



日本電気泳動学会

Newsletter

No. 3 JULY 25, 2011

発行者 日本電気泳動学会 〒252-5201 神奈川県相模原市中央区淵野辺 1-17-71 麻布大学内 Tel/Fax: 042(769)2293 URL: <http://www.soc.nii.ac.jp/jes1950/>

オミクス研究において ますます重要性を増してきた電気泳動技術



日本電気泳動学会会長 戸田 年総

ゲノミクス（網羅的遺伝子研究）に始まったオミクス研究は、トランスクリプトミクス（網羅的 mRNA 研究）からプロテオミクス（網羅的タンパク質研究）を経て、さらにメタボロミクス（網羅的代謝物研究）へと展開を続けておりますが、その過程において、ヒトゲノム計画の成功を支えたのはキャピラリー電気泳動の技術に基づいた DNA シーケンサーであり、プロテオミクスの誕生と発展を支えたのが二次元電気泳動であったことは周知の通りです。さらに近年のメタボロミクスではイオン性の代謝物の分離においてキャピラリー電気泳動が威力を発揮し始めております。そのような流れの中、プロテオミクスにおいては、近年電気泳動に依らない所謂ショットガン方式と呼ばれる分析法が広く行われるようになり、二次元電気泳動の影が次第に薄くなってきている

感がありますが、実はプロテオミクスが単なるトランスクリプトミクスの“裏を取る”だけのことに留まらない最も重要な標的である“翻訳後修飾”の解析において、ショットガン方式では困難な『タンパク質全体に亘る複合的な修飾』を容易に検出できる優れた方法であるということがあらためて見直されております。

その中でも、特に細胞内シグナル伝達機構の解明や、がんのバイオマーカーの探索の標的として重要なリン酸化タンパク質の分析において、Phos-tag アクリルアミドゲルによる親和電気泳動の技術開発が進んでおり、今後、ショットガン方式によるプロテオーム解析で見落とされた複合的な翻訳後修飾を検出する手段として威力を発揮するものと期待されます。

電気泳動は海を越えて

日本電気泳動学会 国際交流奨励賞受賞者より

愛媛大学名誉教授 真鍋 敬



私が電気泳動法にとりくむことになったのは、1975 年に O' Farrell が発表した大腸菌ポリペプチドの、変性条件 2 次元電気泳動の論文からでした。これを非変性条件でのタンパク質の高性能分離法に発展させようと、方法の開発やマイクロゲル化に関する論文を 1979 年から 1983 年頃にかけて発表しました。マイクロ 2 次元電気泳動の装置はナンシー大学（フランス）の Prof. Siest の研究室にも採用され、その縁を頼りに 1985 年の夏にナンシーに 3 ヶ月滞りました。この間に欧州圏の電気泳動国際学会が開催され、また帰国後も電気泳動の国際学会に参加する中で、のちにタンパク質情報データベース SwissProt の組織化を推進することになる Prof. Höchstrasser（スイス）や 1980 年に創刊された Electrophoresis 誌の編集長（当時）Prof. Radolla（ドイツ）、キャピラリー電気泳動の創始者としても有名なウプサラ大学の Prof. Hjertén（スウェーデン）、固定化 pH 勾配を開発した Prof. Righetti（イタリア）らと討論や懇談をする機会を得ました。

1999 年に日本で開催された国際電気泳動学会（会長 橋本信也教授、組織委員長 櫻林郁之介教授）では、プログラム委員長を命じられ 12 のセッションの内容決定を諸先生方にお願ひしました。海外からも前述の方々ほか多数の著名な電気泳動研究者の参加を得て、この学会は大きな成功を収めたと思います。しかし、その後電気泳動法の多様化と質量分析法の発展に伴い、それぞれの領域（キャピラリー電気泳動、2 次元ゲル電気泳動、マイクロチップ、プロテオミクス、臨床応用など）の国際学会が拡大され、現在では国際電気泳動学会そのものの定期的開催は中断された形になっています。この国際電気泳動学会以降、自分の研究内容はイタリアのシエナで 2 年ごとに開催されてきた Siena Meeting (From genome to Proteome) や国際プロテオーム学会などの国際学会で発表してきましたが、2010 年 3 月の退職に伴い実験ができなくなりましたので、もう参加することもないでしょう。ただ、退職直前まで続けていた実験の内容を Electrophoresis 誌に発表できた (Vol31, 2010, 2740-2748) ことには満足しています。2000 年から 10 年余り勤めてきた Electrophoresis 誌の Deputy Editor の仕事は、現在の編集長の Prof. Rassi に進退伺いを出したところ、当面続けよとのことでした。年間 100 報程度の電気泳動に関連した投稿論文の審査にかかわることになります。結局のところ研究面での国際交流は英文での論文発表が一番確実な方法なのかも知れません。その意味では、電気泳動法の国際交流にまだしばらくかかわることができることは大変幸せなことだと思っています。

