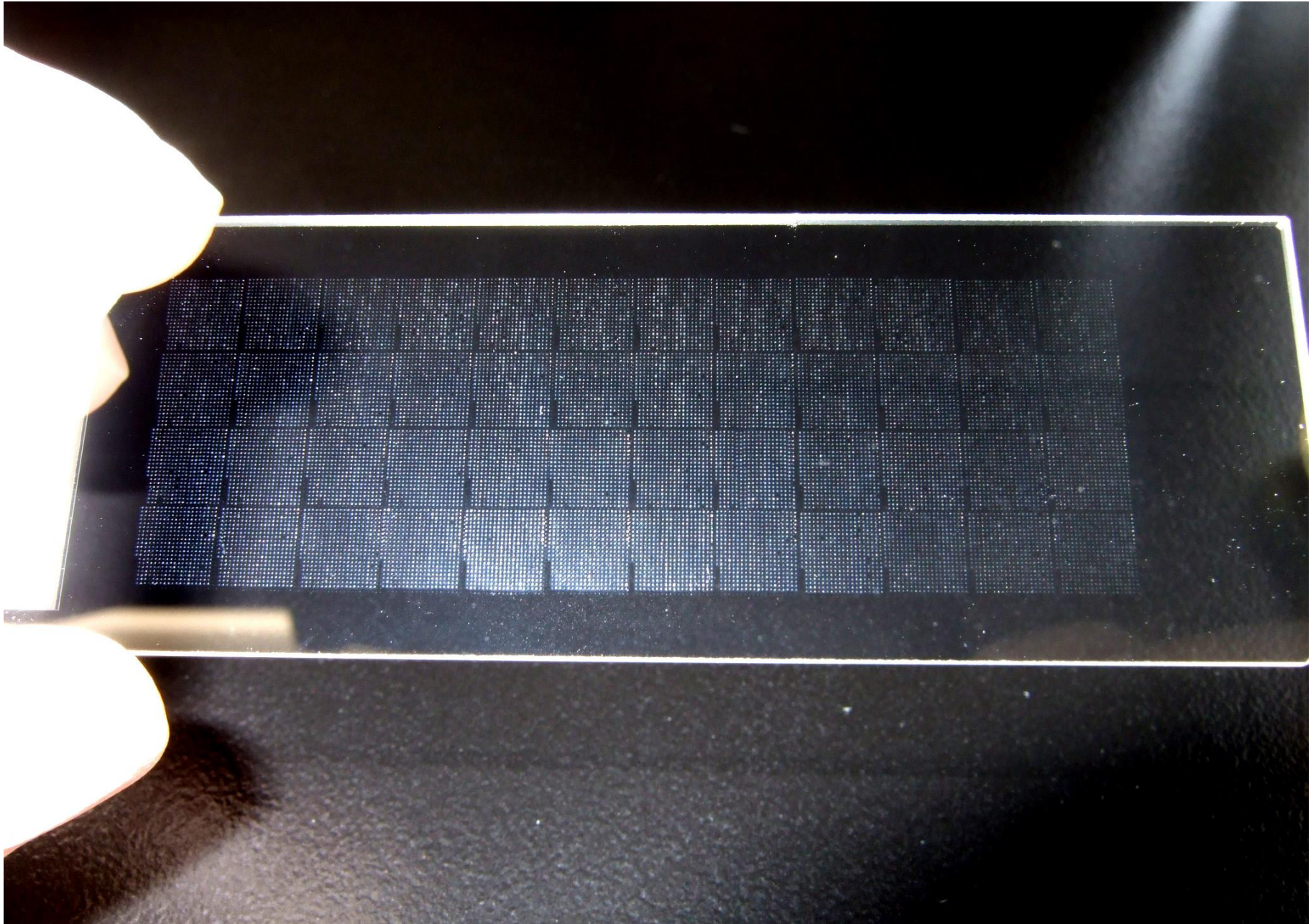


- **タンパク質マイクロアレイの紹介**
- **タンパク質マイクロアレイを用いた抗体の評価**
- **タンパク質マイクロアレイを用いた血中抗体のプロファイリング**
- **天然ヒト抗体の検査薬・医薬品への展開**

タンパク質マイクロアレイの実写



当事業のタンパク質マイクロアレイ

✓ ガラス基板を使用

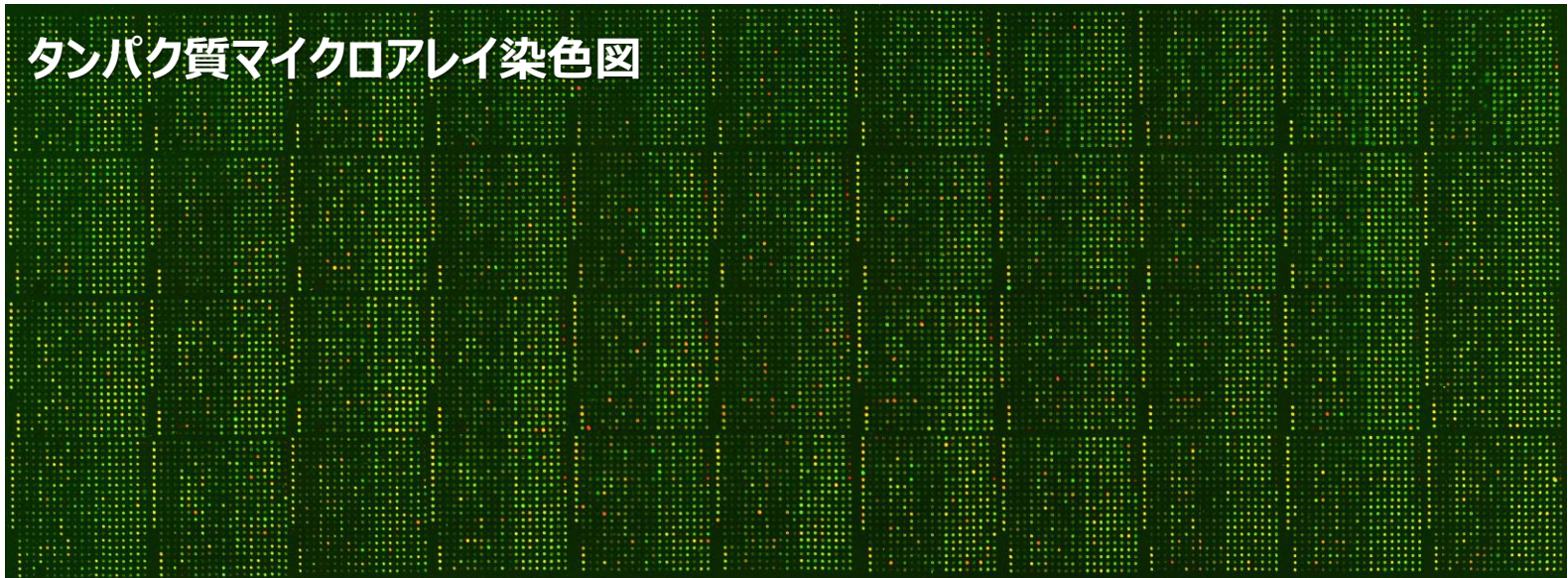
1枚のスライドガラス上に30,000種類を超えるタンパク質を搭載可能

✓ 2色法を採用

同一アレイ上のサンプル間比較はもとより、異なるアレイ間の比較解析も可能

✓ Nature Methods (5: 1011-1017, 2008)の方法を基に開発した技術

タンパク質マイクロアレイ染色図

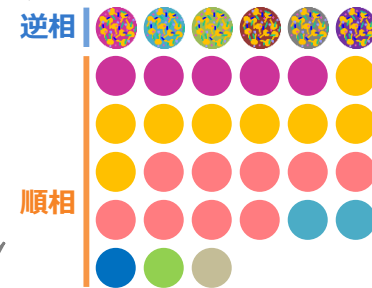


タンパク質マイクロアレイの原理

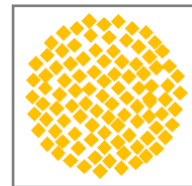
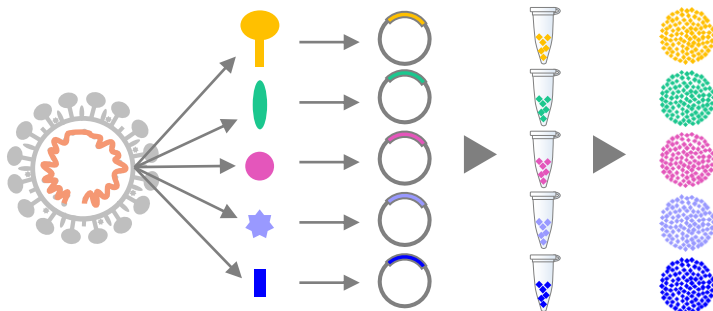
逆相サンプル



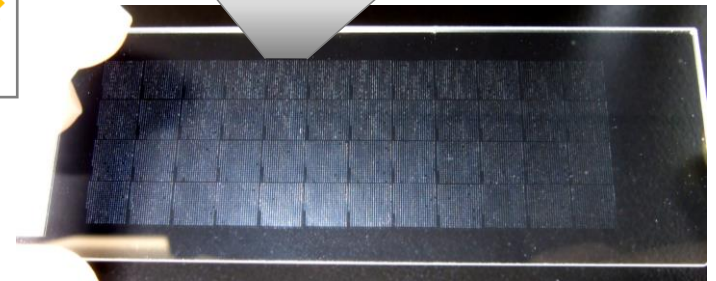
- ヒト組織、ヒト細胞、微生物やアレルゲンの不活化したサンプルを丸ごとスライドガラスにスポット
- 1つのスポットにはそのサンプルに含まれるすべてのタンパク質（抗原）を搭載



順相サンプル



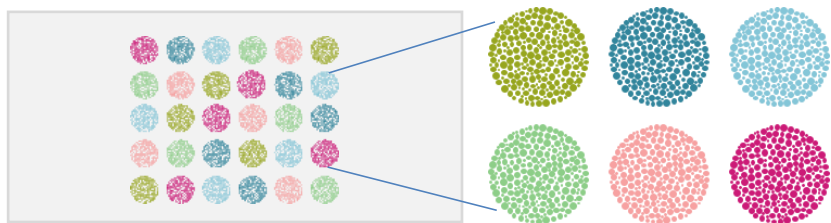
- 精製タンパク質をスライドガラスにスポット
- 1つのスポットには1種類のタンパク質（抗原）を搭載



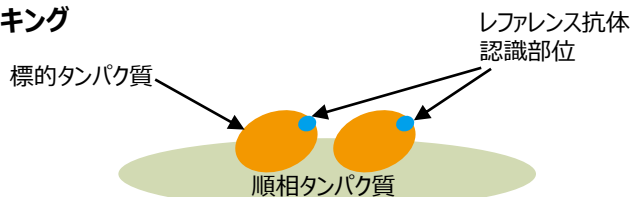
タンパク質マイクロアレイシステムの染色手順

順相

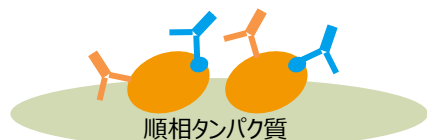
各スポットは**1種類**のタンパク質で構成



1 ブロッキング



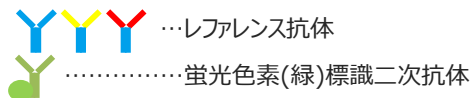
2 サンプル(抗体・検体) とレファレンス抗体を加え、インキュベート



3 2種類の蛍光色素標識二次抗体を加えインキュベート

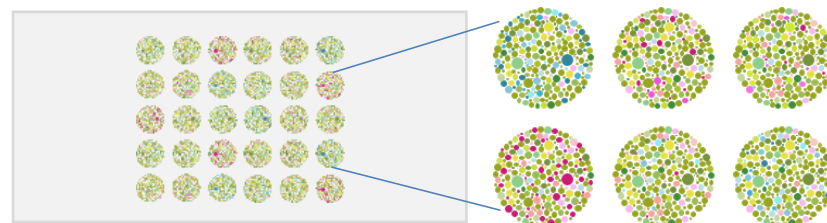


レファレンス検出系:

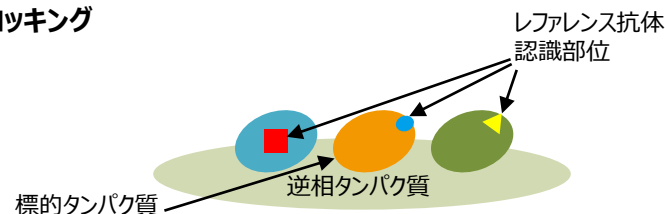


逆相

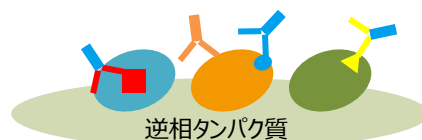
各スポットは**タンパク質混合物**から構成



1 ブロッキング



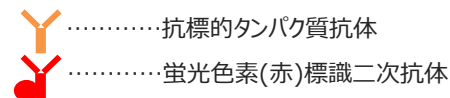
2 サンプル(抗体・検体) とレファレンス抗体を加え、インキュベート



3 2種類の蛍光色素標識二次抗体を加えインキュベート



サンプル検出系:

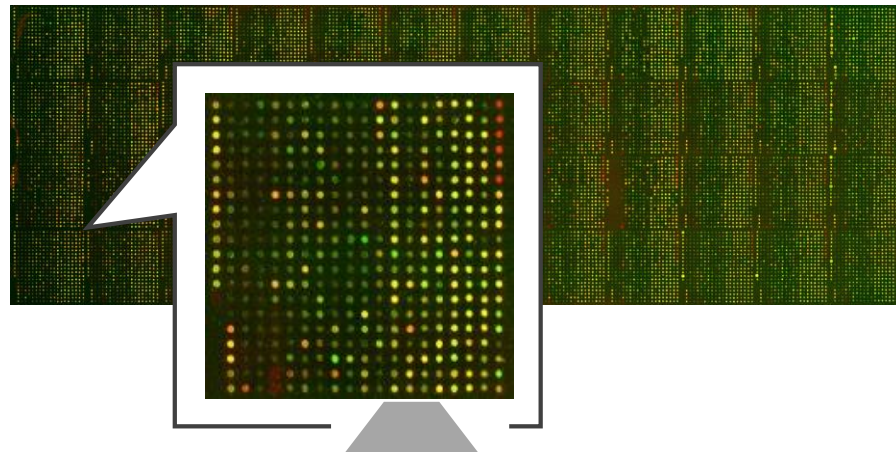


タンパク質マイクロアレイシステムの課題

スポット時の液量: **数 nL/spot**

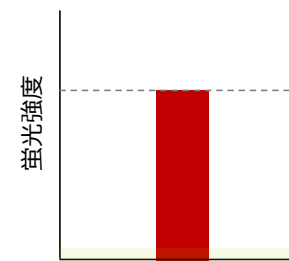
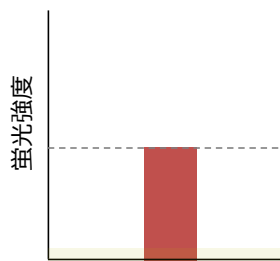
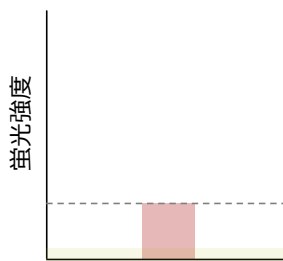


タンパク質を**厳密にコントロール**する事が困難である



タンパク質量と蛍光強度

標的タンパク質



スポット間にはタンパク質量の**ばらつき**が存在する

タンパク質量のばらつきは**蛍光強度の差**となって表れる

タンパク質マイクロアレイシステムの2色法の原理

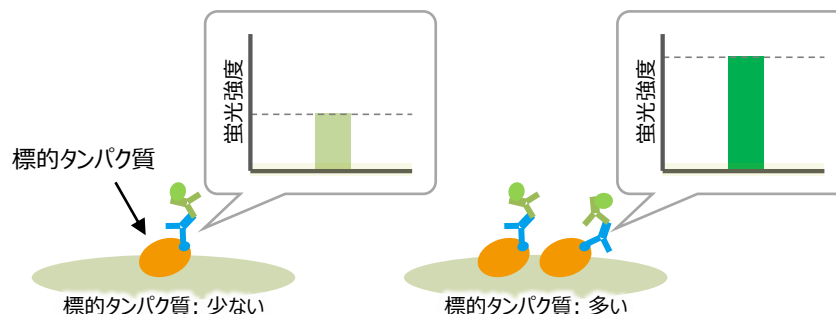
タンパク質マイクロアレイはスポットの液量が **数 nL/spot** と微量なため、タンパク質量のコントロールが困難である。

レファレンス抗体との共染色(2色法)

レファレンス抗体:

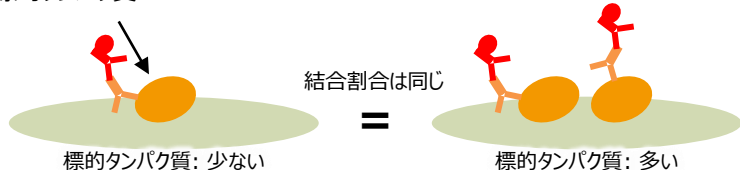
- 複数の抗体の混合液であり、幅広いタンパク質に結合
- スポットごとのタンパク質量を反映

▶ レファレンス抗体と共染色することでタンパク質量のばらつきを補正



単染色

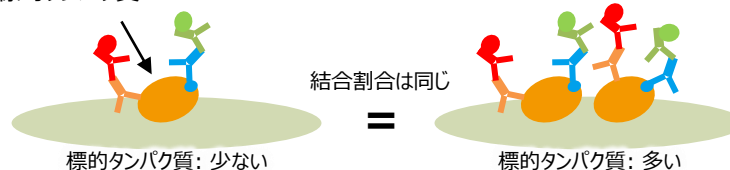
標的タンパク質



▶ タンパク質量のばらつきが結果に影響

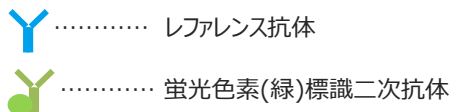
2色法

標的タンパク質

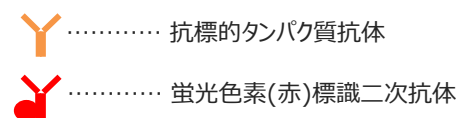


▶ タンパク質量のばらつきをレファレンス抗体が吸収

レファレンス検出系:



