはチーム医療に貢献することであると信じております。そのようなアピールができる企画を考えたいと思ひますので、ご期待下さい。

もう一つの学会運営の柱は、現会員にとって「入ってて良かった」と思える環境作りです。執行部で具体案を考えていきたいと思ひますが、基本的には一つ目の柱と相通じるものであり、具体化していくことが肝要です。

本会の発展のためにどんどん意見やコメントを戴けますようお願い申し上げますとともに、今年1年が会員の皆様にとりまして、さらに一層充実したものになりますことをお祈り申し上げます。

2013年元旦

電気泳動は海を越えて

国際的活動に弾みをつけた 国際交流奨励賞

横浜市立大学先端医科学研究センター /
大学院生命ナノシステム科学研究科

平野 久



私は、長い間、タンパク質分析技術の開発と、それを用いた植物、酵母、ヒトのタンパク質の構造、発現、機能に関する研究を行ってきました。その研究を評価していただき、2007年に日本電気泳動学会の国際交流奨励賞を受賞しました。この賞によって「受賞後の国際的に通用する研究の推進」と、「国外で開催される学会でのその成果の発表」を奨励していただきました。受賞後、研究の発展に努めると共に、2007年には韓国、2008年にはオーストラリア、オランダ、台湾、2009年にはオーストラリア、カナダ、2010年にインド、スウェーデン、オーストラリア、2011年に韓国、スイス、2012年には中国、米国で開催された電気泳動、タンパク質あるいはプロテオームに関する学会に出席させていただき、研究成果を口頭やポスターで発表しました。また、学会セッションの座長も頻繁に務めさせていただき

ました。国際交流奨励賞受賞を機に、海外での学会経験を増やすことができました。そのおかげで海外での発表や学会セッションのオーガナイゼーションがあまり苦にならなくなりました。一方、国際学会では論文にも現れていない最新の研究状況を知ることができました。これは、私たちの研究推進に大いに役立ちました。また、私たちの研究意欲を高める上でも大きな効果がありました。さらに、多くの学会に出席させていただいたおかげで、国際学会開催のノウハウを学ぶことができました。これを、2008年に札幌市（北海道大学）で開催された第17回国際タンパク質化学構造解析法（MPSA）国際会議や、今年、2013年9月に横浜市（パシフィコ横浜）で開催される第12回ヒトプロテオーム機構（HUPO）国際会議などのオーガナイゼーションに役立てることができました。MPSA、HUPO、どちらも日本電気泳動学会の後援の下に開催された、あるいはこれから開催される国際学会です。また、国際学会への参加は、海外の研究者との関係を作る上でも役に立ちました。2010年からJournal of ProteomicsのExecutive Editorに選ばれましたが、国際会議で海外の研究者との関係を作ることができたからこそ選ばれたのだと思ひます。論文発表だけでは選ばれることはなかったでしょう。国際交流奨励賞のおかげで受賞前とは違った国際的な活動ができるようになったことに心から感謝しています。

思い出に残る創立20周年記念総会と 第8回児玉賞受賞

河合 忠

自治医科大学名誉教授、国際臨床病理センター所長、本会名誉会員



米国留学から帰国し、1963年電気泳動学会に入会してから丁度50年を迎え、さまざまな思い出に耽っている。学会会員数がピークに達した1980年の前後約30年間に最も活発に交流させて頂き、多くの先輩、同僚、後輩にご指導とご支援を頂いたことに深く感謝している。