ナタデココ電気泳動の開発

田淵 眞理

立教大学理学部



はじめに、3月11日の東日本大震災では、日本電気泳動学会の会員の方々にも被災された方が多数いらっしゃるかと思います。心よりお見舞い申し上げます。

さて、児玉賞という名誉ある賞を受賞させて頂きましたこと、ご推挙いただきました選考委員の皆さま、会員の皆さま、そして私の研究を陰で支えてくださった多くの方々々に心より御礼申し上げます。わたくしのように電気泳動に未熟なものに、このような名誉ある賞はとても恥ずかしい限りです。しかし、この受賞に恥じないように、これからも精進し、電気泳動学会を支えていきたいと思っています。

『ナタデココ電気泳動の開発』・・・これを見た人、聞いた人はだれしも、なぜ、ナタデココなのか、どのようにして思いついたのか、と決まって尋ねられる。取材を始めとして、もう100回以上、同じ回答をしているかもしれない。その際、長い話になるが、と前置きして私の人生ドラマを語る。いまだに質問の余波はある。表にでるものには少し脚色があったりもする。そこで、この際、この場を借りて私自身回顧しよう。

実のところわたしの電気泳動歴は、皆さんのようには長くはない。しかも、皆さんのようにアガロースゲルやポリアクリルアミドゲルから始めてはいない。初めて着手した電気泳動はキャピラリー電気泳動。英語の電気泳動の専門書を読みあさり、猛勉強した。電気泳動を知らないのは私だけだったからだ。しかしそれは3カ月という短命に終わり、その後、3分でできるマイクロチップ電気泳動装置がお目見えした。2000年の夏過ぎのことであった。そして、一夜にして、それまで研究室に10台近く並んでいたキャピラリー電気泳動の装置はお蔵入りし、マイクロチップ電気泳動に入れ替わった。当時、徳島大学(現名古屋大学)の馬場研究室のことであった。マイクロチップ電気泳動とはキャッシュカード程度の大きさ厚さのアクリル板に髪の毛太さ程度のトンネルの溝がほられていて、その中にゲルを詰めて、3センチ程度の長さの中で電気泳動を行う、というもの。それまでは、数十センチのキャ

ピラリーを用いていたので、この中で分離ができるのか、と内心疑問に思った。デモで100bpのラダーの分離を行ったが、ピークの形があるものの、シャープではない、なんだか心もとないおぼけみtainいものであった。ときには幽霊のようにピークの姿がない。そこから、わたくしの仕事が始まった。このおぼけみtainいで、ときには幽霊みtainいなピークをシャープなピークにすることだ。そもそも、髪の毛の太さサイズのトンネルには粘度の高いゲルは入らない。流動性の低いポリマーゲルしか使えない。すると必然的に分離度は低下する、自明であった。

当時、ナノ粒子というものが流行った。徳島という島国でやや田園風景が多い土地なのに、なぜか研究の世界最先端があった。東京から渡ったわたしは、まるで海外に留学したかのように、新しいものに日々出会えた。これをわたしは国内留学と呼んで勉学に勤しんだ。研究は、ナノ粒子を用いて、ゴーストのようなピークがシャープにならないか、というものであった。これは苦戦して4年かかってやっと成功した。研究が軌道にのったそんな矢先、研究室が移動になった。移動とともに、装置も学生もすべて出払い、がらんとした研究室でわたし一人佇んだ。そんなある晩、コンビニでふと目にとまったデザートはナタデココ。実はこの電気泳動の研究の前には、あるプロジェクトでナタデココの研究を6年間携わっていた。ちょうどテラミスだのなんだのでナタデココがブームだったあのなつかしのバブル時代のころのことだ。そのプロジェクトも軌道に乗ったころ解散していたのだ。ナタデココは、数十ナノメートルの繊維がからまって、数十～数百マイクロメートルのポアをもつ網目構造をしている。このナタデココを使えば、と頭をよぎった。早速、デザート1個購入して、夜中の研究室に戻る。結果は大成功！100bpのラダーのみならず、10bpのラダーまでもがシャープなピークになった。

わたしは、この児玉賞にわたしの人生の縮図のようなものを感じる。出会った多くの方々に感謝したい。

ヤング
スポンジ



File.