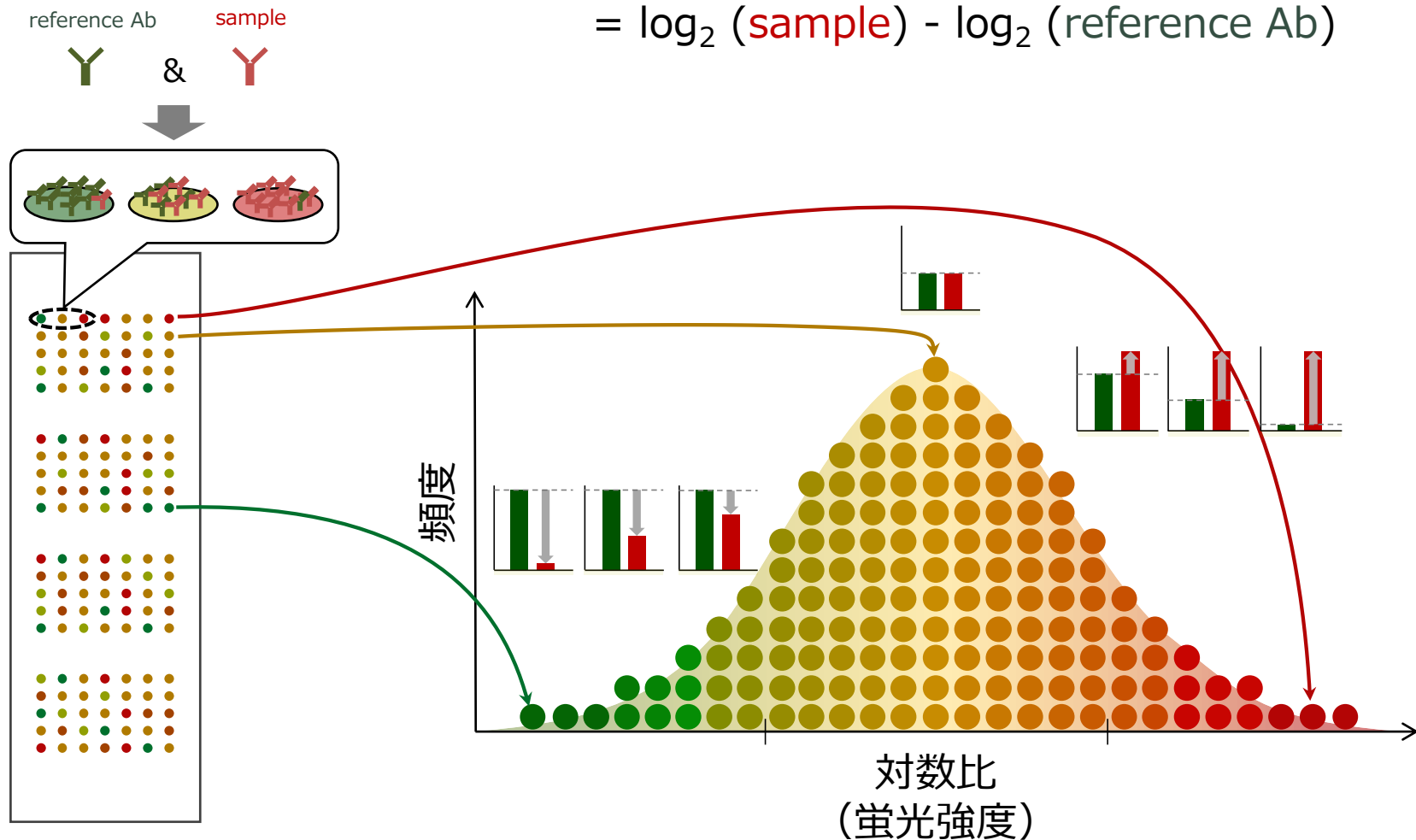
サンプル検出系:



タンパク質マイクロアレイにおける解析手法

$$\log \text{ ratio} = \log_2 \left(\frac{\text{sample}}{\text{reference Ab}} \right)$$

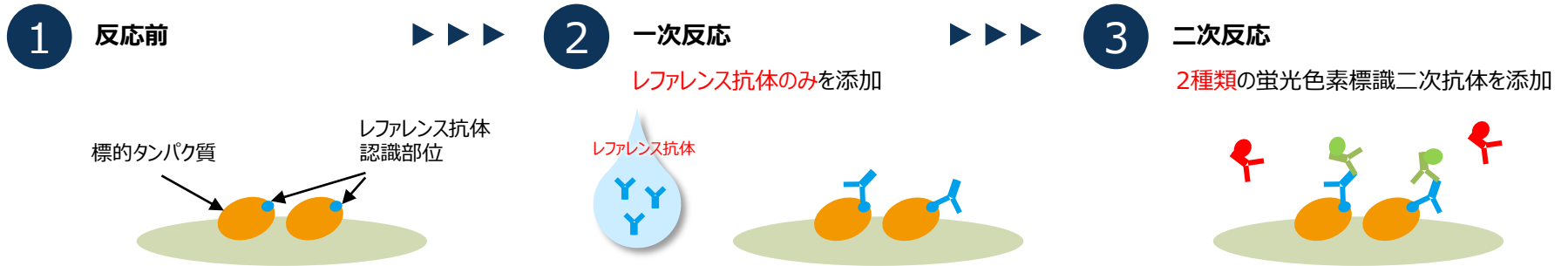
$$= \log_2 (\text{sample}) - \log_2 (\text{reference Ab})$$



Negative controlとサンプル解析

Negative Control (NC)

一次反応に**レファレンス抗体のみ**を加えインキュベート ※ 二次反応にはサンプル検出用の二次抗体も添加



サンプル

一次反応に**レファレンス抗体とサンプル(抗体・検体)**を混合しインキュベート



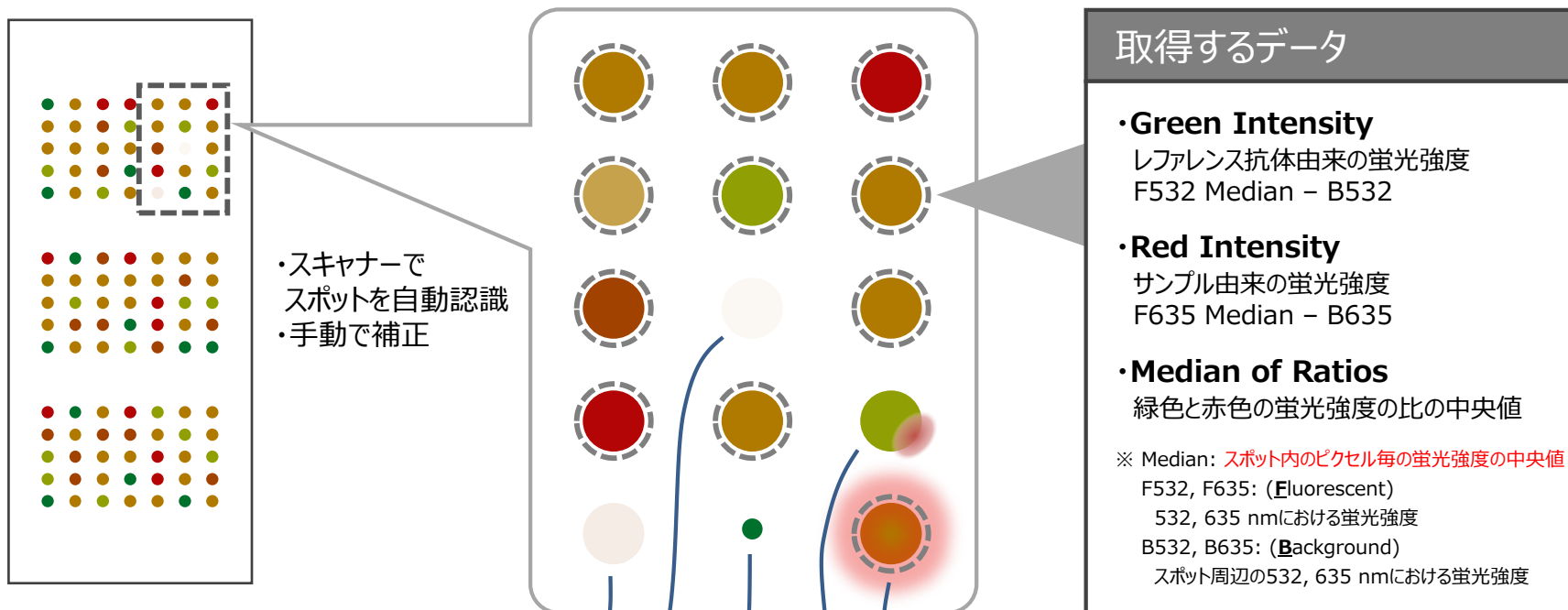
レファレンス検出系:

- レファレンス抗体
- 蛍光色素(緑)標識二次抗体

サンプル検出系:

- 抗標的タンパク質抗体
- 蛍光色素(赤)標識二次抗体

スポット検出と蛍光強度について



データを取得できないスポット

- シグナルが非常に弱く鮮明でないスポット
- スポットング不良
- ゴミが付着したスポット

- バックグラウンドの蛍光が強く、Median of Ratiosが異常値となったスポット
(F532 Median - B532, F635 Median - B635の異常値)

データを取得できなかったスポットは欠損値(0)として処理

Median of Ratiosについて

スポット_1

・大きいスポット

測定データ



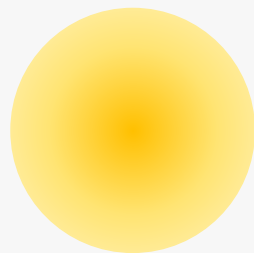
ピクセル毎の
蛍光値を算出



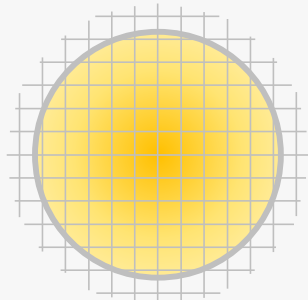
ピクセル毎の
蛍光値の比率
を算出



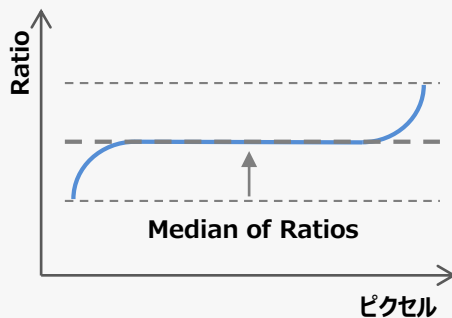
Median of
Ratiosを用い
て解析



【ピクセル毎に測定】



【蛍光値の比率の分布】

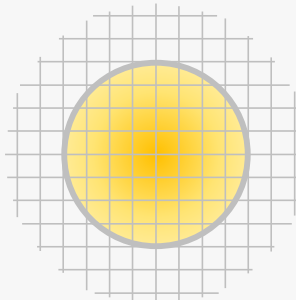


スポット_2

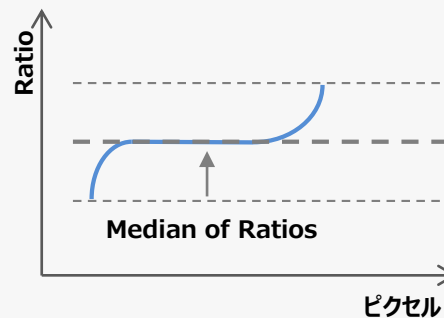
・小さいスポット



【ピクセル毎に測定】

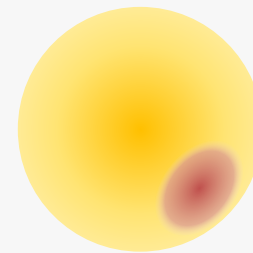


【蛍光値の比率の分布】

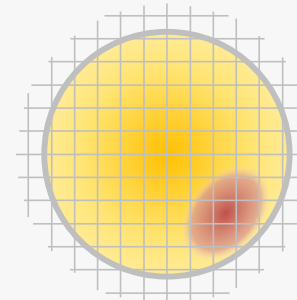


スポット_3

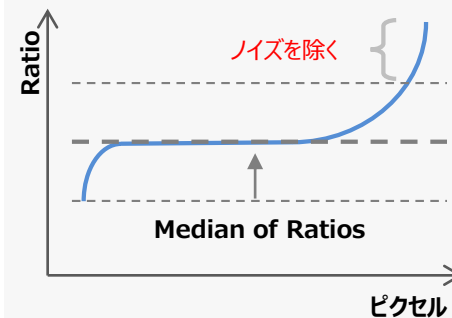
・ノイズが重なっているスポット



【ピクセル毎に測定】



【蛍光値の比率の分布】



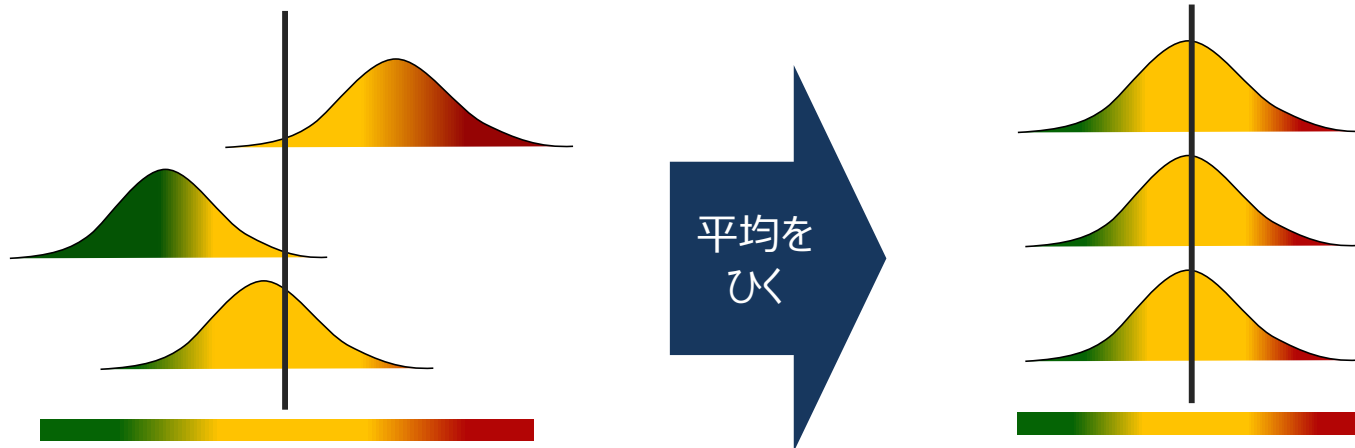
正規化について

- ・振れ幅の大きい上下各16%を除いた中央68%の値から平均値を算出
- ・各タンパク質の値と前述の平均値の差を算出

▶ 全体の形を整えた上でサンプル間比較

$$X' = X - \mu$$

X : 変数
 μ : 平均値



※ 標準偏差で補正するZ-score($Z = \frac{X - \mu}{\sigma}$)では検体間のばらつきが大きくなる傾向があります。
このため、当事業では平均値を使用したGlobal normalization($X' = X - \mu$)を採用しています。

Global normalizationとZ-Score

【正規化】

Global normalization

各スポットの値と平均値の差

$$X' = X - \mu$$

X : 変数
 μ : 平均値

Z-score

各スポットの値と平均値の差を標準偏差で割る

$$Z = \frac{X - \mu}{\sigma}$$

X : 変数
 μ : 平均値
 σ : 標準偏差

▶ 正規化には様々な方法があり、目的にあった方法を選択する必要がある。

当事業の正規化方法

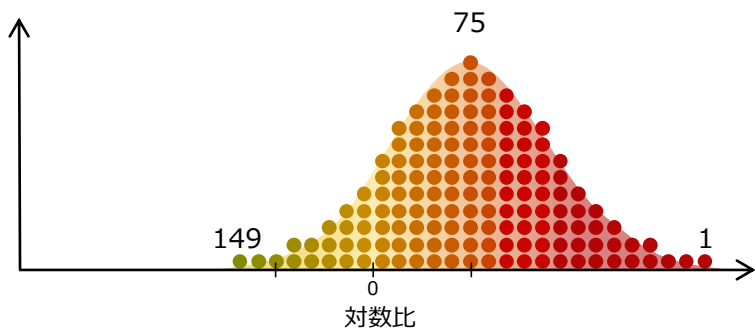
当事業では下記の理由からGlobal normalizationを採用しています。

- 抗体の反応がなくとも各スポットの値にはマイクロアレイ間(検体間)でばらつきがある。
- 標準偏差で補正(Z-score)をかけた場合、上記のばらつきが大きくなる傾向にある。
⇒ 結果的にマイクロアレイ間(検体間)のばらつきも大きくなる。
- Z-scoreを使用することで陽性判定のための閾値が検体によってばらつく。
⇒ 検体間の比較解析が難しくなる。