筆者が電気泳動分析技術に初めて触れたのは1960年、米国フロリダ州マイアミ大学医学部/Jackson Memorial Hospitalで臨床病理学(臨床検査医学)のレジデント教育を受けていた頃である。当時、日常検査として利用されていた懸垂型濾紙電気泳動装置とデンストメータ(Beckman社製)による血清蛋白分画と澱粉電気泳動法によるヘモグロビン分画であった。帰国後、1963年、国鉄中央鉄道病院検査科(現・JR東京総合病院)に勤務すると、見たこともない“でっかい”チセリウス電気泳動装置が暗室に鎮座し、週1日5、6件の血清検体が分析され、主として医局員の学位取得のための研究手法として利用されていた。当時東京医科歯科大学医学部生化学教室宮本璋教授が顧問として指導されていたことが判明し、“なるほど”と納得した次第である。早速、高橋正宜検査科医長(後に、岐阜大学医学部病理学教授)を通して国鉄本社から異例の速さで懸垂型濾紙電気泳動装置とデンストメータ、そして間もなく免疫電気泳動装置を輸入して頂く幸運に恵まれ、筆者の血清蛋白分画の臨床的应用に関する仕事が始まり、それらの研究成果を次々と電気泳動学会に発表させて頂いた。さらに、4年後には駿河台日大病院検査科(部長:土屋俊夫教授)に移り、偶然、電気泳動学会の重鎮のお一人であった日本大学医学部生化学小林茂三郎教授のご指導がえられた。中央鉄道病院での臨床研究を継続するため、濾紙電気泳動法に加えてセルロースアセテート膜電気泳動法を日常検査に導入し、さらに研究手法としてGrabar & Williams免疫電気泳動法と薄層ゲル濾過法の技術を改良し、分析用超遠心分析装置の使用も可能となり、血清蛋白に関する研究は大幅に拡大した。幸い、各科の臨床医の絶大な協力があり、さらに首都圏の多くの病院からも血清蛋白分画検査の依頼が殺到、多種多様な症例を経験することとなり、それらを詳細に解析した成果を中心にまとめて出版したのが「血漿蛋白、その基礎と臨床」(719ページ、医学書院、1969)である。後に、その内容を一部更新して「Clinical Aspects of The Plasma Proteins」(464ページ、Igaku-Shoin/Springer Verlag, 1973; 第10回日本翻訳文化賞受賞)、そしてそのスペイン語版「PROTEINAS PLAMATICAS, Aplicacion Clinica」(Igaku-Shoin/Panamericana, 1977)が出版された。

電気泳動学会へ入会後6年間の学会発表実績と上記の単著出版が学会賞選考委員会で認められ、1969年度の第8回児玉賞の榮譽を受けることとなった。その年の10月1～3日、丁度電気泳動学会の第20回記念総会が東京で開催され、受賞講演「M蛋白血症」をさせて頂いた。初代会長の児玉桂三東京大学医学部生化学教授の勇退を機に、新しく第2代会長に選出された平井秀松北海道大学生化学教授が総会会長を務められ、同時に創立20周年記念式典も盛大に挙行され、小生にとって生涯忘れられない機会となった。会長講演として「電気泳動学会20年の歩み」、記念講演としてA. Tiselius博士による「Electrophoresis, past, present and future」とH. Peeters博士による「Electrophoresis over the seventeen Brugge Colloquia」、そして平井秀松・阿部正和両博士の司会によるシンポジウム「電気泳動法の医学・生物学への応用(演者:赤井貞彦、右田俊介、柴田進、荻田善一、中村正二郎の各博士)、そして一般演題31題という豪華なプログラムであった。その時の役員懇親会の集合写真を掲載させて頂いた。本総会でお会いしたH. Peeters博士との会話が切っ掛けとなって、彼が主宰していたColloquium on Protides of Biological Fluidsの第19回会議に招かれ、1971年4月にベルギー国ブルージュ市を訪れ、その帰路コペンハーゲン大学蛋白研究所を訪問する機会に恵まれた。この旅行が筆者にとって初めての欧州訪問となり、以後欧米、豪州・アジア圏の各国との国際交流が活発となる重要な転機となった。



写真 第20回総会後の役員懇親会(1969年10月3日)

前列左から、平井秀松会長、H. ピーターズ博士、宮本璋名誉会員、A. チセリウス博士、チセリウス博士令嬢、平井会長令嬢; 第2列左から、中村正二郎山口大学教授、村越康一千葉大学教授、伊藤齊慶徳義塾大学助教授、土屋豊順天堂大学教授、松橋直東京大学教授、田中亮一麻布大学教授; 後列左から、西信三北海道大学助教授、筆者、島尾和男東京医科歯科大学教授、坂岸良克医科歯科大学助教授、太中弘日赤医療センター部長、他(所属、職名は当時のもの)。