2

Case report: パワーサプライの順番待ちに見られる 日本電気泳動学会奨励賞受賞効果について

田村 彰吾

北海道大学大学院保健科学院博士後期課程 日本学術振興会特別研究員



昨年9月、札幌にて開催された第61回日本電気泳動学会総会で演題名「Major royal jelly protein 1 (MRJP1) oligomer 構成低分子蛋白質 Apisimin の分子特性解析」を発表し、光栄にも日本電気泳動学会奨励賞を受賞させていただきました。発表の内容は、いわゆる健康食品としてよく知られているローヤルゼリー中の主要可溶性蛋白質“major royal jelly protein1”が天然条件下において oligomer を形成する際に必須と推定される結合ペプチド“apisimin”の分子性状解析でした。この apisimin は特異なアミノ酸配列を有し、プロテオーム解析のゴールドスタンダードとされる手法では同定・解析に至らず、本学会で活躍された真鍋敬先生らが開発したアルカリ抽出法 (Electrophoresis 2005, 26, 1019-1028) に N 末端アミノ酸シーケンスを組み合わせた手法が有効であったことを強調し、発表いたしました。このペプチドはトリプシン消化によるポリアクリルアミドゲルからの抽出は全く無効であったことから、解析で最も苦しんだ点はゲルからの抽出でした。しかしアルカリ抽出の導入によって解析が一気に進み、本研究結果はまさに日本電気泳動学会の成果に支えられ、得られたものと痛感しています。

さて、ここからは奨励賞受賞による研究室への影響をお話させていただきます。私の所属する大学院は修士課程が2008年に設立され、今年で4年目の真新しい大学院で、研究室もやっと学部・修士・博士課程の学生が各年代揃ったところです。そのような歴史の浅い、生まれて間もない研究室にとって奨励賞受賞は一大ニュースとなりました。日常的に触れている器具とそこから得られた結果、そして世間話の様に繰り返し行われたディスカッションが受賞という形になったことは、実験結果の辿り着く先を具体化し、後輩たちの意欲を一層駆り立てました。そしてそのやる気は実際に目に見える形として現れ、ある意味では喜ばしい事なのかもしれませんが、電気泳動のためのパワーサプライの順番待ち(取り合い?)が日常的になっています。今では、より明確な目標が増えたことで一心不乱に実験をしている後輩たちから逆に私が刺激を受けています。近い将来にまた当研究室へ奨励賞受賞のニュースが舞い込み、私たちのやる気が掻き立てられる事を心から期待しつつ、私は今日もパワーサプライの予約待ちに名前を書き込みます。



日本電気泳動学会奨励賞を受賞して

武藤 太和

国立がん研究センター研究所 東京医科歯科大学医歯学総合研究科

この度は栄えある賞を頂きありがとうございました。研究発表に際して失敗した点・成功した点を述べさせて頂き、今後発表される方への一助となれば幸いに思います。

最も大きな失敗は、学会会場での質問にきちんと回答できなかったであろうことです。自分の研究内容と結果に目を向けるあまり、この研究をすることで我々人類にとってどのような良いことがあるのか、その結果をどのような方法で公表するのか、について深く考えていませんでした。研究者は、研究に費やされた莫大なコストとリスクを還元するために、出た結果の先のことも十分に考え、説明できるようにしておかなければなりません。ここで得た教訓を次に生かさせていけたらと思います。ただ、口演での発表は初めてでしたので、非常に緊張してしまっていたことを付け加えておきます。

成功したと思う点は、スライドと話しのバランスをうまく設定できたことです。聴衆が1枚のスライドから受け取れる情報は1

つ、多くても2つ程度であろうと思っています。なぜなら、会場で発表される研究内容は電気泳動という共通のツールを用いてはいるけれども、その内容は多種多様であるため、聴衆がその場で全てを理解することは非常に困難だからです。スライドに載せる情報は極限まで切り詰めて少なくし、その内容をサポートすることを口頭で補うように話すことを心がけました。もちろん原稿を演台に置いて朗読などするのではなく、聴衆の方を見ながら呼吸を合わせて自分の言葉で話したことで、会場と一体になった発表にできたと思います。また、スライドの文字は24ポイント以上でないと聴衆は読めません。図を載せる時も、文字はできるだけ大きく且つ少なくしました。