正規化と比較解析

正規化により分布の位置が変わっても各サンプルの並び順は同じ

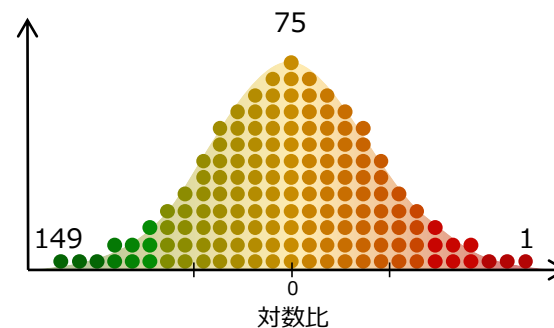
【Raw data】



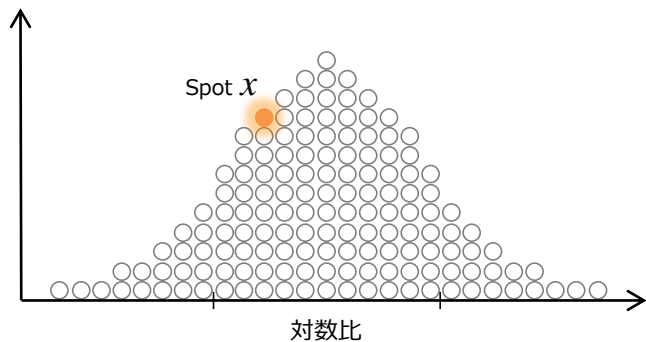
$$X' = X - \mu$$



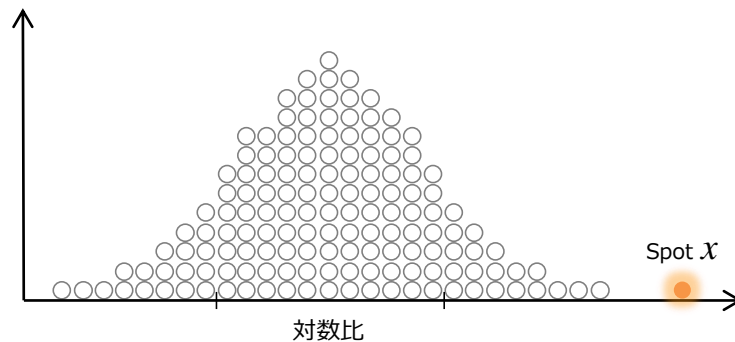
【Normalized data】



【Negative Control】



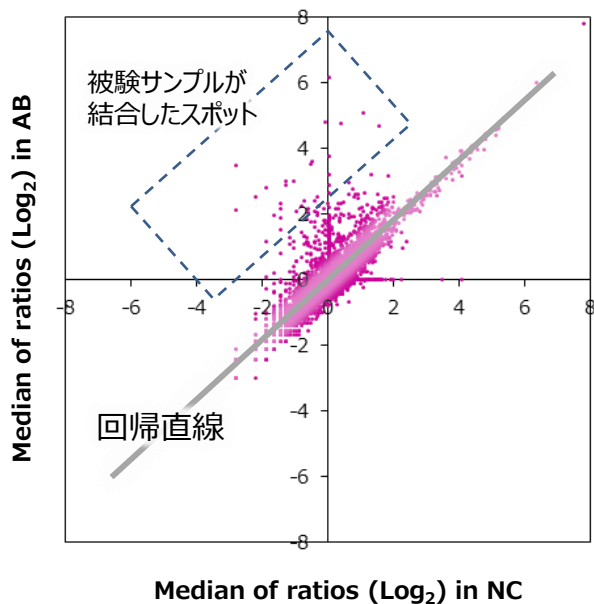
【Sample A】



ネガティブコントロールと比較して並び順が大きく変化したスポットを検出

正規化データと二次比データについて

正規化データの散布図

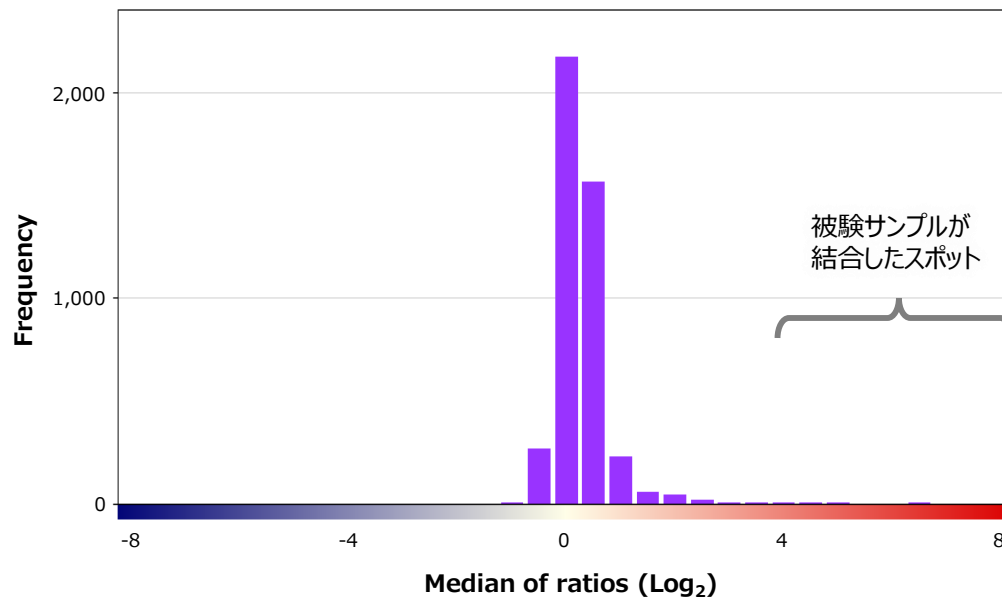


NC: ネガティブコントロール (レファレンス抗体のみで染色)
AB: 被験サンプル

大部分のスポットが回帰直線近傍に分布

▶ Y軸の+側に移行したスポットが被験サンプルが結合しているスポット

二次比データのヒストグラム



二次比データ:
Median of ratios (Log_2) in AB - Median of ratios (Log_2) in NC

大部分のスポットが0付近に分布

▶ +側に大きく移動したスポットが被験サンプルが結合しているスポット

データ解析のまとめ

スポットの検出

正規化

2次比

解析

- ・スキャナーでスポットを自動認識
- ・手動で補正
- ・Median of Ratiosをスポットの値として解析
(底2の対数に変換し、以降の解析に使用)

解析対象

- ・スキャナーで認識されたスポット
(対数値で0となったスポットは欠損値と分けて解析)

欠損値

- ・スキャナーで認識されなかったスポット
 - ・バックグラウンドの蛍光が強く、Median of Ratiosが異常値となったスポット
- ▶ 欠損値(0)として取扱い

解析

- ・振幅の大きい上下各16%を除いた中央68%の値から平均値を算出
- ・各タンパク質の値と前述の平均値の差を算出

$$X' = X - \mu \quad \begin{array}{l} X: \text{変数} \\ \mu: \text{平均値} \end{array}$$

解析対象

(スポットの検出と同一)

欠損値

(スポットの検出から増減なし)

解析

- ・各スポットについてサンプルの測定値(AB)とネガティブコントロール(NC)の測定値の差を算出
(対数値なので割り算)

$$\begin{array}{l} \text{Median of ratios (Log}_2\text{) in AB} \\ - \text{Median of ratios (Log}_2\text{) in NC} \end{array}$$

解析対象

- ・サンプル、ネガティブコントロールともに検出できたスポット

欠損値

- ・サンプル、またはネガティブコントロールのいずれかが検出できなかったスポット

▶ 欠損値(0)として取扱い

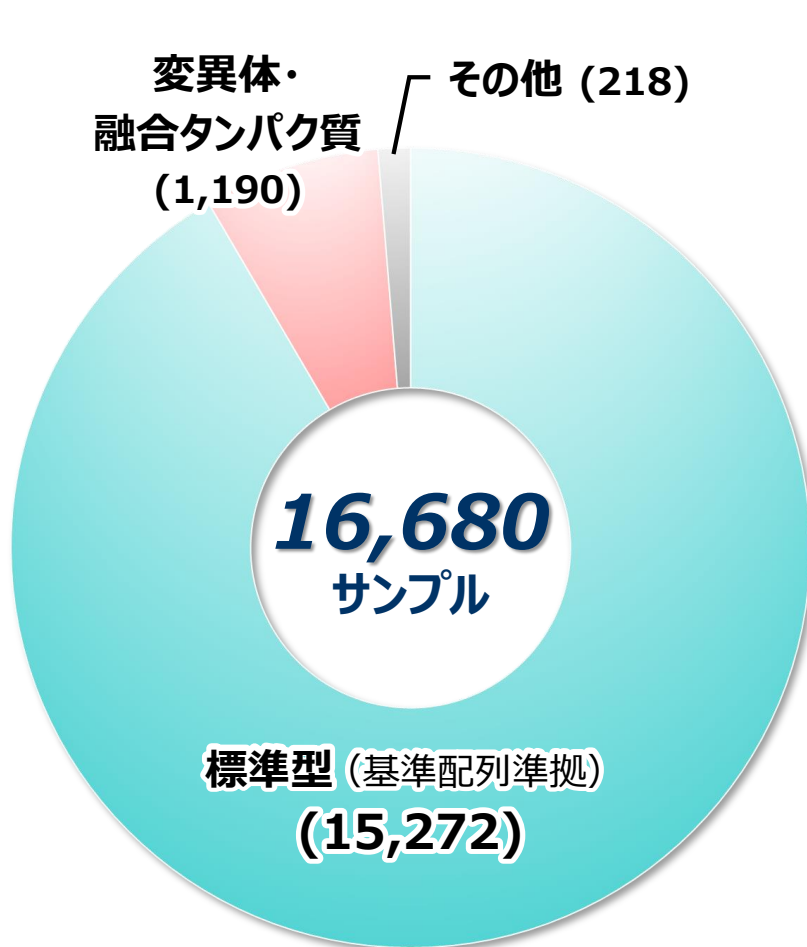
搭載サンプルの内訳

ヒトタンパク質

タンパク質マイクロアレイ搭載サンプル: ヒト抗原

順相タンパク質マイクロアレイ

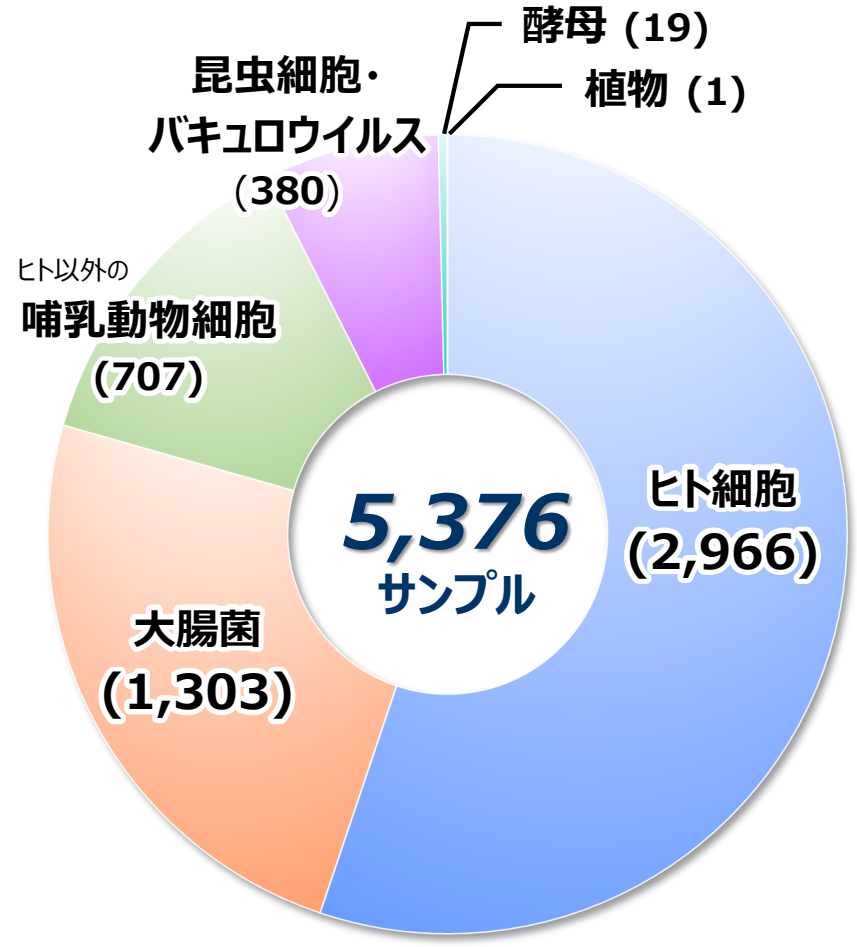
“コムギ胚芽無細胞合成系”由来
組換えタンパク質



※配列の種類で分類

順相タンパク質マイクロアレイ

“細胞合成系”由来
組換えタンパク質

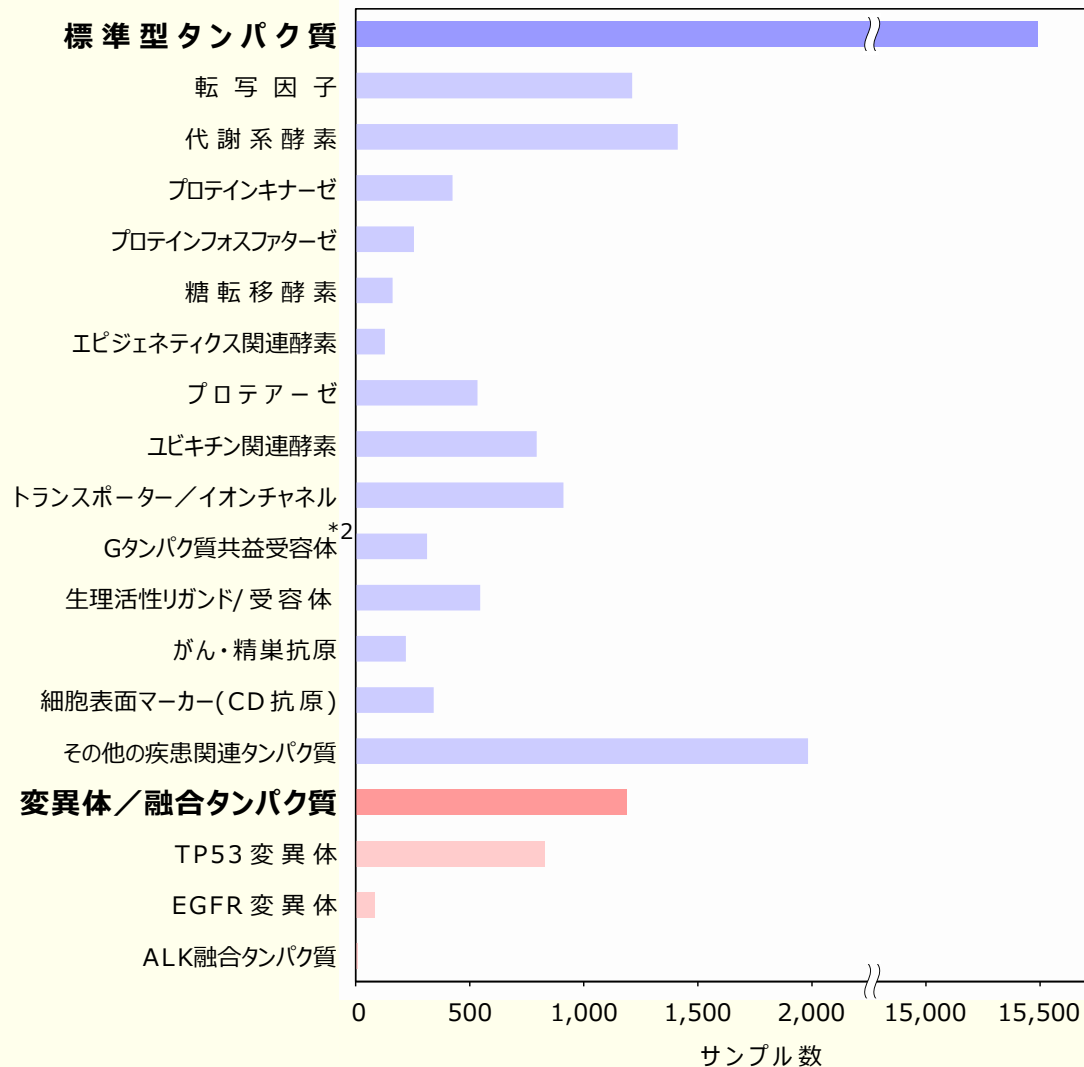


※発現系の種類で分類

ヒトタンパク質マイクロアレイ

搭載サンプルの概要

- 総サンプル数 **16,680** 種
- **15,406** 遺伝子に対応
- 公共データベースに登録されている基準配列 (NCBI RefSeq, UniProtKB/Swiss-Prot) に相当するタンパク質 **15,272** 種を含む
- がんを中心としたヒトの諸疾患に認められる変異体・融合タンパク質 **1,190** 種を含む
- タンパク質の機能分類に基づく主要なカテゴリーにおけるサンプル数は右図の通り^{*1}
- 右図の標準型タンパク質主要カテゴリーの多くについて **8割以上**の遺伝子を網羅
- 25 遺伝子に由来する変異体タンパク質と、12 パターンの ALK 融合遺伝子に由来するタンパク質を含む
- TP53, EGFR 変異体のバリエーションを多数取り揃え

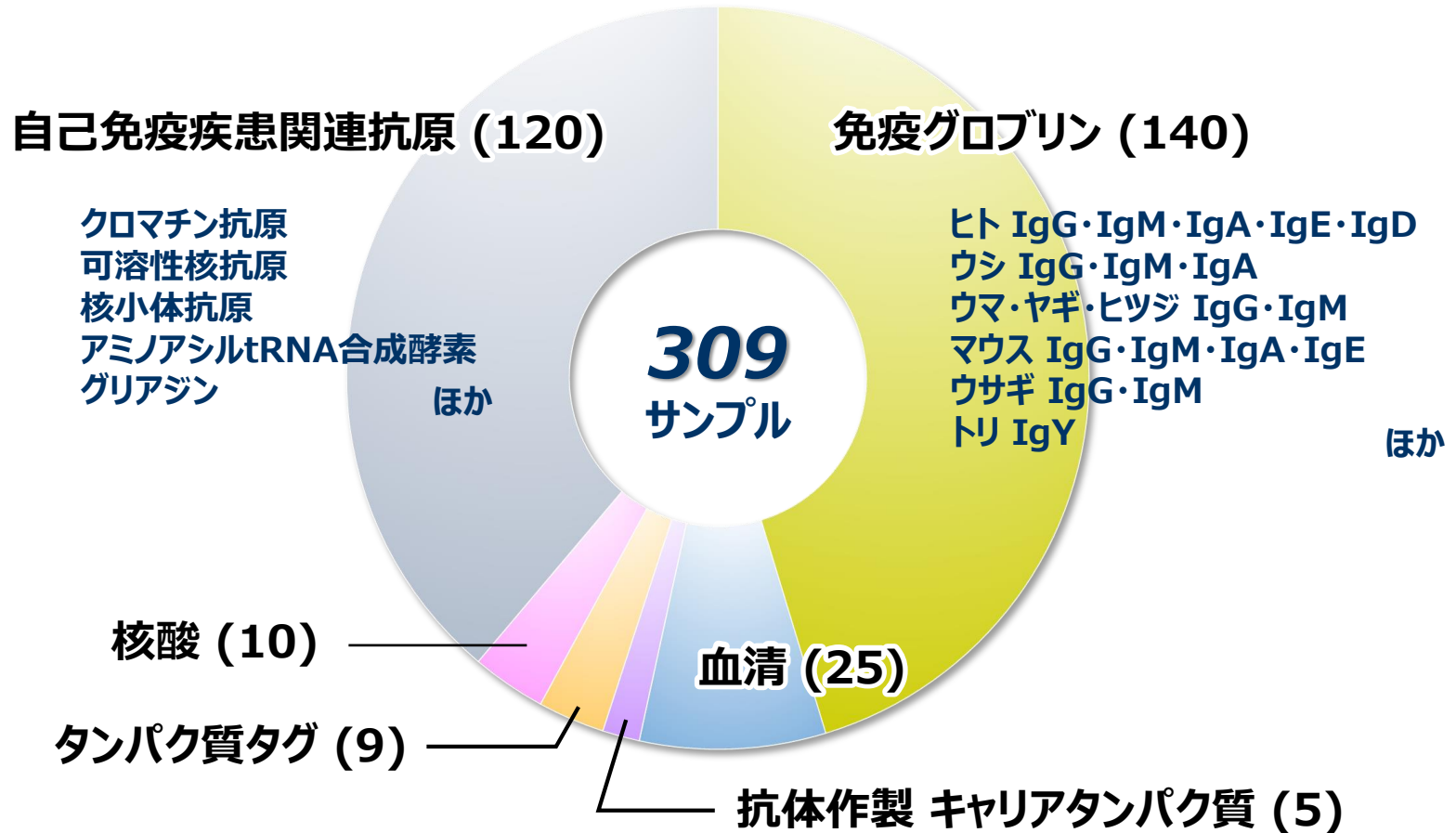


^{*1} 複数のカテゴリーに属するタンパク質の場合、サンプル数はそれぞれの所属カテゴリーにおいて個別にカウントしています。

^{*2} 感覚受容器受容体を除いたサンプル数です。

タンパク質マイクロアレイ搭載サンプル: コントロール

組換えタンパク質・試薬

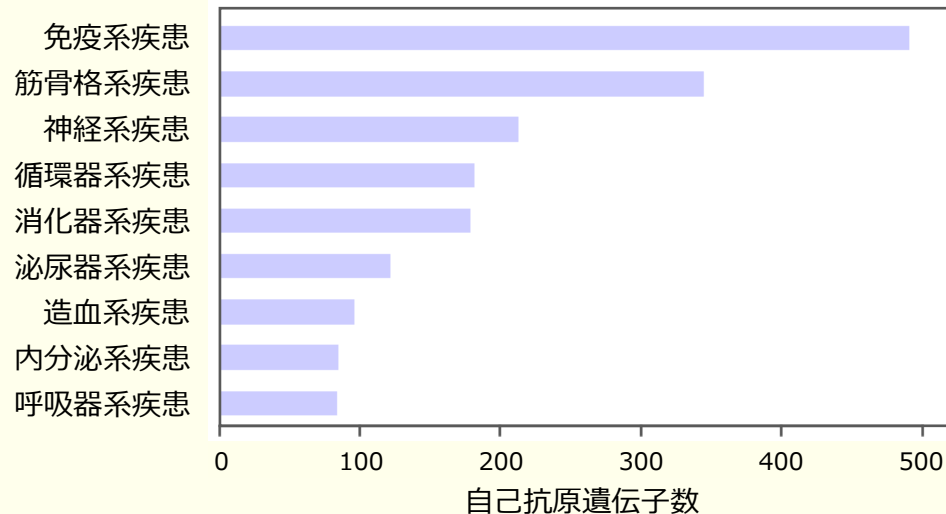


タンパク質マイクロアレイ搭載サンプル: 自己抗原

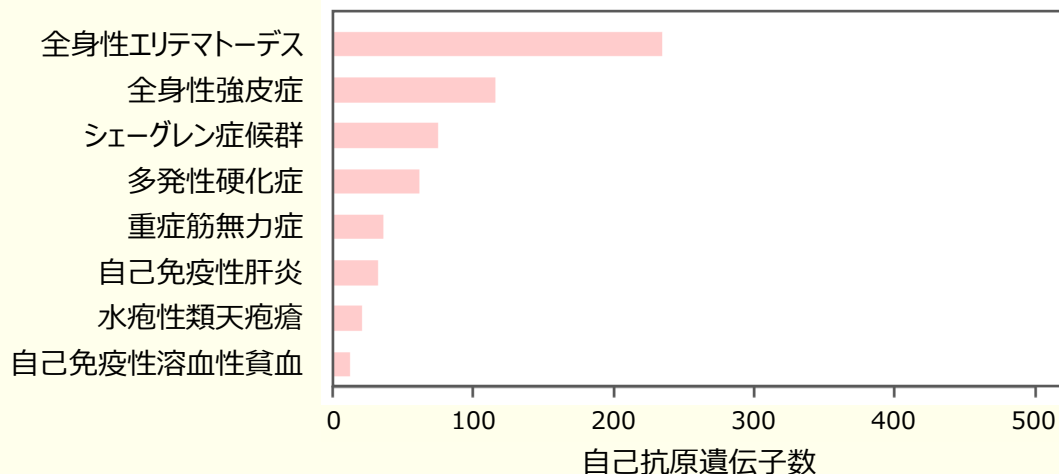
自己抗原関連サンプル

- AAgAtlas(ヒト自己抗原の公共データベース)に収載された**799**遺伝子に対応
- AAgAtlasに収載された自己抗原遺伝子全体の**約7割**をカバー
- 799遺伝子に由来するタンパク質を含む自己抗原関連サンプル**2740**種を搭載
- 指定難病に関わる自己抗原も多数搭載
- 様々な疾患に関わる自己抗原遺伝子の搭載数を右図に記載