日本電気泳動学会奨励賞を受賞して

伊東 愛美

北海道大学大学院 保健科学院修士課程



第63回日本電気泳動学会総会で発表致しました「ローヤルゼリー蛋白質MRJP1の熱処理による影響」の演題に対しまして、日本電気泳動学会奨励賞を頂き、大変光栄に思っております。本演題では、いわゆる健康食品として知られているローヤルゼリー中の主要有効成分であるMRJP1の耐熱性について、主に電気泳動により解析した結果を発表致しました。学会は沖縄での開催でしたが、約2000 km離れた北海道から研究室のメンバーと揃って参加し、また、発表では多くの先生方からご意見をお聞きすることが出来、今後の研究に対し非常に有意義なものとなりました。

現在の研究室でローヤルゼリーの研究を始めてから3年が経ちますが、この3年間電気泳動は私の研究活動の中心でした。発表の中にありましたSDS-PAGEやBlue native-PAGEはもちろん、二次元電気泳動はmini gelだけでなく自分の顔よりも大きなlarge gelを用いた方法まで経験させて頂きました。当研究室では2011年に念願であったlarge gelによる二次元電気泳動システムの導入に至り、運用の開

始にあたっては本学会副会長でもあります戸田年総先生に大変お世話になりました。

ここからは、私にとって電気泳動といえば、で思い出すエピソードについてお話させて頂きます。large gel二次元電気泳動システムを導入してまもなく、ある蛋白質の解析のためにgelを作製しようとしたときのことでした。前回と同じようにやっているはずなのに、一向にgelが固まりません。何度やっても変わらず、しかしピーカーいっぱいのアクリルアミド溶液をそのまま流しに捨ててしまうわけにもいかず、実験を行っていたメンバー一同途方に暮れてしまいました。どうしてもその日の内に完成させなければならず、焦って操作上のミスも連発し、ひとまず息抜きに大学近くの洋食店に夕食を取りに出掛けました。戻ってからすぐに先輩の指摘により固まらない原因が判明し（入れる順番が違った）、一同ほっとしましたが、これ以来、large gelを作る度に「固まらなかったらどうしよう」という不安、というよりもむしろ恐怖を感じるほど、忘れられない出来事となりました。

日本電気泳動学会奨励賞を受賞して

宮城 聡子

麻布大学 生命・環境科学部食品生化学



この度は、「トロピカルフルーツによるレンサ球菌産生溶血毒素阻害能の検討」の発表に対して、日本電気泳動学会奨励賞をいただき本当に光栄であります。今回の第63回日本電気泳動学会が行われた沖縄県は私が生まれ育った島であり、幼いころからよく喫食したライチの研究でこのような賞をいただき、大変うれしく思います。

この研究テーマになったきっかけは、鈴木教授から「君は沖縄出身だから、沖縄の食材をつかって溶血毒素の中和能の検討をしてみたらどうか」という助言をいただき、トロピカルフルーツに注目して検討を開始しました。

溶血阻害の研究をする上で、過去の研究からポリフェノールが有効であるのではないかとということが報告されていたので、ポリフェノールを多く含むトロピカルフルーツを調べたのですが、トロピカルフルーツに関する研究報告がほとんどありませんでした。また、トロピカルフルーツが出回っている期間が限られており、実験

を行うにも手に入らないという問題もありました。そこで、冷凍で年中手に入ることをできるライチを使って、溶血阻害能の実験を実施しました。また、幸運にもライチの研究を行っている、(株)アミノアップ化学社からライチ中のポリフェノールの抽出標品、精製、そして低分子化したオリゴフェノール標品の供試を受け研究を進めていくことができました。この成果は、Yomiuri Onlineをはじめとして17の電子版で紹介されました。

今回用いたライチ同様、沖縄の食材にはポリフェノールを多く含むものが多いことが考えられます。南国で育つ植物の多くは、自身が強烈な紫外線から身を守る成分を多く持っていると考えられるからです。このことは、今、注目されている抗酸化の研究にもつながるのではないかと思います。

食という字は人の下に良と書きます。今回の研究で食がもつ潜在力の大きさを改めて感じる事ができました。これからも、奨励賞を励みに食の持つ可能性を追求したいと考えております。