最後に、電気泳動を用いた大腸がんのプロテオーム解析からは、まだまだ多くの貴重な情報が得られるはずで。現在は博士号を取得したにも関わらず企業で営業職をしておりますが、今後の更なるプロテオーム解析の発展を願ってやみません。



第61回日本電気泳動学会総会開催報告

北海道大学大学院保健科学研究院病態解析学分野

森山 隆則

第61回総会は、2010年9月18・19日に北海道大学クラーク会館にて開催されました。私が初めて本学会に参加し発表した演題は、「マクロアミラーゼの免疫化学的解析」に関するもので第31回春季大会（野口英世記念会館）であったと思います。当時、私は旭川医大病院検査部で現役の臨床検査技師として日常業務として血清蛋白電気泳動あるいはアミノザイム電気泳動に携わる立場にありました。電気泳動に関する貴重な数多くの発表を聞くために、開催日前日に東京に入り最終日の恒例のセレモニーまで全ての行事内容に参加いたしました。大変刺激的で充実した気分で職場に戻ったことを今も鮮明に記憶しております。以来、私は電気泳動学会に出せる仕事を念頭に日常業務に向い今日を迎えております。この度は、私をこれまで育てていただいた電気泳動学会への恩返しの気持ちで研究室の学生諸君と運営させていただきました。

本総会は、「60年の実績を次世代へ」をテーマとさせていただきました。これは直接的には若手会員の存在こそが本学会の財産となることから、これまで日本電気泳動学会で活躍され立派なお仕事されてきている先生方より、若手の皆さんへメッセージを送っていただくことにありました。卓越した研究成果の紹介こそが強いメッセージになると思ったからです。しかし、限られた時間と人数となったことは残念に思っているところであります。趣旨にご賛同いただきご発表いただきました先生方に改めて感謝申し上げます。

通常の行事に加えて、今回の目玉行事として最終日に開催されました、若手研究者のためのワークショップ「みんなで考える異常検体の解析の進め方・実験操作法のポイント」がありました。

この企画は、若手会員育成に尽力されている藤田清貴先生の強い熱意のもと大石正道先生と企画されたものでした。症例解析でさらに必要な解析について疑問に思っていること、二次元電気泳動で生じた不可解な現象や生体試料の特性などについてそれぞれ司会者より指名された4名の若手会員から発表がありました。そこでフロアーから適切かつ重要な様々な意見が出され大変有益な討論が展開されました。最後まで熱心に議論にご参加いただきました会員の皆様に心より感謝申し上げます。一般演題は31演題の発表が行われ、その内容は遺伝子の多様性解析、腫瘍マーカーの探索、食品の分析、食中毒原因菌の解析、症例の解析結果、新規電気泳動法の開発と多岐にわたる一般演題となりました。

皆様、本年は横浜開港記念会館にてお会いしましょう！



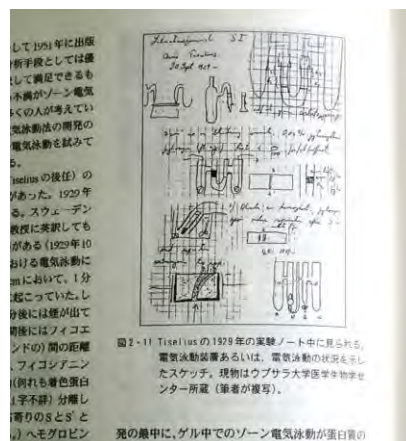
「電気泳動の歴史」 バイオサイエンス最前線 '97増刊号

高木 俊夫 著
アトー株式会社発行 1997年
B5判、113ページ、1,000円（税込）

今回ブックレビューに取り上げさせていただくのは大阪大学名誉教授の高木俊夫先生が著された「電気泳動の歴史」である。アトー株式会社の広報誌に先生が連載されていたものをまとめて14年前に出版されたものである。電気泳動現象の発見から、チゼリウスの装置を経てポリアクリルアミドゲル電気泳動、SDS-PAGEなどの現在の主要な電気泳動法にいたる道筋が、それに関わった人々の人生のドラマも含めて紹介されている。本書を読むと、電気泳動を今日のような形にまで発展させた先達が傍らに現れたかのように感じることがある。そして、彼らの栄光とともに苦闘と苦渋にも耳を傾けることになる。高木先生はタンパク質化学の研究者としての活動の傍ら、関係者からの聞き取りを行い、記録を丹念に調べられて本書をまとめられた。先生の熱意に敬意を表するばかりである。この本はある意味で専門的な本であり、読者は余り多くないだろうが、私にとっ