【器官別搭載数】



【疾患別搭載数】



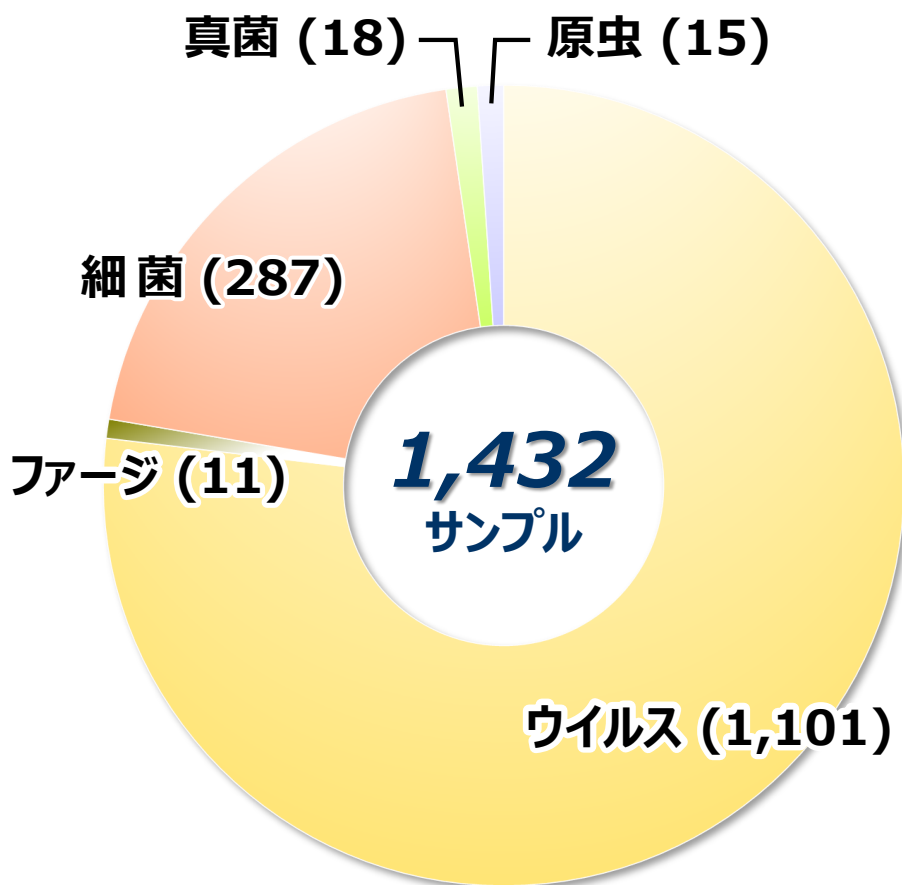
* 複数のカテゴリーに属する遺伝子は、各カテゴリーにおいて個別にカウントしています。

微生物/病原体

タンパク質マイクロアレイ搭載サンプル：微生物

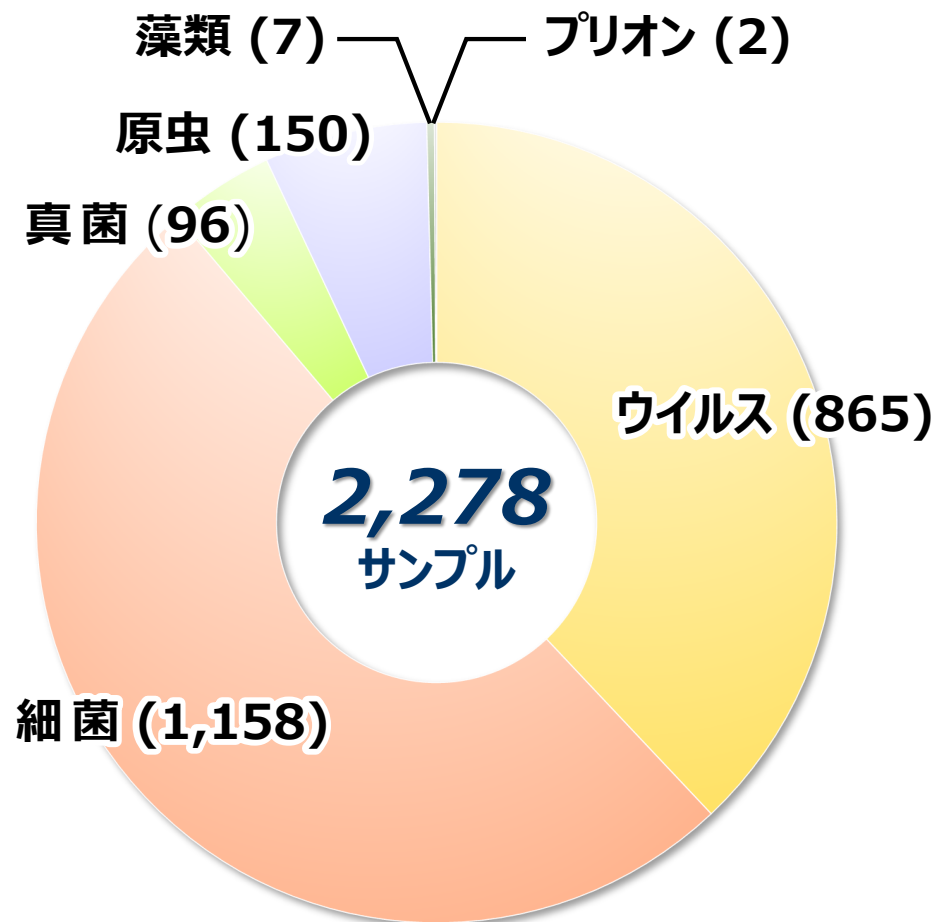
順相タンパク質マイクロアレイ

組換え微生物タンパク質



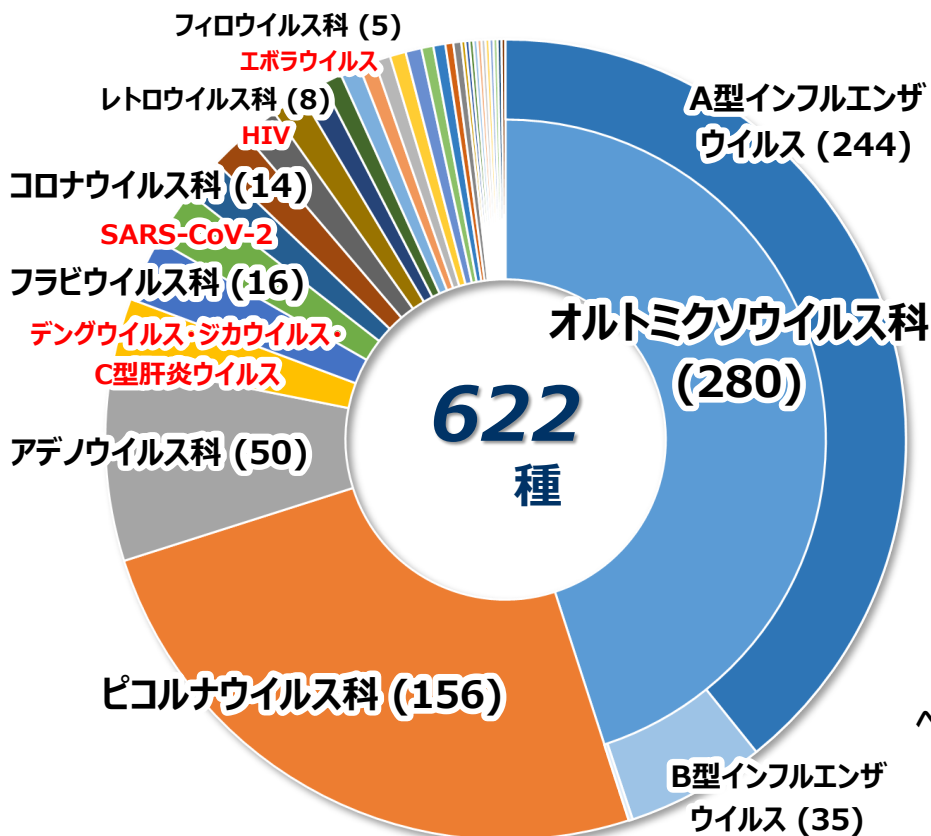
逆相タンパク質マイクロアレイ

微生物ライセート

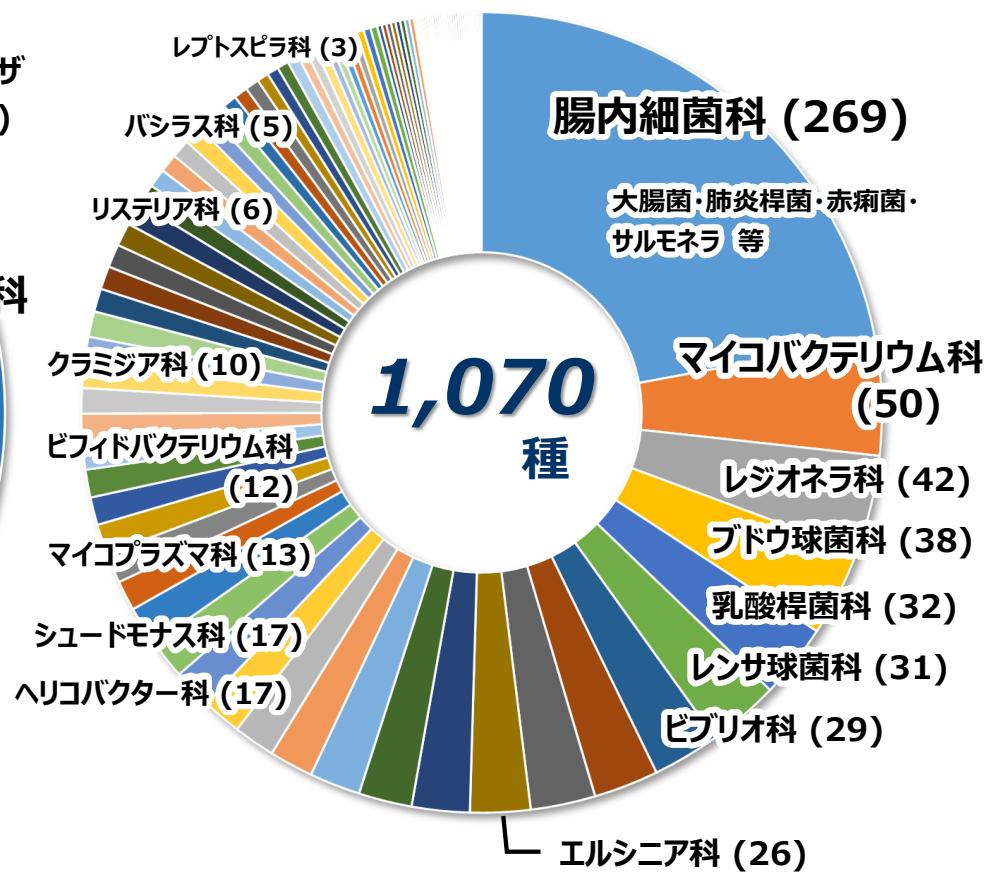


タンパク質マイクロアレイ搭載サンプル：微生物

ウイルス



細菌

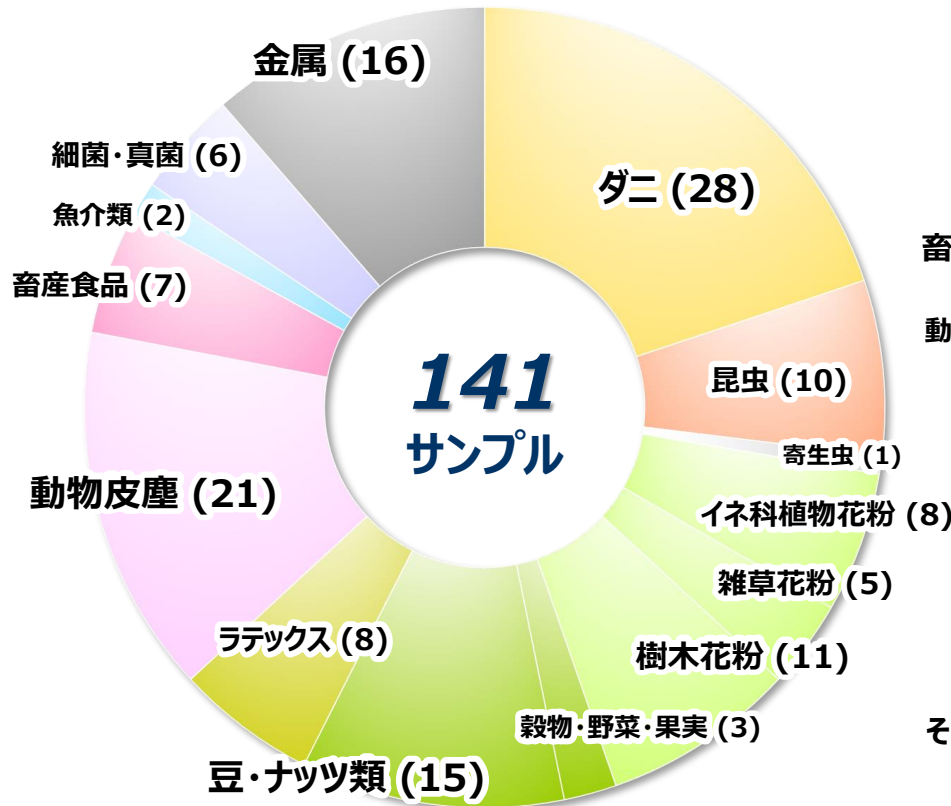


アレルギー

タンパク質マイクロアレイ搭載サンプル: アレルゲン

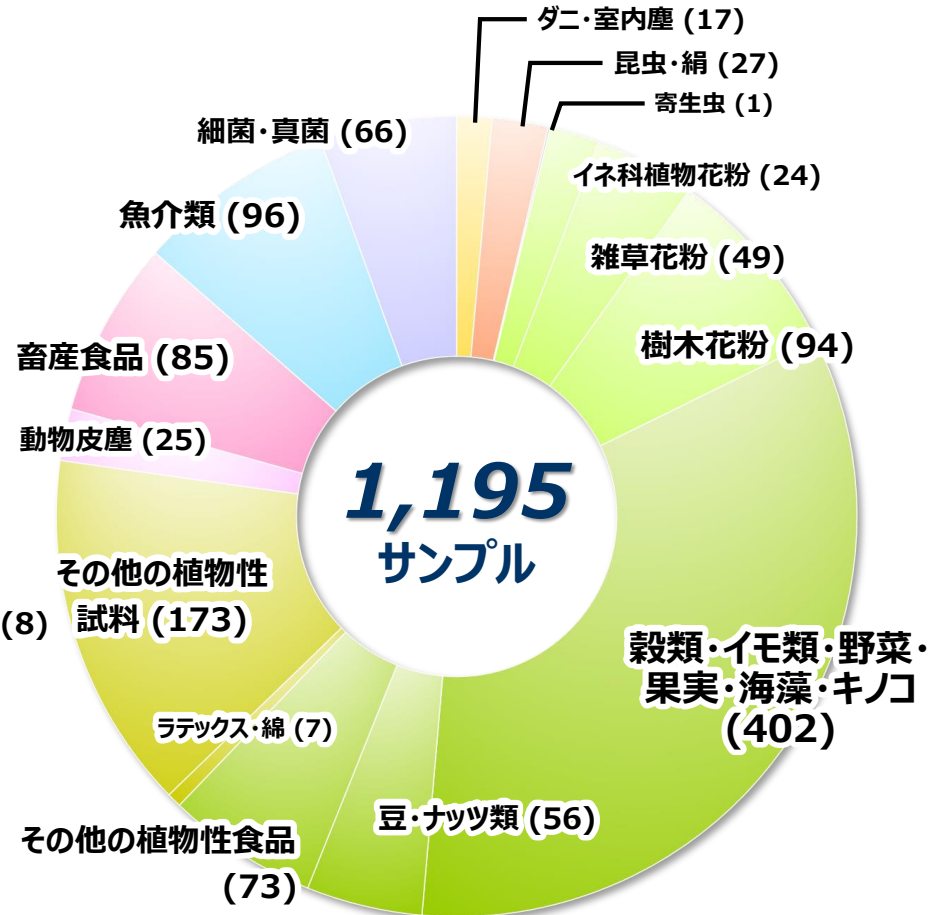
順相タンパク質マイクロアレイ

アレルゲンコンポーネント



逆相タンパク質マイクロアレイ

クルード抽出サンプル



タンパク質マイクロアレイの現状

【ヒト抗原】

タンパク質マイクロアレイの現状

福島事業 ヒトタンパク質マイクロアレイ

- スライドガラスを使用
- 16,000種類を超えるヒトタンパク質を搭載
- コムギ胚芽無細胞系、または各種細胞系で合成したタンパク質
- 二色法を採用

タンパク質の合成方法と検出方法が違う

A

- ・ スライドガラスを使用
- ・ 9,000種類を超えるヒトタンパク質を搭載
- ・ 昆虫細胞での発現タンパク質
- ・ 解析サンプルの単染色
- ・ 販売中止