第63回日本電気泳動学会開催報告

創薬プロテオーム研究分野 国立がん研究センター研究所

近藤 格



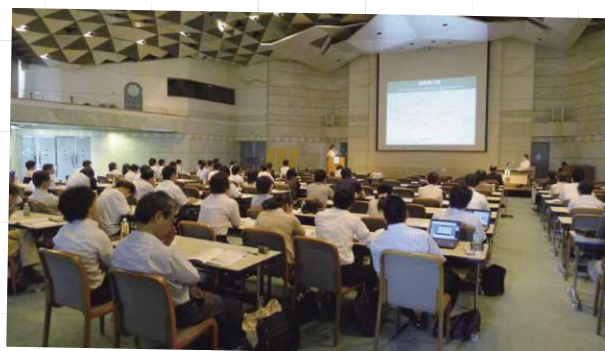
第63回日本電気泳動学会総会を、平成24年8月20日と21日に沖縄コンベンションセンターにて開催いたしました。本会の会員以外にも、電気泳動法に関心のある研究者、臨床医、大学院生、学部生、企業の方々にご参加いただき、盛況な会になりました。

若手研究者の活発の参加を願って、30-40代の方々を中心にプログラムを構成しました。電気泳動法の新しい技術に加え、電気泳動法の医学生物学への応用として抗癌剤耐性、バイオマーカー開発、臨床検査、トランスレーショナルリサーチなど、魅力的な研究内容に触れることができました。ポスター会場でも大学院生や学部生を交えた活発な討論が展開されました。また、ポスター会場では多くの企業の方々が最新の機器・試薬の展示をしてくださり、新しい製品を研究にどのように活用していくかを考えるよい機会となりました。

より経験を積んだ会員からの教育講演では、戸田年総先生に電気泳動の歴史と今後の方向性について、木下英司先生にフォスタグテクノロジーについて、加藤智啓先生に慢性炎症性疾患のご研究の成果について、そして佐藤雄一先生に抗体を用いた大規模実験について、御講演いただきました。シンポジウムでは、武川陸寛先生にMAPキナーゼ・シグナルと癌について最先端の研究成果を御講演いただきました。大会長講演として私からは、電気泳動法のバイオマーカー開発への応用例を御紹介いたしました。

すぐ目の前がビーチという楽しい環境で、休憩時には海水浴を楽しまれた方もおられました。沖縄という地方色を味わっていただきたく、沖縄観光協会のご支援でミス沖縄に会場に来ていただき、懇親会では伝

統音楽の生演奏と郷土料理を楽しむことができました。沖縄には総会の数日後に記録的な台風が訪れ、26日には旅客機全便欠航になったとのこと。間一髪セーフでした。この強運を研究にもぜひ活かしていきたいものです。



臨床 プロテオミクス

日本臨床プロテオーム研究会 編
金原出版 2012年
B5判、400ページ、10,500円(税込)

本書では、臨床的な課題に着目したプロテオーム解析について、本邦で活躍する研究者が最新の内容を執筆している。第一章「臨床プロテオームとバイオマーカー」では、バイオマーカー開発の現状と課題、プロテオーム解析に期待される成果が概説されている。「臨床プロテオミクス」が目指すところは、質の高い「疾患研究」であって、高度な「プロテオーム解析」ではない。したがって疾患研究に十分な造詣がなければよい成果を得ることはできない。その意味で本章は充実している。第二章「臨床研究としてのプロテオミクス」では、プロテオミクスの応用を意識した内容になっており読者に有益である。しかし、どの部分がプロテオミクスに本質的に固有のことなのか明確でない。バイオマーカーについて記載された箇所では、なぜプロテオーム解析でバイオマーカー開発が成功しないのか、医療統計、医療経済的な問題点、保険制度などにも踏み込んで記述して欲しかった。第三章「臨床試料の取り扱い」では、臨床検体を用いたタンパク質抽出法がわかりやすくまとめられている。患者さんや臨床医の協力あってこそこの「臨床プロテオミクス」なのだから、本章では臨床試料を扱う際の倫理的な手続き・問題点、そして研究者の心構えが記載される

べきだった。第四章「解析方法および技術」では普及している技術に加え、ここ数年で普及が進む新しい技術も紹介されている。安定稼働して「臨床プロテオミクス」としてよい論文が出ている技術とまだそうならない技術とが区別して語られるべきだったのではないだろうか。第五章「比較解析手法とバイオインフォマティクス」では、プロテオーム解析に用いられている解析手法がわかりやすく網羅されている。臨床プロテオミクスに重要な生存解析や多変量解析およびそのために使われる種々の臨床的なデータについても、記載が欲しかったところである。第六章以降は実際の実験例の紹介がメインとなっている。分子イメージングについての記載は、他の成書ではあまりみかけないので貴重である。