ては愛読書の一つとなってしまった。多くの写真が載っているが、印刷があまりよくないのが残念である。購入したのはずいぶん前で、その当時は一冊1000円であった。まだ在庫があるかもしれないので、是非早めに購入されることをお勧めする。

（福島県立医科大学 志村清仁）



新しい電気泳動法が開拓するムチン型糖タンパク質の分離解析

(産業技術総合研究所 松野裕樹)

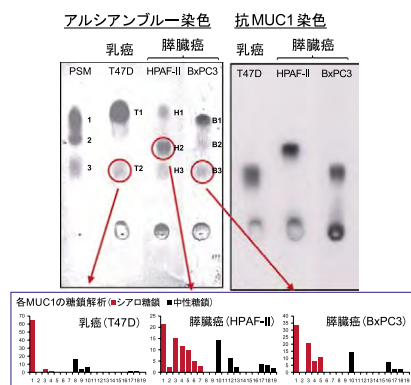
ムチン型糖タンパク質(ムチン)は、分子量が大きなものでは数MDaにも及び、その分子量の5~8割を占めるO-結合型糖鎖がタンパク質を覆っている。疾患との関連性がきわめて高いことから、ムチンは新しい診断マーカーのシーズとして以前から注目されてきた。しかし、分子量がけた外れに大きいことや、高度な糖鎖修飾が引き起こす分子の不均一性などが、ムチンの分離解析を難しくさせている。従来のゲル電気泳動などを利用するプロテオミクス技術では歯が立たず、ムチンの分離解析は長い間難題として取り残されてきた。

筆者らが最近開発した新しい電気泳動法である、分子マトリクス電気泳動(Supported Molecular Matrix Electrophoresis, SMME)は、ムチンの分離解析に突破口を開いた¹⁾。SMMEとは、特定の支持体上に形成した特定分子のマトリクスを分離担体とする電気泳動法であり、ムチンの分析には支持体にPVDF膜をマトリクス分子には親水性ポリマーを使用する。簡単に言えば、ムチンをPVDF膜上で電気泳動分離できてしまうのである。分離後は別の膜に転写せずに、ムチンの糖鎖構造解析やコアタンパク質の同定を行うことができる²⁾(図)。

SMMEは未開拓部分が多く残されているムチンを新しい切り口で分離解析することができるツールである。SMMEによるムチン分析から新しい診断マーカーが誕生することを期待している。一方で、SMMEという新しい概念が多くの可能性を秘めているという事も、また別の機会で紹介したい。

- 1) Matsuno YK, *et al.* Anal Chem. 2009; 81:3816-3823.
- 2) Matsuno YK, *et al.* Electrophoresis. 2011; in press.

ムチンの分離と同定



質量分析による糖鎖構造解析

図 SMMEを用いる癌細胞由来ムチンの解析
各癌細胞から調製したムチン画分をSMMEで分離後、アルシアンブルー(左パネル)と抗MUC1抗体(右パネル)で染色した。スポットを切り出し、質量分析により糖鎖を解析することで、各細胞由来のMUC1が持つ糖鎖を明らかにした(下パネル)。

親和電気泳動の歴史は繰り返す

(北里大学 大石正道)

電気泳動法はDNAやタンパク質などの生体高分子をそれぞれの荷電状態に応じて直流電圧によって分離する方法であり、ゲル内で行えばゲル電気泳動、キャピラリー内で行えばキャピラリー電気泳動になる。さらに、真空中で行えば質量分析計になるという人もいるが、これは極端だという人がいるかも知れない。一方、生体高分子の解析には、物質間の相互作用、すなわち親和性を利用するものがある。抗原抗体反応を利用するELISA法やWestern Blotting法はその典型例である。中村ら¹⁾は、1960年、電気泳動法と物質同士の親和性を組み合わせた「交差電気泳動法」を開発し、これを用いて酵素と基質、酵素と阻害剤、抗原と抗体などの解析を行ってきた。竹尾²⁾はポリアクリルアミドゲル(PAG)を支持体としたDisc電気泳動法を利用し、ホスフォリラーゼとその基質であるグリコーゲンの親和性を定量化した「親和電気泳動法」を開発した。親和電気泳動のアイディアは現在にも引き継がれ、最近ではタンパク質翻訳後修飾の解析に利用されるようになった。木下ら³⁾はリン酸基に親和性のあるPhos-tagを開発し、これをPAGに共重合させることで、リン酸化タンパク質を分離することに成功した。今後、タンパク質の各種修飾構造に特異的親和性を持つ化合物が開発されれば、新たな親和電気泳動の誕生が期待される。