B

- ・ スライドガラスを使用
- ・ 20,000種類を超えるヒトタンパク質を搭載
- ・ 酵母での発現タンパク質
- ・ 解析サンプルの単染色

C

- ・ スライドガラスを使用
- ・ 最大1,600種類程度のヒトタンパク質を搭載
- ・ 解析サンプルの単染色
- ・ 販売中止

タンパク質マイクロアレイを用いた抗体の評価

抗体評価の例（良い抗体）

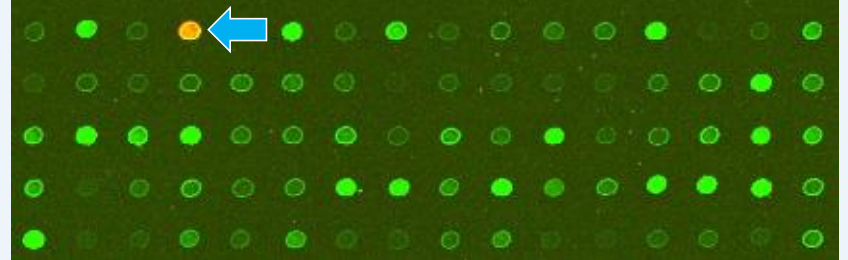
◎ 標的抗原にのみ特異的に結合

マイクロアレイの画像
(標的抗原とその周辺)

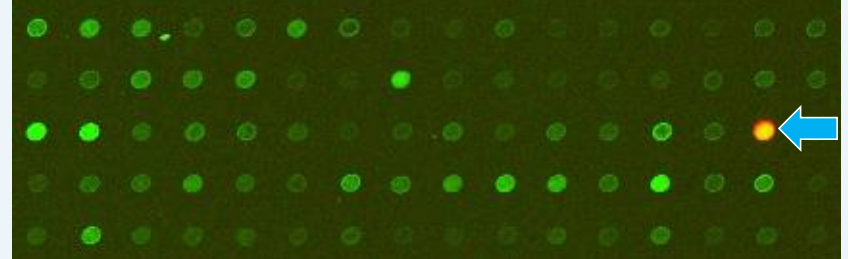
矢印 (←) = 標的抗原

- 標的抗原のみに特異的に結合
- タグ配列や他の動物種の免疫グロブリンに交差しない

抗体A



抗体B



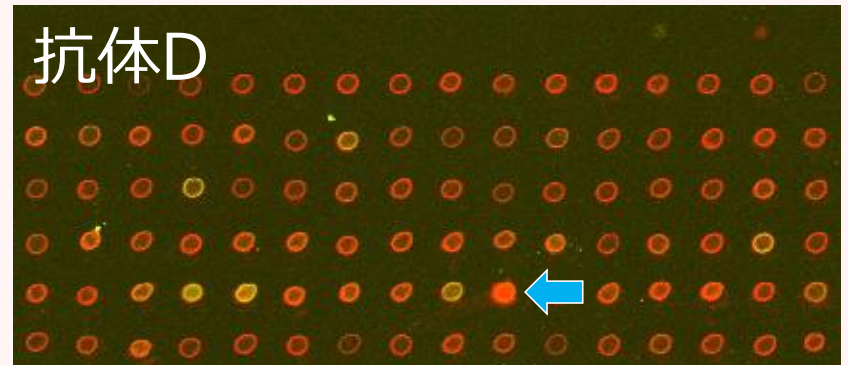
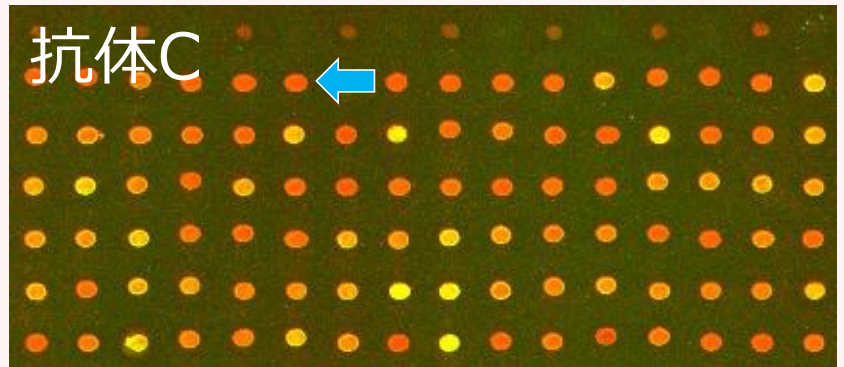
抗体評価の例 (悪い抗体-1)

✗ 標的以外の抗原に非特異的に強く交差

マイクロアレイの画像
(標的抗原とその周辺)

矢印 (←) = 標的抗原

標的以外の抗原に非特異的に結合
→ 抗原に含まれる核酸またはコムギの
タンパク質 (タンパク質合成反応液に
由来) に結合していると考える



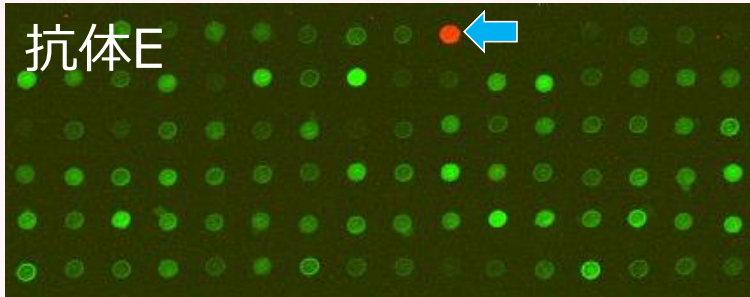
抗体評価の例 (悪い抗体-2)

✕ 標的以外の抗原に特異的に強く交差

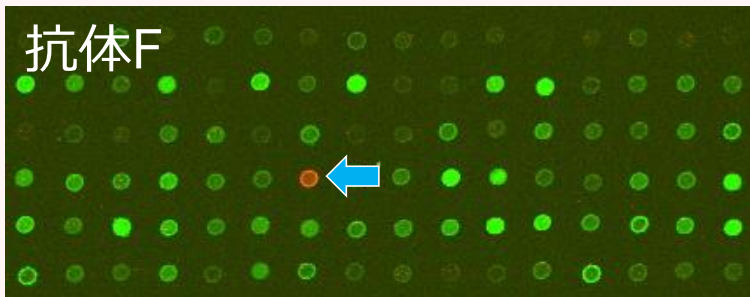
マイクロアレイの画像 (標的抗原とその周辺)

矢印 (←) = 標的抗原

抗体E

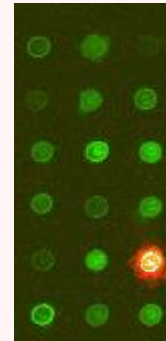


抗体F

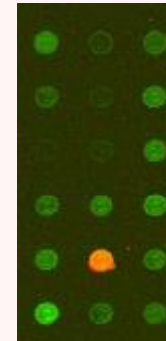


標的以外の抗原 (交差)

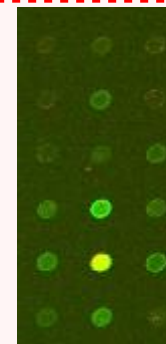
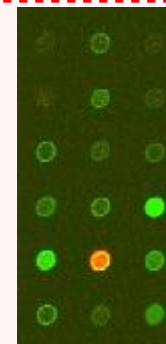
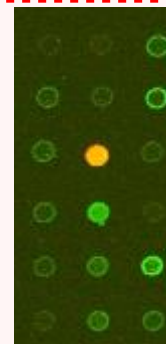
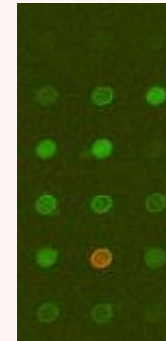
1



2



3

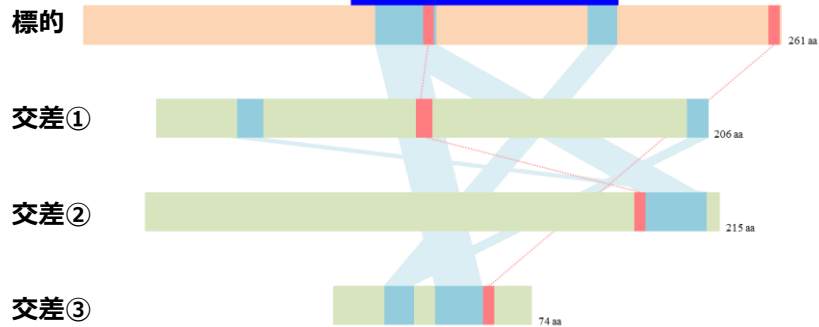


交差反応が検出された抗体の抗原

標的抗原と交差抗原の配列同一性比較

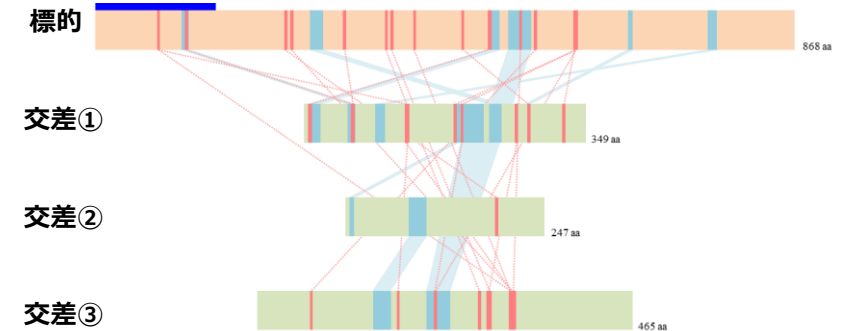
- 連続 4 アミノ酸以上の一致領域の有無を調査
- BLASTP プログラムによる相同性領域の有無を調査
- 標的抗原 ■ 交差抗原 ■ 免疫原領域

A社モノクローナル抗体 ①



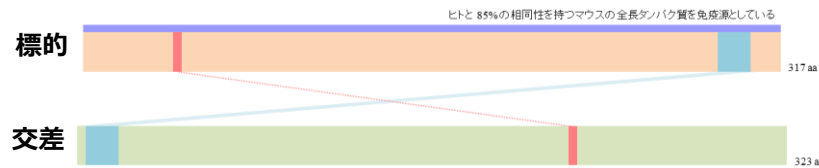
➡ 4 アミノ酸連続一致部分あり ➡ 最大 50% の類似領域あり

A社モノクローナル抗体 ②



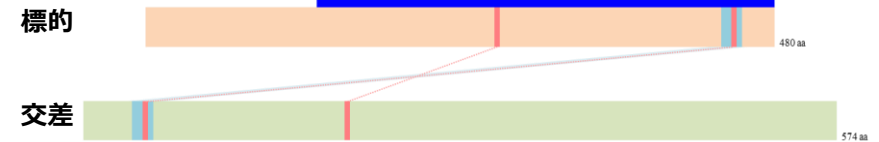
➡ 最大 5 アミノ酸連続一致部分あり ➡ 最大 66% の類似領域あり

B社モノクローナル抗体



➡ 4 アミノ酸連続一致部分あり ➡ 40% の類似領域あり

C社ポリクローナル抗体



➡ 4 アミノ酸連続一致部分あり ➡ 57% の類似領域あり

一次構造上の類似性のみからは交差反応の予測は困難

抗体評価の例（判定不能）

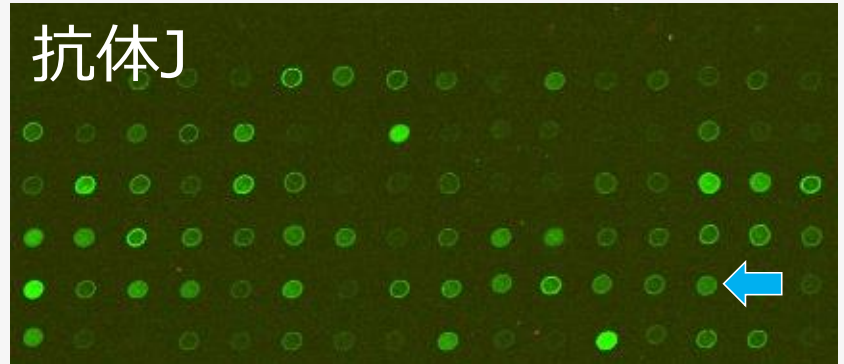
— 標的の抗原をまったく認識しない

マイクロアレイの画像 (標的抗原とその周辺)

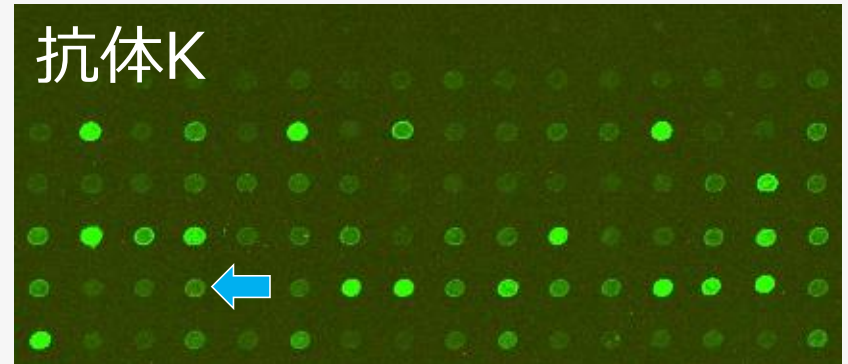
矢印 (←) = 標的抗原

- 標的抗原をまったく認識しない
 - コムギ胚芽無細胞系でタンパク質を合成していることが問題である可能性
 - ① 翻訳後修飾を認識する抗体
 - ② 立体構造を認識する抗体
- ➡ 逆相タンパク質マイクロアレイでの評価が必要

抗体J



抗体K

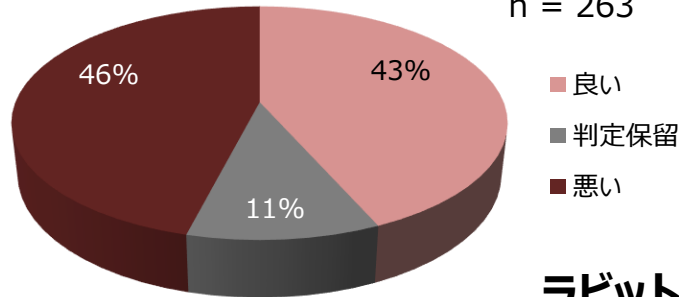


ヒトタンパク質マイクロアレイで評価した抗体の成績

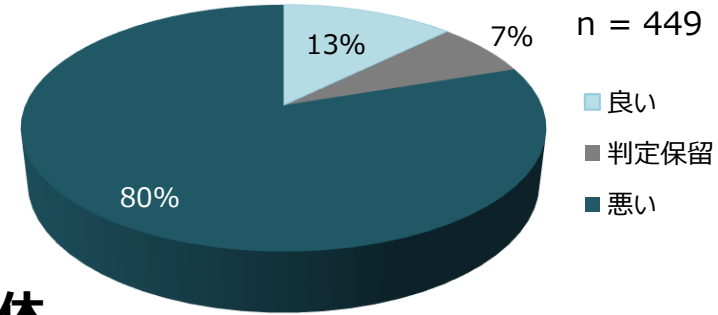
平成29年9月30日時点

955製品

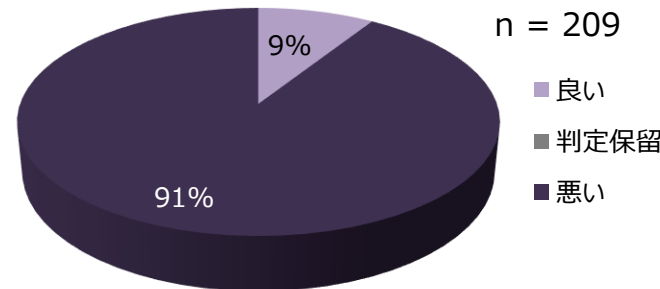
ラビットモノクローナル抗体



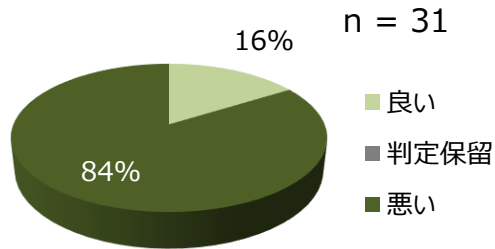
マウスモノクローナル抗体



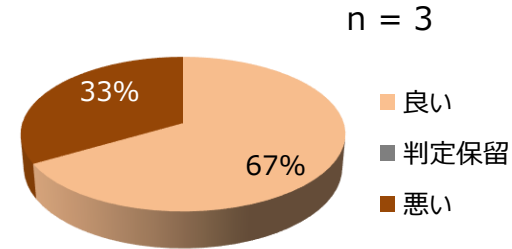
ラビットポリクローナル抗体



ゴートポリクローナル抗体



ラットモノクローナル抗体



良い： 標的抗原に特異性が高い

悪い： 標的抗原以外に交差、もしくは標的抗原を認識しない

判定保留： マイクロアレイに搭載したタンパク質の構造的問題で認識しない可能性

26ターゲットに対する抗体医薬品および コンパニオン診断薬78種類を評価

細胞合成系由来のヒトタンパク質を
搭載したマイクロアレイで評価

タンパク質マイクロアレイを用いた抗体医薬品の特異性評価

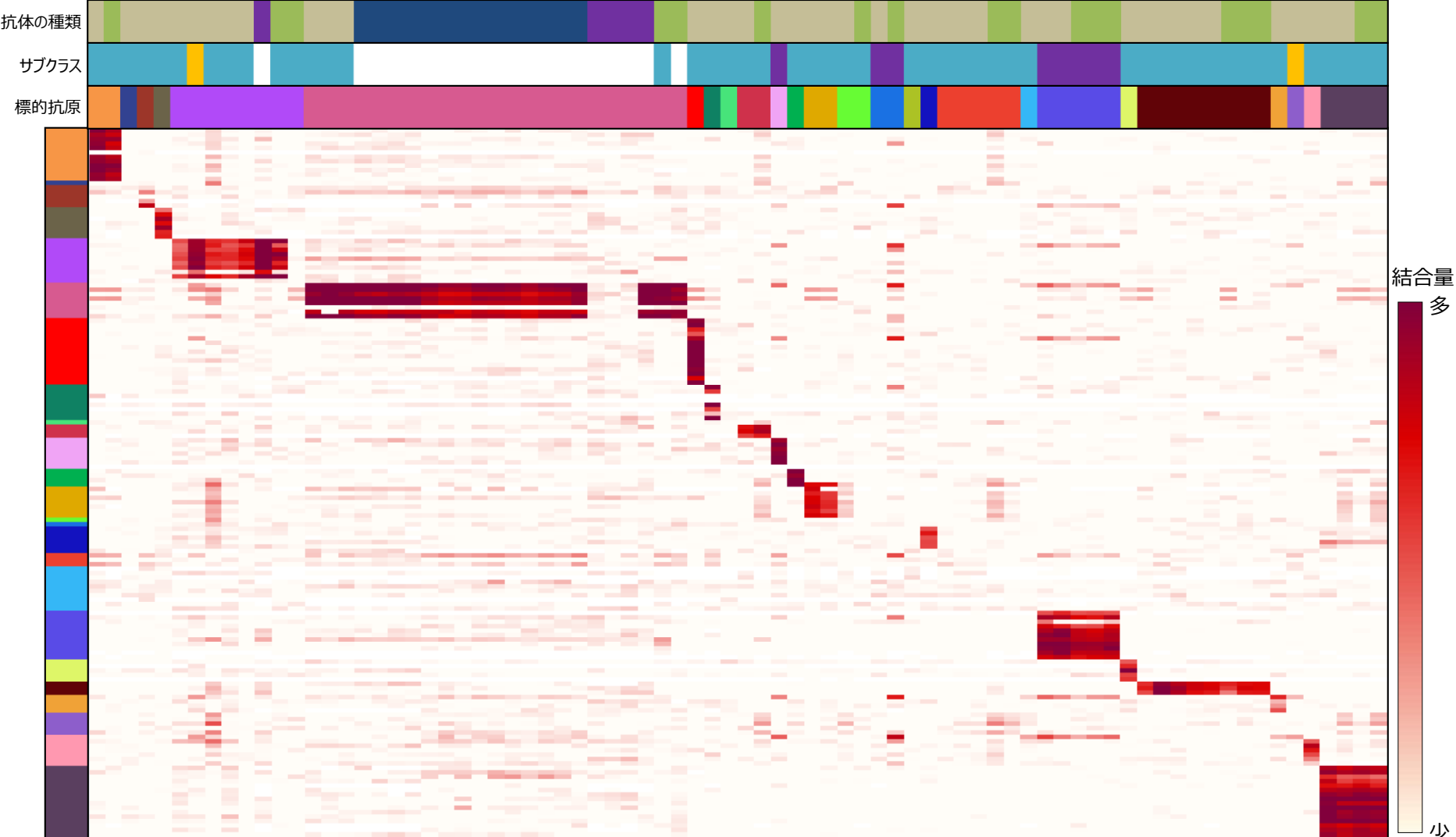
抗体の種類: ■ 抗体医薬品 ■ バイオシミラ ■ 診断薬 ■ 市販品 サブクラス: ■ IgG1 ■ IgG2 ■ IgG4