限られた紙面で本分野の最近の動向をうまく切り取った構成になっており、プロテオーム解析に興味がある方には誰にでもお薦めできる。これから改訂を重ね、海外の国際共同研究の様子、話題になった技術や発見が実際にどうなったかなど、最新の話題を盛り込んでアップデートしていくことが期待される。

(国立がんセンター研究所 近藤 格)



TOPICS

アフィニティトラップ-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法

(大阪大学蛋白質研究所 栗田ちひろ)

PAGEによる比較解析は、プロテオミクス技術の中でも最も一般的な技術のひとつです。PAGEは蛋白質の分離に優れること、また、様々な検出法があり蛋白質を容易に観察できるなど汎用的な手法としてプロテオミクスによく利用されます。しかし、蛋白質は存在量のダイナミックレンジが非常に広いので、多くの蛋白質を一様に解析する事は難しいと考えられます。よって、私たちはより詳細な解析のためにAffinityに着目した蛋白質の解析技術の開発を行っています。

私たちは、ポリアクリルアミドゲルが蛋白質の透過性に非常に優れている事に注目し、Affinity精製の原理をもとにPAGEによる特異的蛋白質の単離、検出法を開発しました。その流れを簡単に以下に示します。

- 1) リガンドをポリアクリルアミドゲルに固定化する(→リガンド固定化ゲル)。
 - 2) 試料を通常のPAGEを利用して分離する(→サンプルゲル)。
 - 3) サンプルゲル中の蛋白質成分をリガンド固定化ゲルに電氣的に一斉に転写する(このとき、リガンドに親和性を示さない蛋白質は素通りする)。
 - 4) リガンドと特異的に相互作用し、リガンドゲルにトラップされた蛋白質群を一挙に検出する。
 - 5) 検出した蛋白質を質量分析により解析する。
- 一例として、トリプシンをリガンドとして固定化したゲルを用いて、トリプシンに対して高い親和性を示すトリプシンインヒビター (SKTI) を大豆抽出液から直接単離、同定した例を示します (図)。

現在、この方法を翻訳後修飾解析、特にリン酸化蛋白質のプロテオーム解析に応用しています。将来的には、様々なリガンドによるバイオマーカー探索やスクリーニング技術としての有用性も示していきたいと考えています。

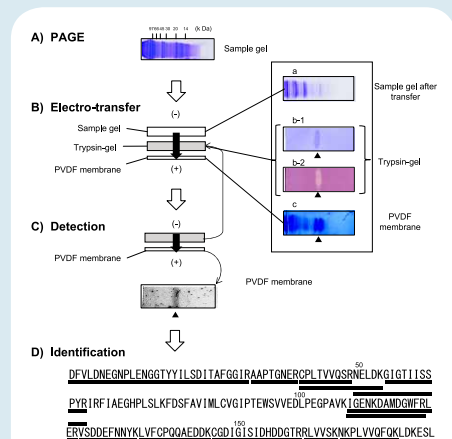


図 大豆抽出液由来 SKTI の単離、同定

(A)SDS-PAGE; (B)Aで得られたサンプルゲルのアフィニティトラップポリアクリルアミドゲル電気泳動; (C)トリプシンゲルにトラップした蛋白質 (b-1)のPVDFメンブレンへのエレクトロブロットニング; (D)SKTIのアミノ酸配列とMALDI-TOF MS/MSで同定されたペプチド (下線)。ゲル (A, a, b-1), PVDFメンブレン (c)はCBB染色; トリプシンゲル (b-2)は酵素活性染色; PVDFメンブレン (C)はSYPRO Ruby protein blotによる染色。矢印はSKTIと同定されたバンドを示す。

病院微生物検査室における電気泳動の有用性

(浜松医科大学 石川仁子)