- 1) Nakamura S, *et al.* Hoppe-Seyler's Z physiol Chem. 1960; 318: 115-128.
- 2) Takeo K, Nakamura S. Arch Biochem Biophys. 1972; 153: 1-7.
- 3) Kinoshita E, *et al.* Dalton Trans. 2004; 1189-1193.

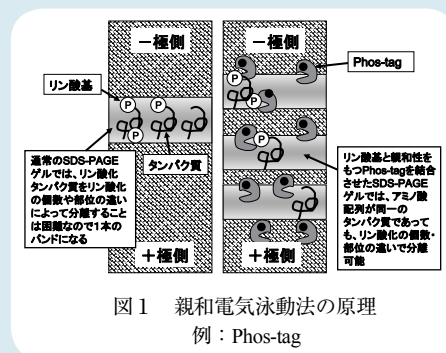


図1 親和電気泳動法の原理
例: Phos-tag

糖尿病治療への電気泳動法の寄与—HbA1cの測定を例として

(慶應義塾大学 飯島史朗)

HbA1c(ヘモグロビンA1c)は、糖尿病治療において重要な検査の一つとして、頻繁に臨床で用いられている。また、2010年7月に改訂された糖尿病診断基準においてHbA1c値が診断基準に加わったことから、HbA1cの測定がますます重要となってきた。

HbA1cの測定手法としては、HPLC法、電気泳動法があるが、操作が煩雑だったり、高価であることから病院検査室での実施が困難と言われ、免疫学的測定法や酵素法が開発されてきた。測定法の標準化については、これまでに、日本糖尿病学会(JDS)および日本臨床化学会(JSCC)が協同して進められ、JSCC/JDS基準測定法が確立された。わが国におけるHbA1cの一次基準測定操作法はイオン交換モードを用いたHPLC法であり、血中ヘモグロビンを細分画し、ヘモグロビンβ鎖のN末端にグルコース1分子が結合したヘモグロビン(St-HbA1c)と、不安定型HbA1c、カルバミル化Hb、アセトアルデヒド結合Hb、グルタチオン結合Hb、HbFを良好に分離検出可能である。

ところで、米国National Glycohemoglobin Standardization Program(NGSP)、国際臨床化学連合(IFCC)におけるHbA1cの定義は、JDS/JSCCと異なり、それ故にJDS値はNGSP値より約0.4%低い値となる。現在の血糖値コントロールの目標値であるJDS値6.1%はNGSP値に換算すると6.5%となり、欧米の指標と一致する。このようにHbA1cの測定結果に差が生じてきた原因には、ヘモグロビン分子の糖化部位がさまざまであり、国際的に統一されたHbA1cの定義が存在しなかったこと、構造が類似した夾雑物質が存在することが挙げられる。また、現在の測定法では、HbA1c値を従来の値に合わせるため、換算式によって測定値を補正している点も問題として考えられる。キャピラリー電気泳動法(CE)やキャピラリー等電点電気泳動法は、わずかな荷電、pIの違いにより、多様な結合部位をもつ糖化ヘモグロビンを分離することが可能であり、CEを応用することで、正確に定義されたHbA1c分子そのものを分離、定量することができる。IFCCによるHbA1c測定法では、糖化ヘキサペプチドをLC/MSまたはCEで定量しており、現在も新たな測定法の開発が報告されている¹⁾。今後、DNAシーケンサーのような、簡便で高速処理が可能なキャピラリー電気泳動法が開発されれば、電気泳動法が国際基準となる可能性がある。それにより、測定法や標準物質、国による検査値の違いという混乱が収束し、糖尿病の薬物治療を受ける患者にとって、信頼できる検査値の提供につながることを期待したい。

- 1) Koval D, Kašička V, Cottet H. Analysis of glycosylated hemoglobin A1c by capillary electrophoresis and capillary isoelectric focusing. Anal Biochem. 2011; 413:8-15.