標的抗原: ■ CD274 ■ CD28 ■ CD38 ■ CTLA4 ■ EGFR ■ ERBB2 ■ IL12B/IL23A ■ IL17A ■ IL1B ■ IL2RA ■ IL4R ■ IL6 ■ IL6R ■ ITGA2/ITGB3 ■ ITGA4 ■ ITGA4/ITGB7 ■ KDR ■ MS4A1 ■ PCSK9 ■ PDCD1 ■ SLAMF7 ■ TNF ■ TNFRSF8 ■ TNFSF11 ■ TNFSF13B ■ VEGFA

細胞合成系ヒトタンパク質マイクロアレイ (5,376 spots)

- ・ ゼロ補正平均値→ネガティブコントロール (一次抗体△) に対する2次比 or 平均値に対する2次比
- ・ 標的抗原と同じGene symbolの160スポットを抽出

78 antibodies × 160 spots

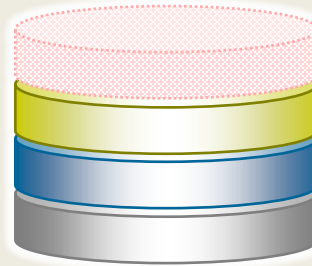


抗体評価データベース

抗体評価データベース

福島事業で評価した市販抗体の品質データを収録

- 福島事業で独自に取得したさまざまな評価・検証データを集約
- 標的タンパク質遺伝子名や抗体特性による検索が可能



- タンパク質マイクロレイシステムによる特異性検証データが主
- 8,000品目以上の評価データを順次収録予定

抗体製品情報

- サプライヤー
- 製品コード・製品名・ロット
- クローン名
- 免疫動物・サブクラス
- その他製品データシートに記載の抗体特性

特異性検証データ

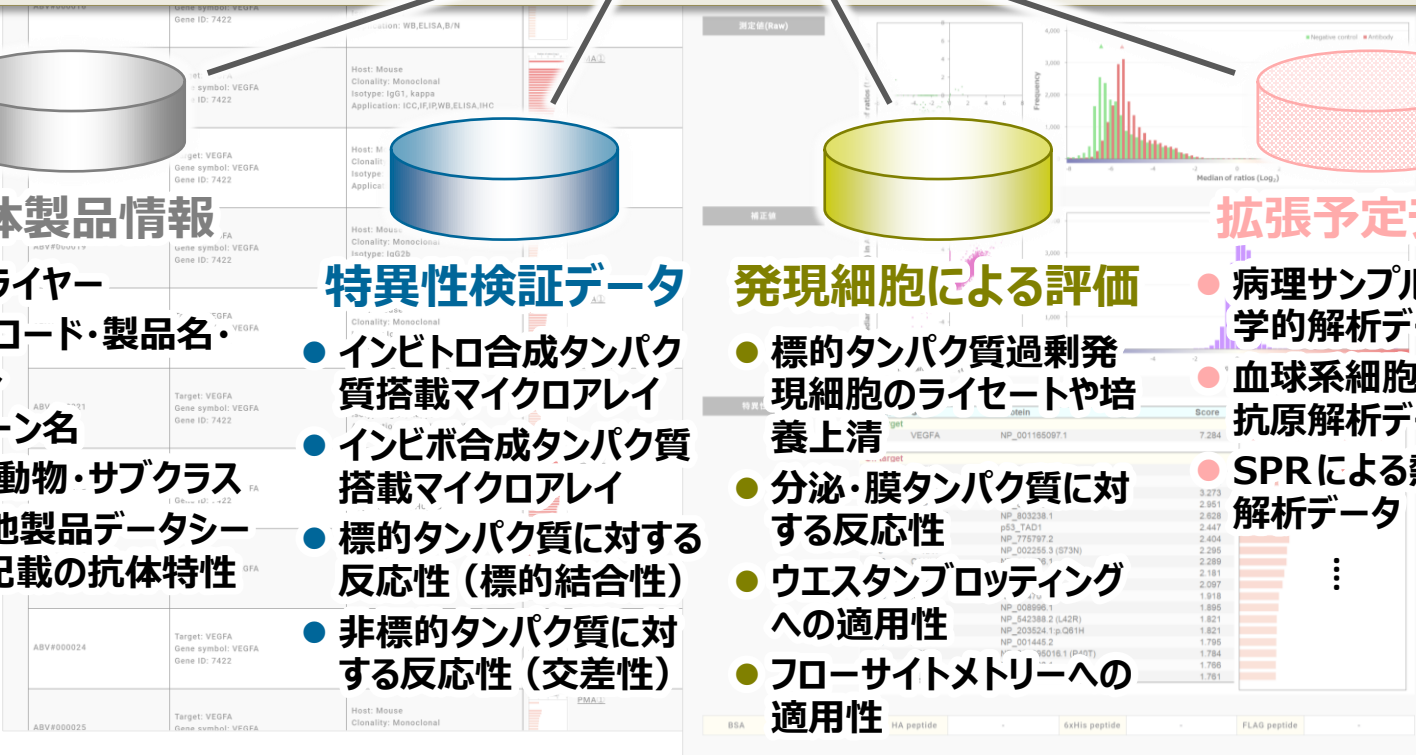
- インビトロ合成タンパク質搭載マイクロアレイ
- インビボ合成タンパク質搭載マイクロアレイ
- 標的タンパク質に対する反応性（標的結合性）
- 非標的タンパク質に対する反応性（交差性）

発現細胞による評価

- 標的タンパク質過剰発現細胞のライセートや培養上清
- 分泌・膜タンパク質に対する反応性
- ウェスタンブロッティングへの適用性
- フローサイトメトリーへの適用性

拡張予定データ

- 病理サンプルの免疫学的解析データ
- 血球系細胞の表面抗原解析データ
- SPRによる熱力学的解析データ



タンパク質マイクロアレイを用いた血中抗体のプロファイリング

ヒト免疫グロブリンの種類と特徴

IgG

ヒト免疫グロブリンの70-75%
オプソニン化や中和の作用が最も強い

IgM

抗原侵入の際、**最初に産生され一時的**に増加

IgA

粘膜等（**鼻汁、唾液、母乳中、腸液等**）に多く発現

IgD

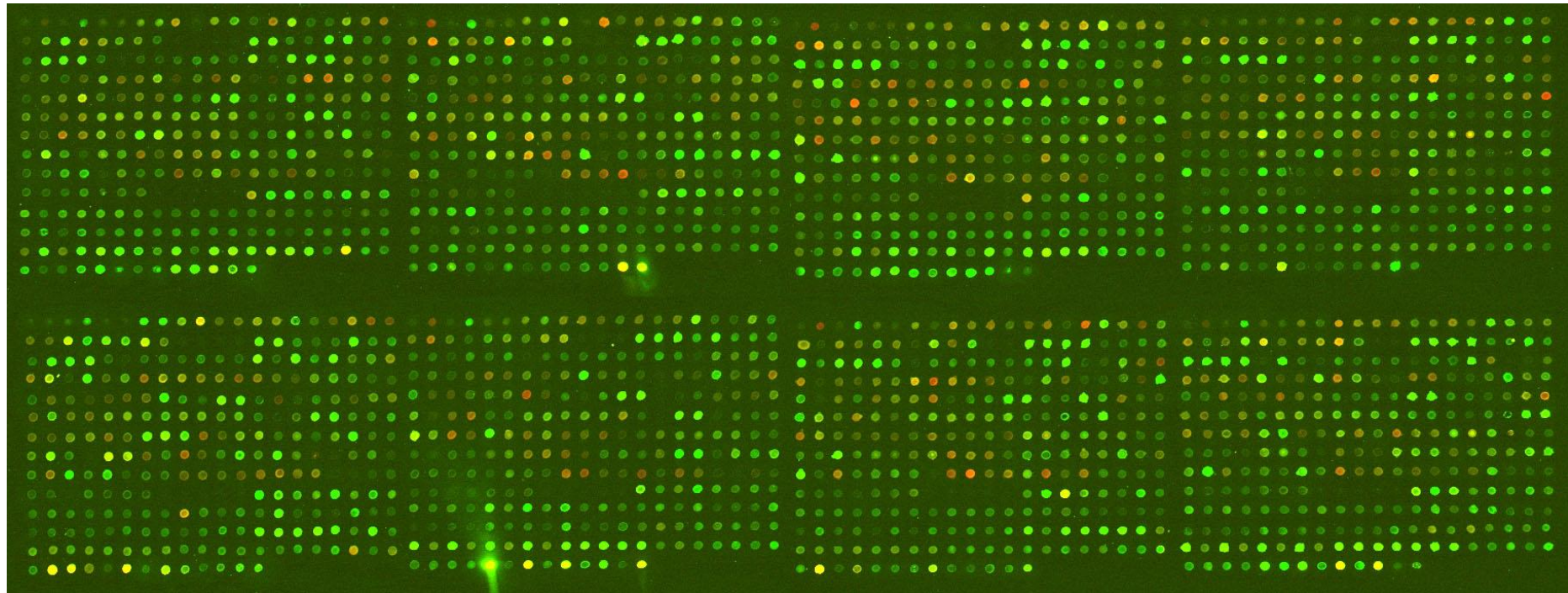
B細胞表面に存在し、抗体産生の誘導に関与

IgE

アレルギーや寄生虫感染症に関与

ヒトタンパク質マイクロアレイを用いた血清の例

正常ヒト血清 (78才)



タンパク質マイクロアレイを用いた自己免疫疾患患者の血中自己抗体プロファイリング

18K抗原マイクロアレイ

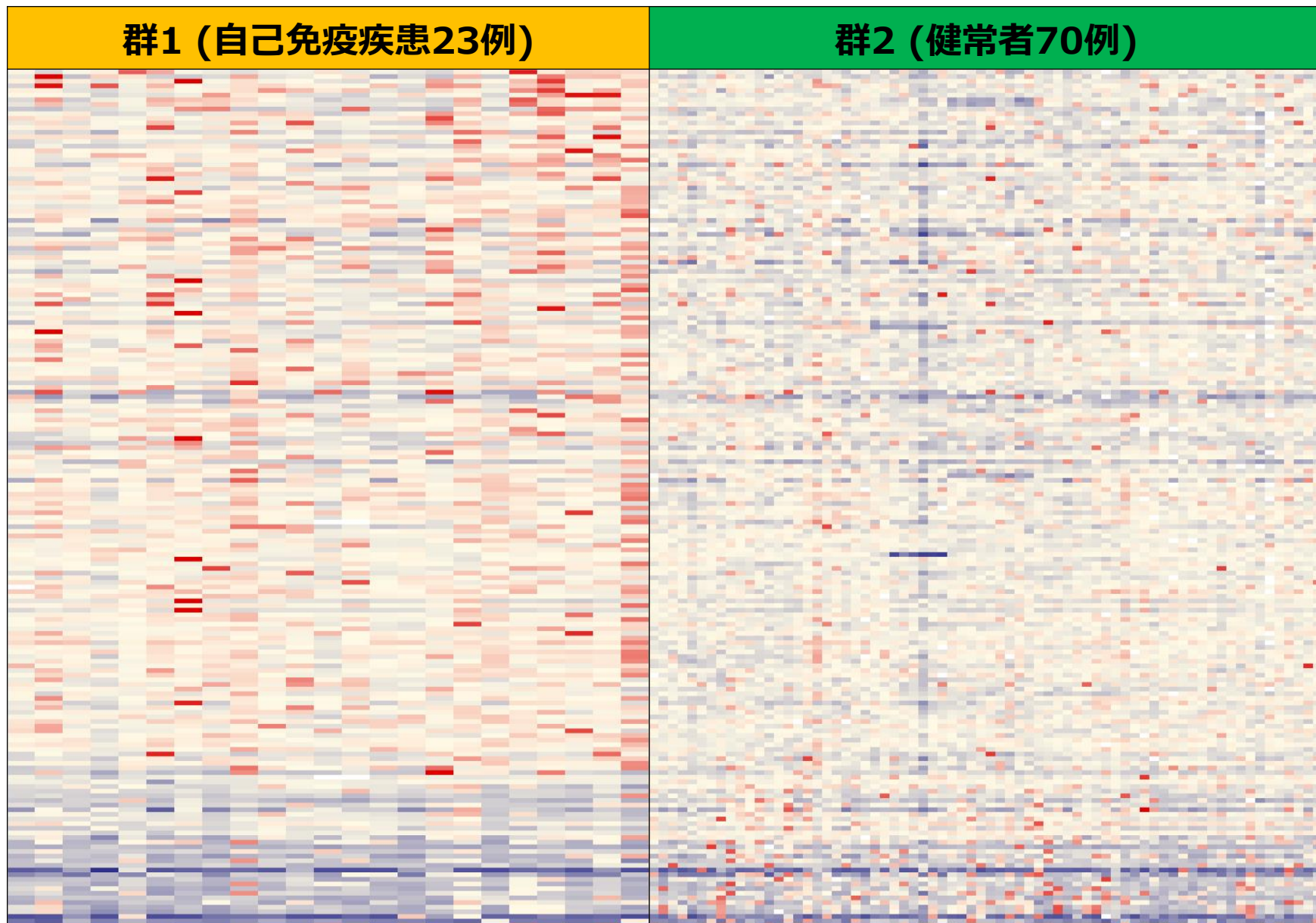
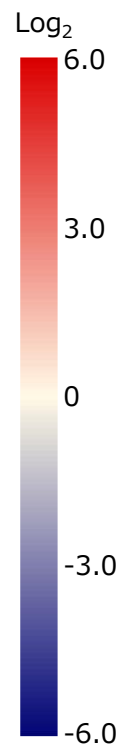
×

IgG

2群比較で差が大きい抗原 (185スポット) を抽出

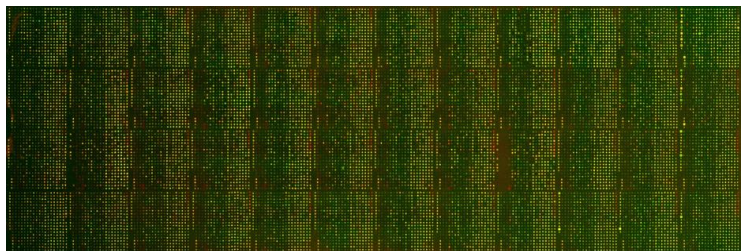
群1 (自己免疫疾患23例)

群2 (健常者70例)



ヒトタンパク質マイクロアレイ受託研究による成果

タンパク質マイクロアレイ
受託研究



東京医科歯科大学の
高木先生のグループが論文発表

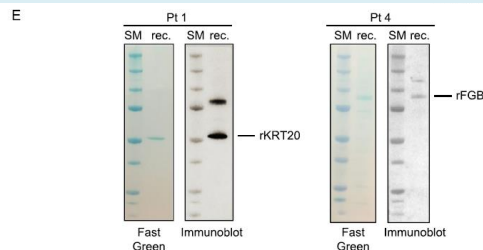


Clinical Immunology
Volume 203, Pages 9-13, 2019

小児の希少遺伝病である
IPEX症候群の自己抗体を解析



IPEX症候群の症状を説明できる
新規の共通自己抗体を検出



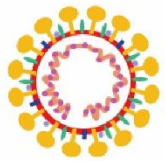
外来抗原に対する抗体のプロファイリング

- バクテリアに対する抗体のプロファイリング
- 腸内細菌に対する抗体のプロファイリング

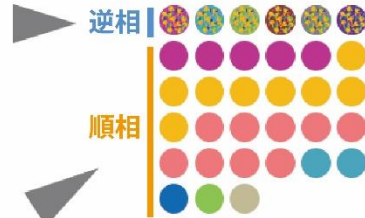
微生物タンパク質マイクロアレイ解析

■ 搭載サンプル

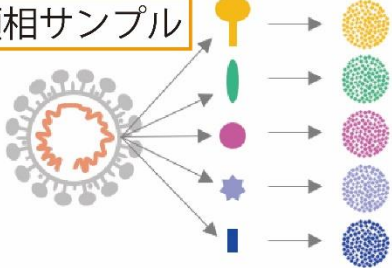
逆相サンプル



微生物を不活化したサンプルを丸ごと固定化



順相サンプル

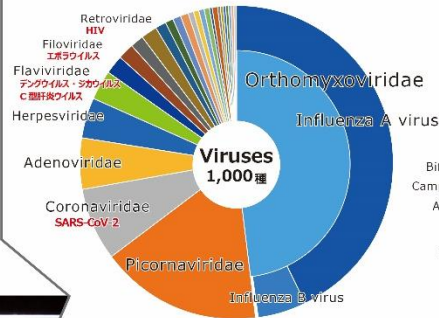


スポットごとに1種類のタンパク質を搭載

[抗原例]