微生物検査室では、検体の塗抹・培養・薬剤感受性検査、細菌、ウイルスの迅速抗原検査、結核菌などの核酸検査を主に行っています。また、耐性菌検出や動向調査を感染対策チーム (ICT) の一員として感染対策にも取り組んでいます。これらの日常業務では電気泳動法が多く用いられています。*Clostridium difficile*は、入院患者の下痢の原因として重要であり、下痢便の培養検体から毒素 *tcdA*, *tcdB* を検出することで判定します。迅速検査 (免疫学的検出) で感度以下でも遺伝子検査では検出できることもあるため、正確な情報が得られます。今期は非常に流行しているノロウイルスのG1, G2の検出も行っています。

耐性菌のMRSA, VRE は、*mecA*, *nuc*, *vanA*, *vanB*, *vanC*の遺伝子を検出することで確定できます。また、院内でのMRSAのアウトブレイク発生時は、rep-PCR, DiversiLabを用いた遺伝子タイピングで相同性を解析することでアウトブレイクを判定でき、感染対策に有用な情報を提供してくれます (図1)。このように、耐性遺伝子を同定、早期発見することは、臨床的にも感染対策的にも非常に重要です。また、感染源を探り感染対策を適切に行うためには遺伝子タイピングも重要です。これらのいずれにも電気泳動法が簡便で、かつ不可欠な役割を果たしているため、原理を知り適切な手法で行うことが肝要です。

△A菌株で検出されたMRSA解析結果例

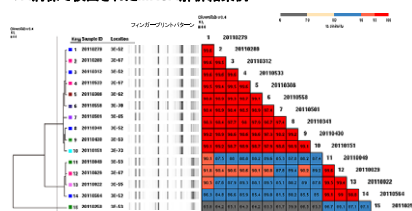


図1 DiversiLabを用いたMRSAの遺伝子タイピング

出芽酵母リボソームタンパク質のN^α-アセチル化とそれがタンパク質合成に及ぼす影響

(横浜市立大学 紙田正博)

N末端アセチル化 (以下N^α-アセチル化) は不可逆的な修飾である。出芽酵母においてN^α-アセチル化は、主に3種類のN^α-アセチル化酵素 (NAT: NatA, NatB, NatC) が担っている。出芽酵母 80S リボソームを構成するリボソームタンパク質もN^α-アセチル化されているといわれているが詳細は不明である。加えて、リボソームの機能におけるN^α-アセチル化の役割については全く明らかにされていない。本研究では、二次元蛍光ディファレンシャルゲル電気泳動法 (2D-DIGE) と質量分析装置 (MS) を用いて、N^α-アセチル化されているリボソームタンパク質を網羅的に検出・同定した (図A)。2D-DIGE/MSの結果、1つのゲル上で60のリボソームタンパク質を同定、19のリボソームタンパク質がNatAとNatBによりN^α-アセチル化される事を明らかにすることができた (図B)。また、正常株とNAT欠損株 (NatA, NatB および NatC欠損株) のリボソームの機能を比較した結果、NatA欠損株で27%低下、NatB欠損株で23%タンパク質の合成能が低下している事がわかった (図C)。さらに、タンパク質合成における翻訳段階へのN^α-アセチル化の影響を詳細に解析したところ、NatA欠損株において終止コドンを読飛ばした15kDaタンパク質が増加することがわかった (図D)。この結果から、NatAによるリボソームタンパク質のN^α-アセチル化が翻訳段階の正確性に影響を及ぼしていると考えられる。本研究の結果、リボソームタンパク質のNatAによるN^α-アセチル化がリボソームの機能の恒常性維持に必要であることが明らかとなった。

<参考文献>

Kamita M, Kimura Y, Ino Y, Kamp RM, Polevoda B, Sherman F, Hirano H. N^α-Acetylation of yeast ribosomal proteins and its effect on protein synthesis. J Proteomics. 2011;74:431-441.

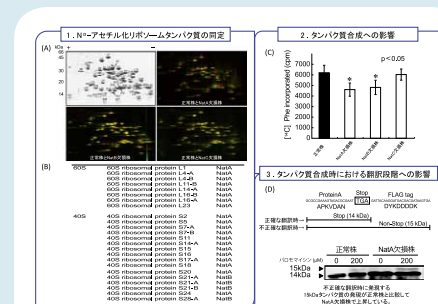


図 出芽酵母リボソームタンパク質のN^α-アセチル化とタンパク質合成に及ぼす影響