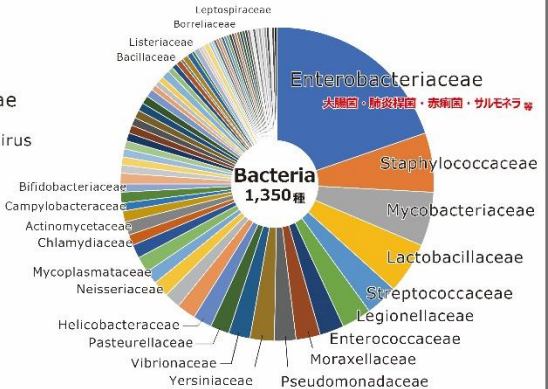
○ウイルス

新型コロナウイルスを含む各種コロナウイルスやインフルエンザウイルスの抗原も含まれます。



○細菌

大腸菌やサルモネラ、黄色ブドウ球菌など病原性の細菌を含みます。



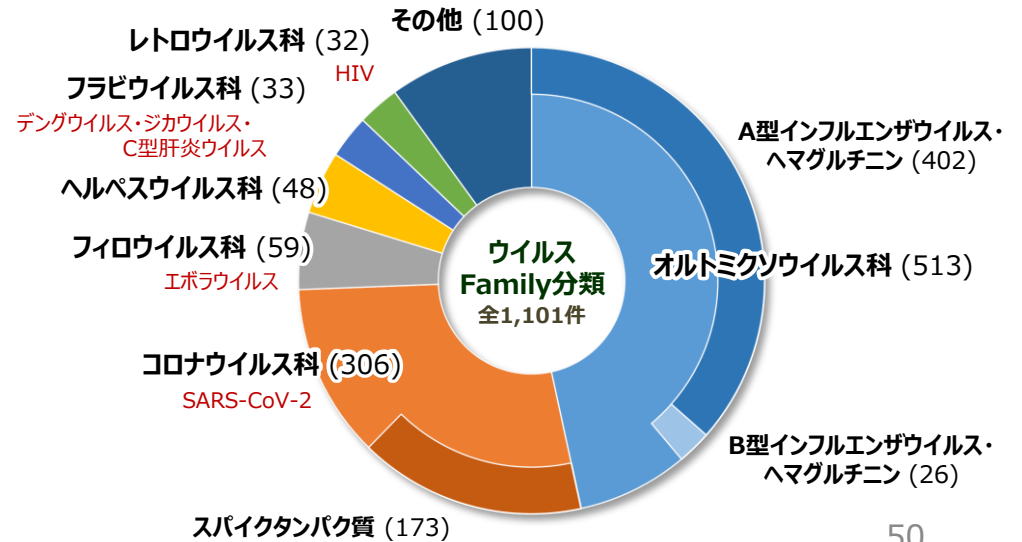
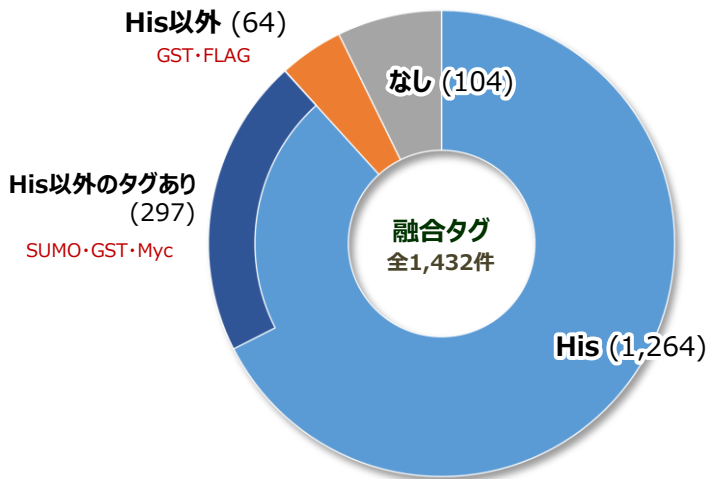
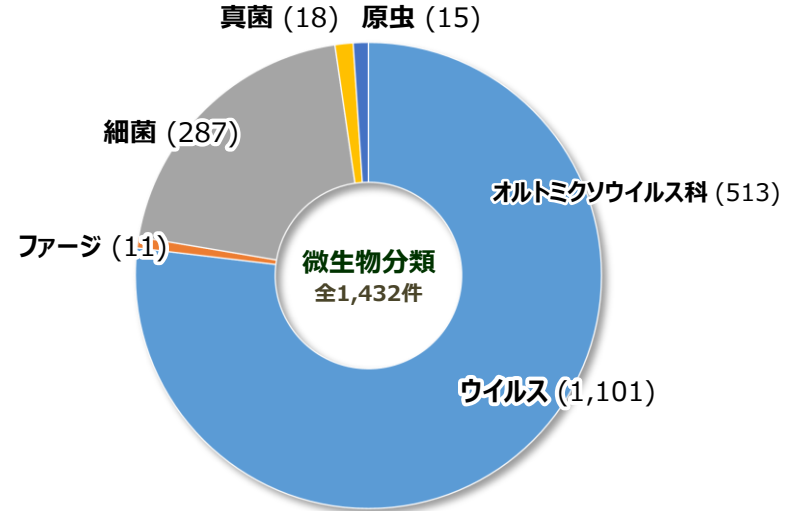
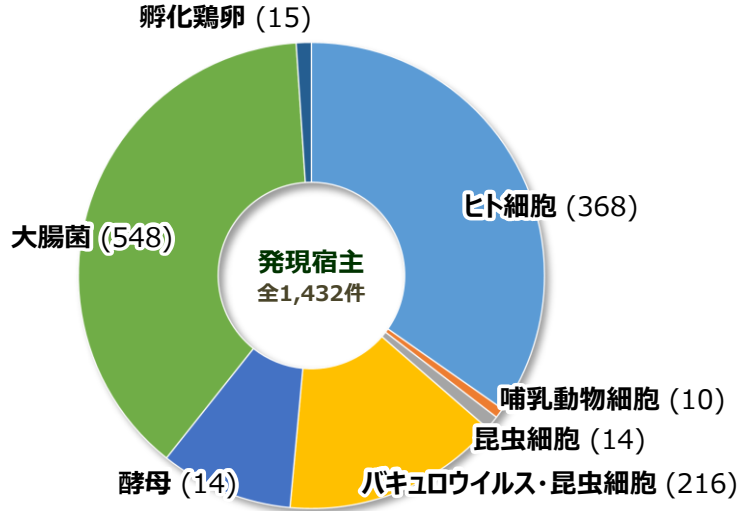
※ 抗原の詳細はお問合せください



- ✓ ウイルス（約600種）、細菌（約1,200種）、真菌（約140種）、原虫（約60種）等の抽出タンパク質画分（クルード）および組換えタンパク質を搭載
- ✓ 2,500種の微生物抗原に対する反応性を一度に解析
- ✓ 各種免疫グロブリンを検出可能
(ヒト: IgG, IgA, IgM, IgE・マウス: IgG, IgM, IgE・ラビットIgG)

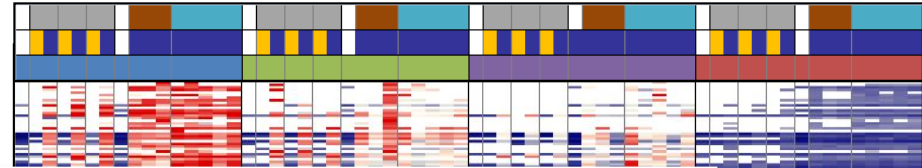
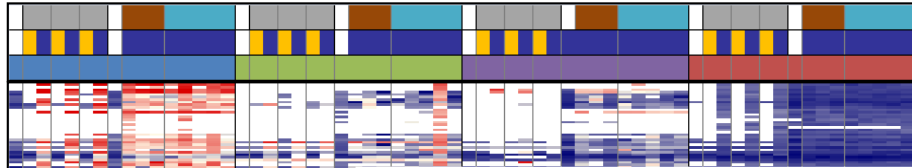
組換え微生物タンパク質

順相タンパク質マイクロアレイ



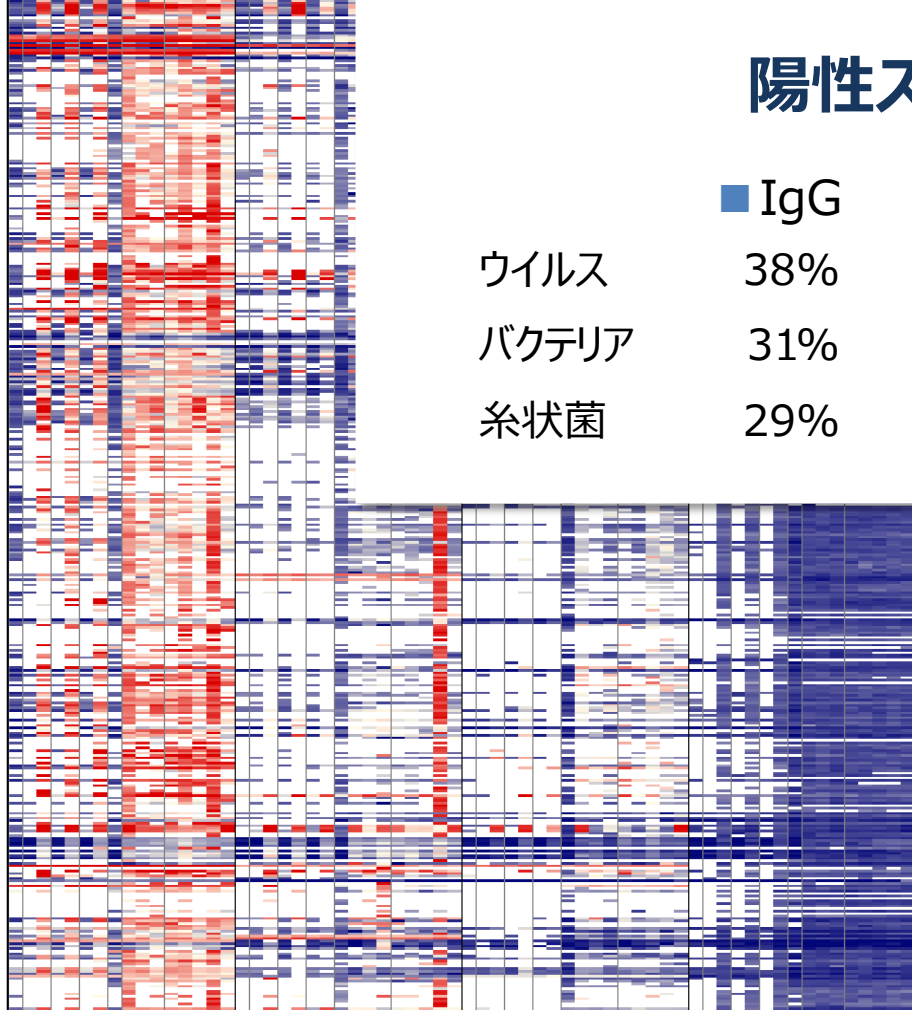
血中の抗微生物抗体の4クラスプロファイル

■ 健常者 ■ セリアック病 ■ 大腸がん ■ 脳脊髄液 ■ 血清 ■ IgG ■ IgM ■ IgA ■ IgE
 ウイルス (437スポット) バクテリア (236スポット)

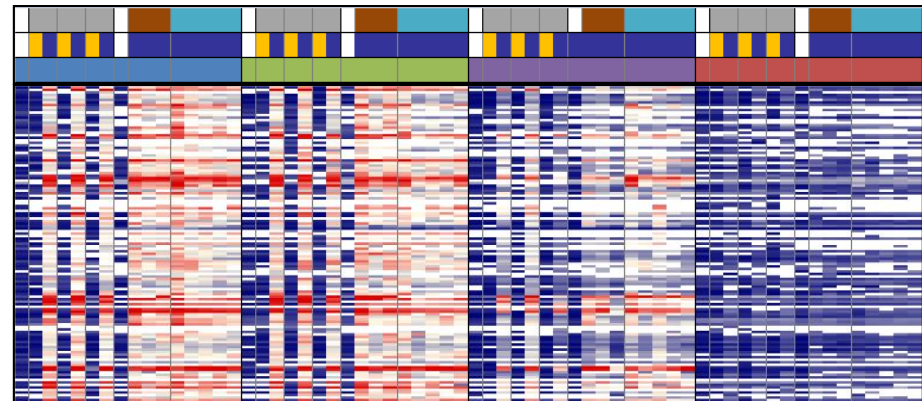


陽性スポットの割合

	■ IgG	■ IgM	■ IgA	■ IgE
ウイルス	38%	10%	5%	0%
バクテリア	31%	13%	5%	0%
糸状菌	29%	28%	10%	0%



糸状菌 (126スポット)



あらゆる体液サンプルを反応させてみる

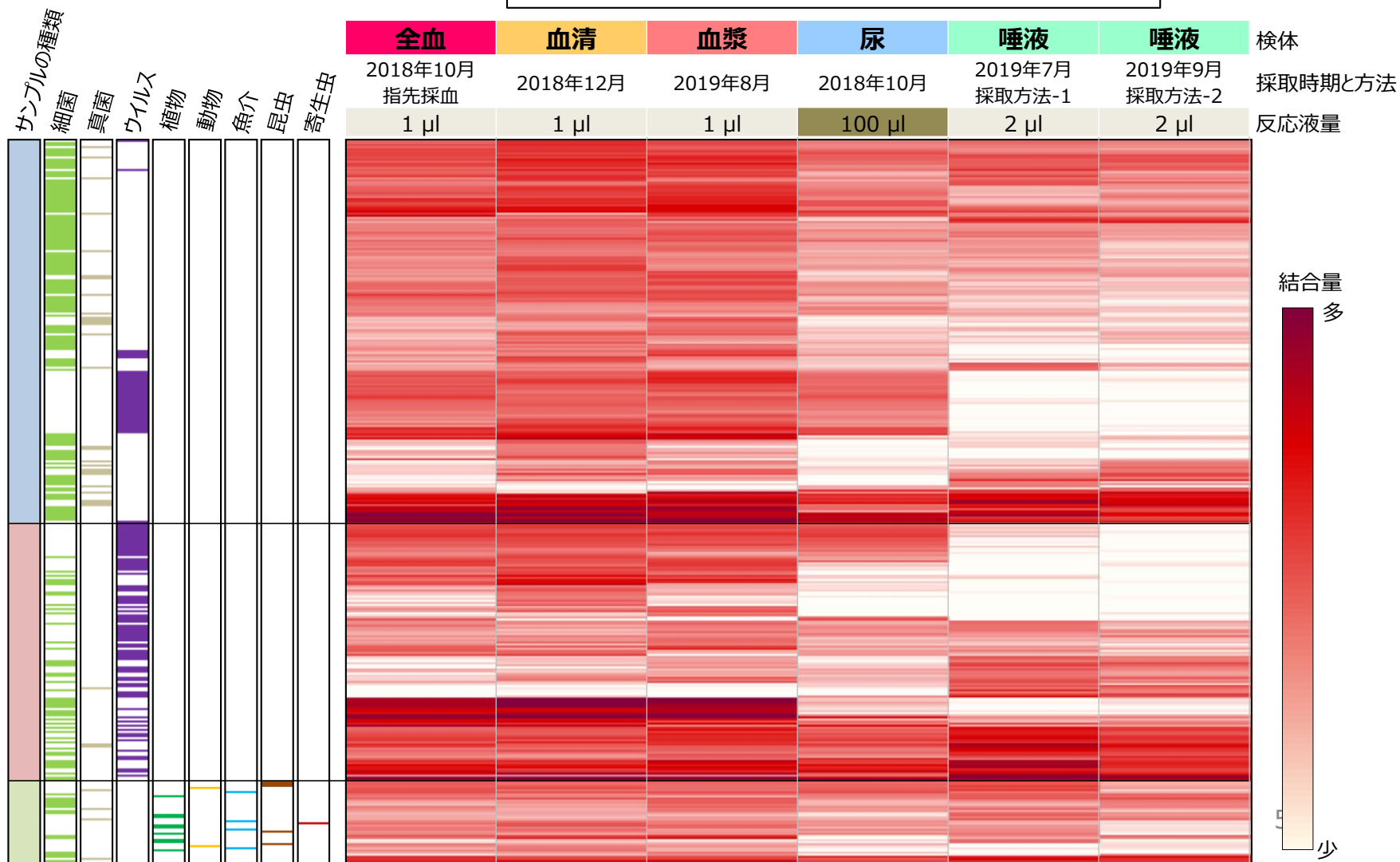
タンパク質マイクロアレイを用いた生体試料中IgAプロファイリング

- ★ 血液 (全血/血清/血漿)、尿と唾液のIgAプロファイルを取得した
- ★ 2次抗体には蛍光標識したポリクローナル抗ヒトIgA抗体を使用

- 微生物ライゼート
- 微生物リコンビナントタンパク質
- アレルゲンライゼート

外来抗原 (3,124)

- ・ ゼロ補正平均値 → Negative control (生体試料△) に対する2次比
- ・ ゼロ削除 (n = 1)、Filter ≥ 3.0 → **324スポット**



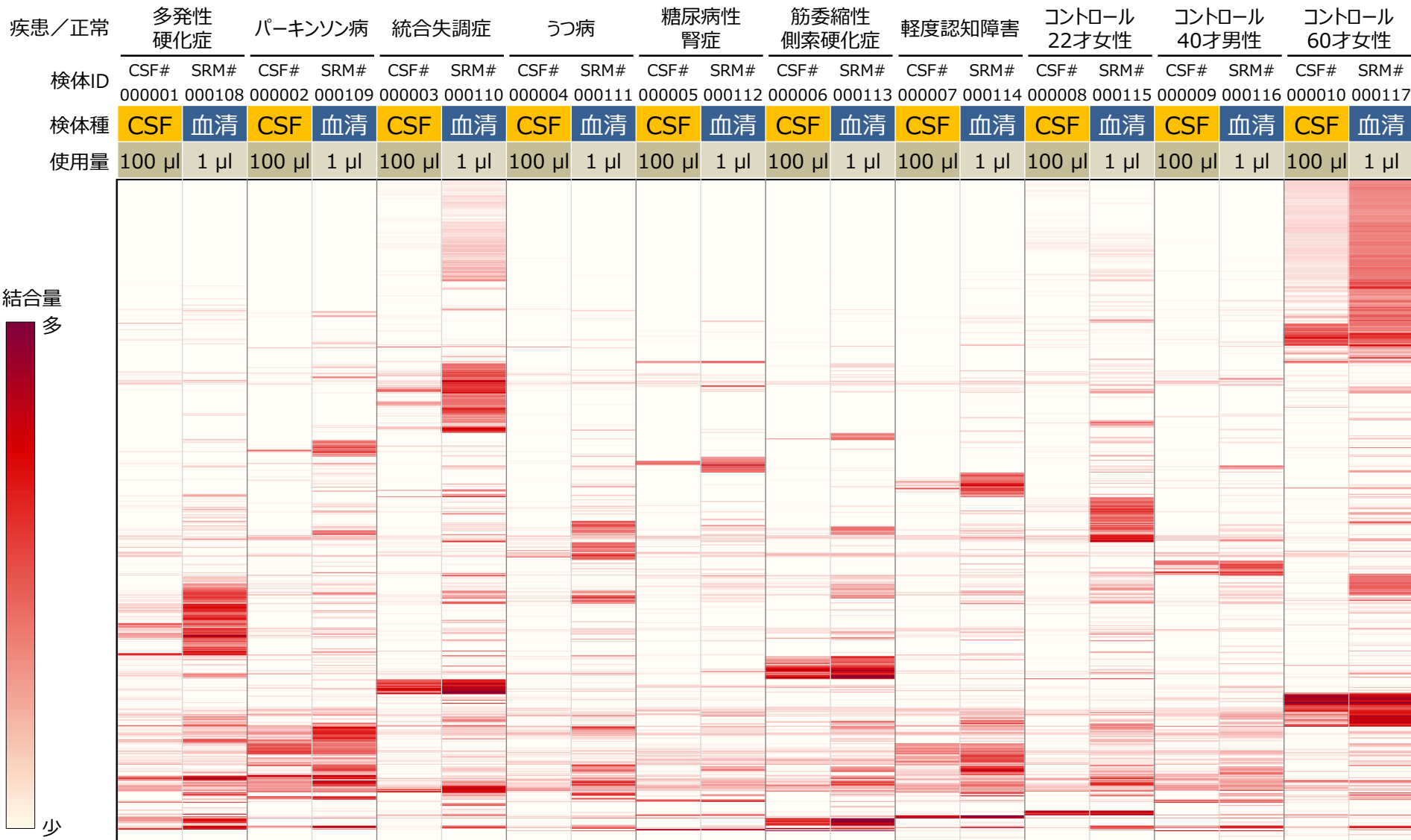
脳脊髄液と血清10ペアの自己抗体プロファイリング

IgG

コムギ胚芽無細胞合成系由来ヒトタンパク質 (18,429)

・ゼロ補正平均値 $N(0, \sigma^2)$

・0削除 (n = 1)、|Advanced filter| $\leq 2.0 \rightarrow 836$ スポット



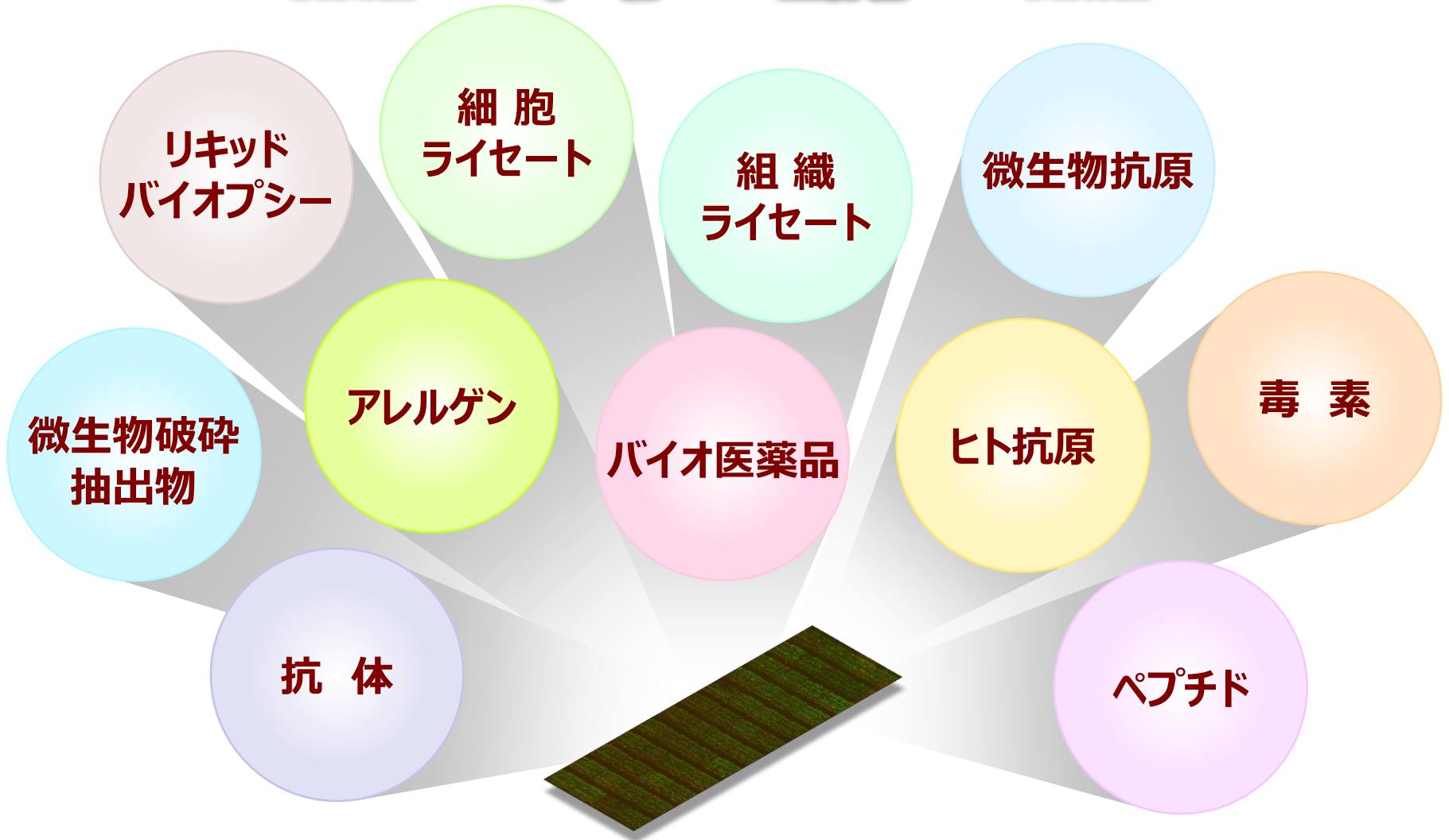
タンパク質マイクロアレイ搭載サンプル

混合物

単一物

生体物

合成物



ヒトに関わる多彩なタンパク質性試料を包括的に搭載

受託解析を行います ご希望のターゲットにお応えします

- 抗体の評価
- 抗原が未同定の抗体の抗原探索
- 各種ターゲットに対する血中抗体のプロファイリング
 - ・自己抗体
 - ・アレルゲンに対する抗体
 - ・微生物に対する抗体 など

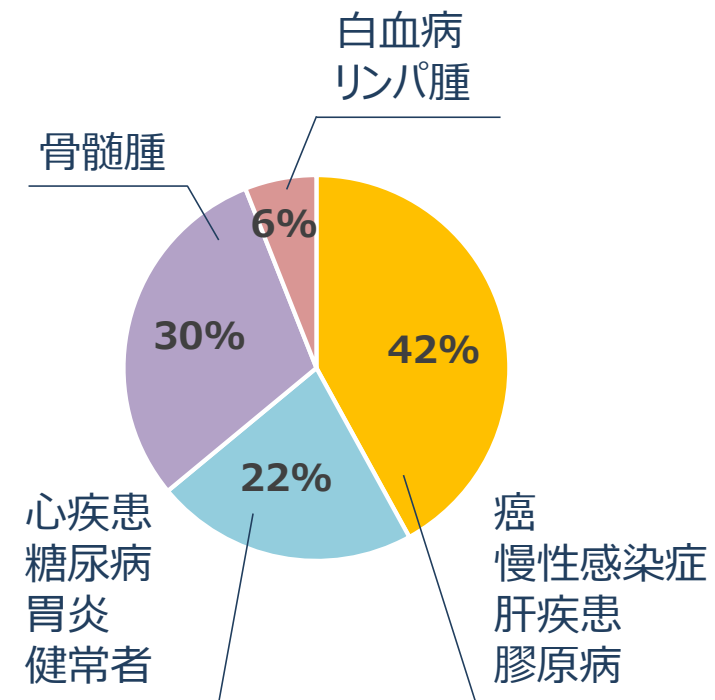
50件以上の実績

標的未同定抗体の標的抗原の探索

M蛋白血症

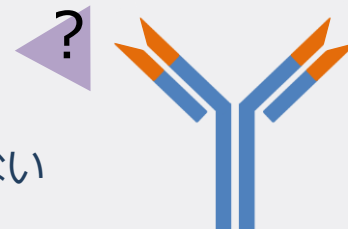
- 正常では存在しない。抗体産生細胞の異常により産生される単クローン性免疫グロブリン
- M蛋白は多発性骨髄腫を代表とする血液の悪性疾患、膠原病、慢性感染症、肝疾患などの慢性疾患や健常者でも高率に認められる

M蛋白血症を伴う代表的疾患

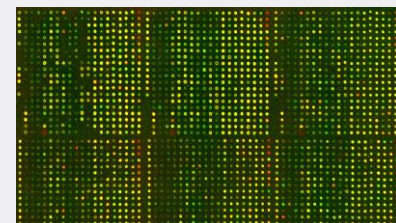


形質細胞のクローニング、抗体遺伝子のクローニング、
抗体の作製は可能。確立した技術がある。

抗体の抗原の同定
抗原を同定する技術はほとんどない



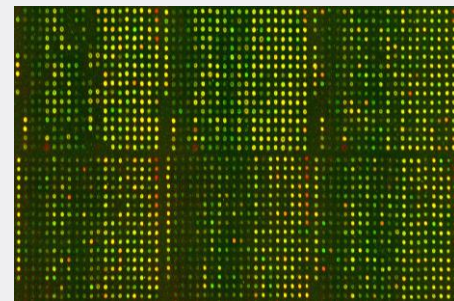
タンパク質マイクロアレイで
抗体の抗原をスクリーニング



タンパク質相互作用解析への応用

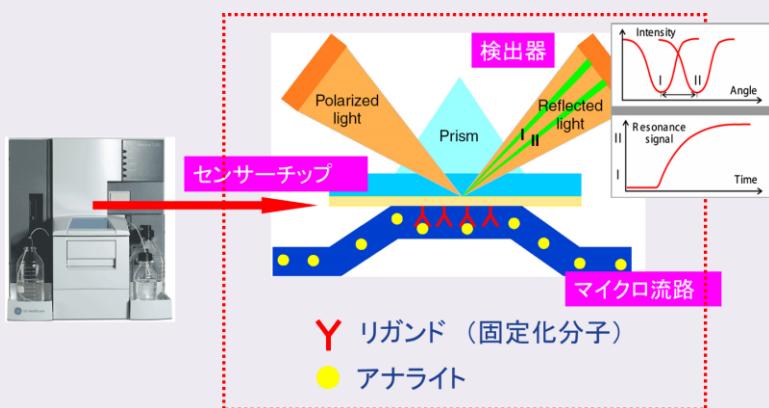
タンパク質マイクロアレイ

- ✓ 一度に1万種類以上のタンパク質に対する作用を検出
- ✓ 標的タンパク質と一対一の作用を検出
- ✓ 標識がないタンパク質でも対応可能

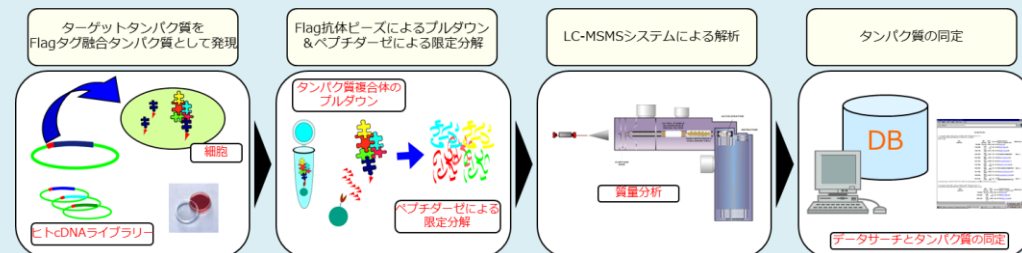


従来法

表面プラズモン共鳴



質量分析



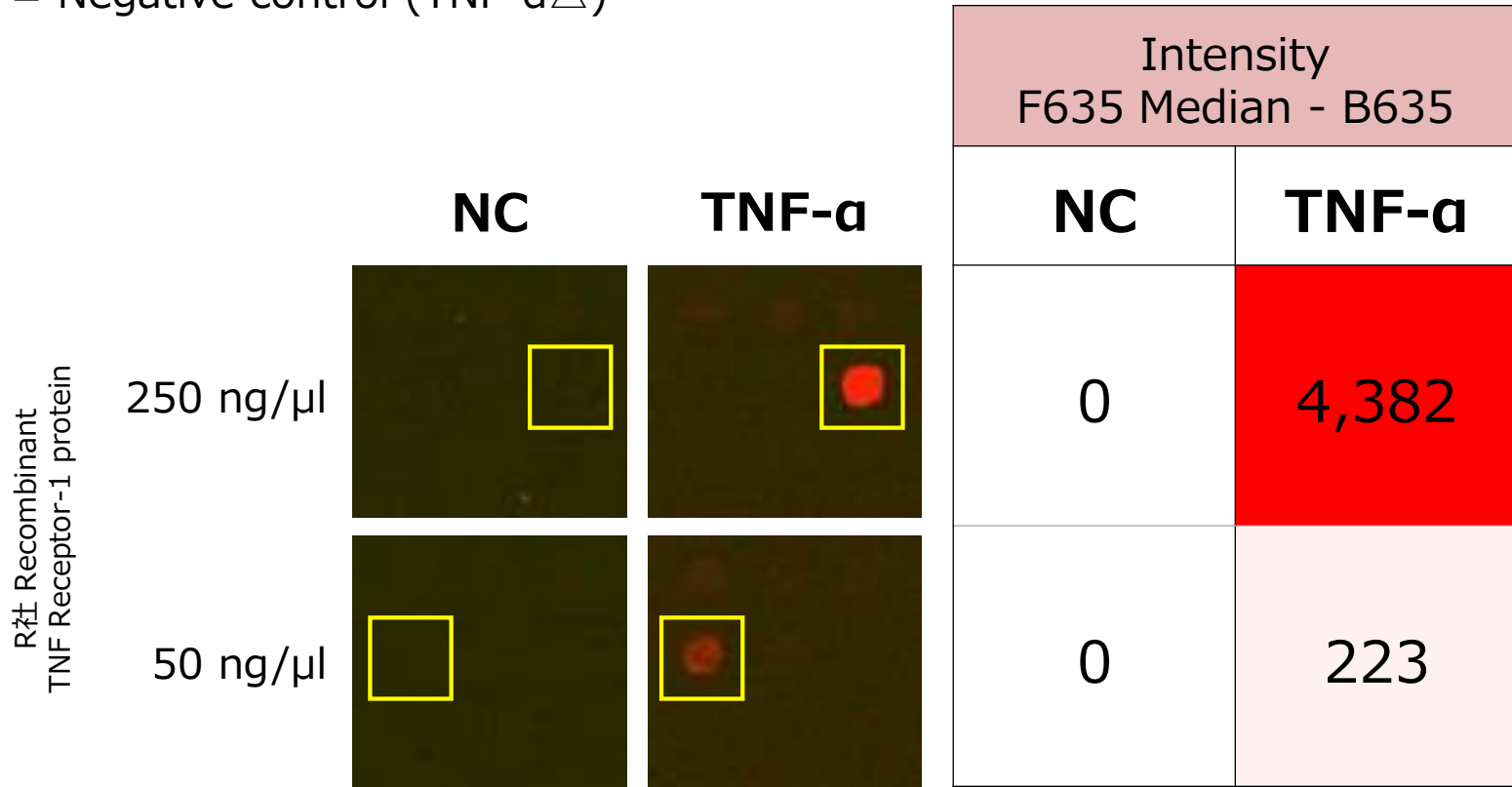
スループットの限界 高価な機器が必要

タンパク質マイクロアレイを使ったタンパク質相互作用の検出

検出例1: TNF Receptor-1 × TNF-α

組換えTNF受容体タンパク質 (Recombinant TNF Receptor-1 protein) を搭載したマイクロアレイに、TNF-α、抗TNF-α抗体 (ビオチン標識) の順に反応させ、赤色に蛍光標識したstreptavidinで検出した

※ NC = Negative control (TNF-α△)



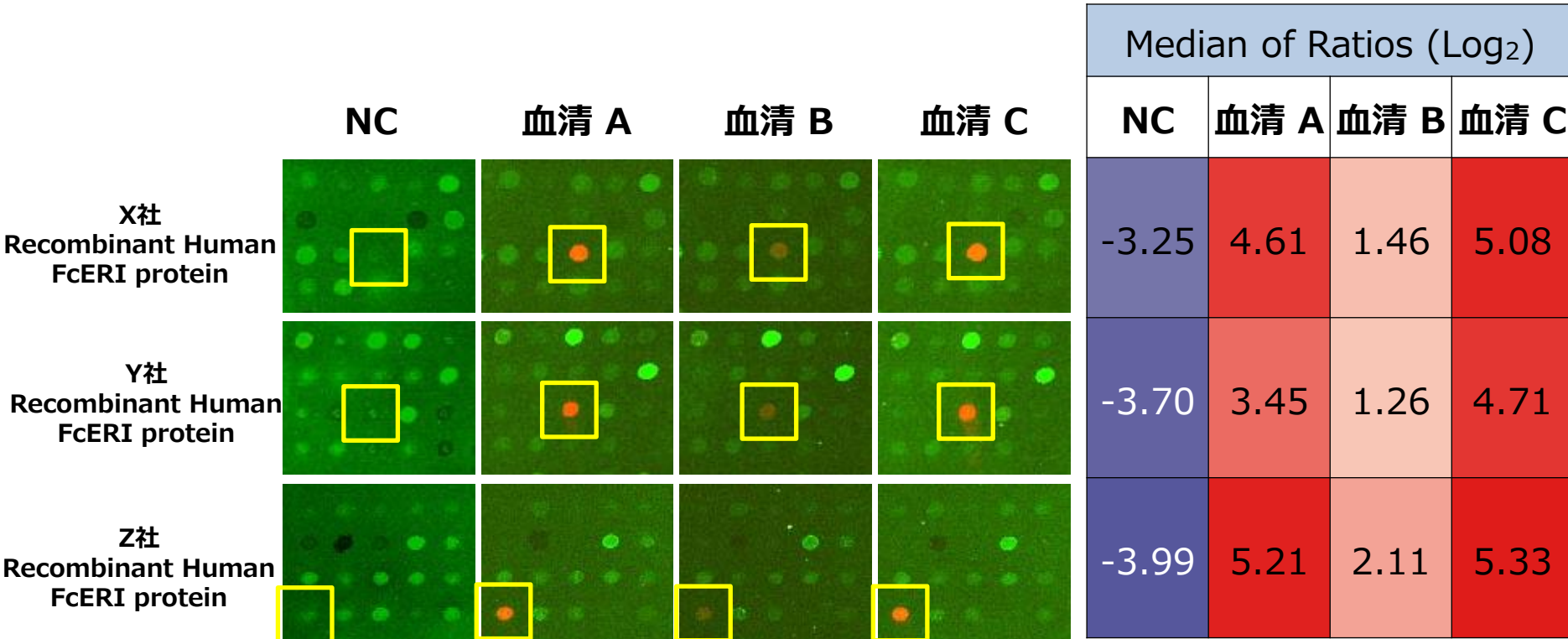
タンパク質マイクロアレイ上のTNF受容体タンパク質に添加したTNF-αが反応アレイ化したタンパク質が結合活性を保持している

タンパク質マイクロアレイを使ったタンパク質相互作用の検出

検出例2: FcERI × 血中Human IgE

組換えヒトFc受容体タンパク質 (Recombinant Human FcERI protein) を搭載したマイクロアレイに、ヒト血清を反応させ、赤色に蛍光標識した抗Human IgE抗体で検出した

※ NC = Negative control (血清△)



タンパク質マイクロアレイ上のFc受容体タンパク質で、ヒト血清中のIgEを検出
ヒト血清中のIgEのような微量サンプルも検出可能

福島医薬品関連産業支援拠点化事業

ご要望をお伺いして、
最適な研究開発支援を行います。
お気軽にご相談ください。

trセンター 福島 で検索を

医療-産業TRセンターホームページ

<https://www.fmu.ac.jp/home/trc/>

