

バイオマーカー探索を加速する 遺伝子情報からの新たなタンパク質群一斉定量技術の開発

大槻 純男 東北大学大学院薬学研究科
上家 潤一 麻布大学獣医学部
岡田 勇彦 アプライドバイオシステムズジャパン株式会社
山田 茂 アプライドバイオシステムズジャパン株式会社

1. はじめに、

バイオマーカーは治療、診断、新薬開発の戦略のパラダイムシフトとして期待され、多くの領域で研究が進行している。アルツハイマー病等の神経変性疾患においては、早期治療を可能とする早期診断マーカーの探索が進行している。ガン領域では腫瘍マーカー検査が人間ドックで一般的に行われており、優れたマーカーの探索が継続して行われている。また、イレッサのような分子標的薬は、治療効果は極めて高いが、深刻な副作用が発現するケースがある。このため分子標的薬が有効に効くことを治療前に判断できるバイオマーカーの同定が待望されている。このようなバイオマーカーは個別化治療（テーラーメイド医療）において必須となる。以上のような重要性から、図1に示すようにバイオマーカーの世界市場は、今後、高い成長率で大きな市場になると予想されている。従って、いかに優れたバイオマーカーを同定し、知財を確保するかが、今後のバイオマーカー市場、そして関連する治療、診断、新薬開発の巨大市場を牽引できるかの鍵である。

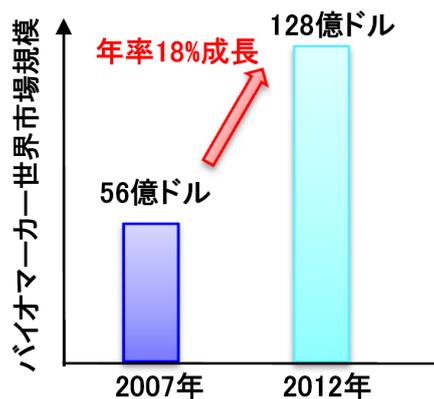


図1 バイオマーカー市場の成長予測
(米国 BCC Research 調査報告書)

バイオマーカー探索は、対象を網羅的に解析し、変動する要因を同定することが必要であるために、ゲノミクスやプロテオミクス等のオミクス研究が盛んに行われている。しかし、現状では、ゲノミクスによる SNPs（一塩基多型）解析以外はオミクス研究がバイオマーカー探索に対して有効に機能しているとはいえない。この問題を打破するためには、これまでのオミクス研究とは基本原理が異なり、それぞれのオミクス研究を統合できる新しい技術の開発が必要である。我々は、今後のバイオマーカー領域において鍵となる日本発の全く新しいタンパク質解析技術の開発に励んでいる（図2右）。本論文では、標的とするタンパク質自身を用いずに、遺伝子情報から高感度なタンパク質定量系を構築する我々の新技術の概要を報告するとともに、その技術の意義・展望と本技術の社会的な波及効果などについて論ずる。

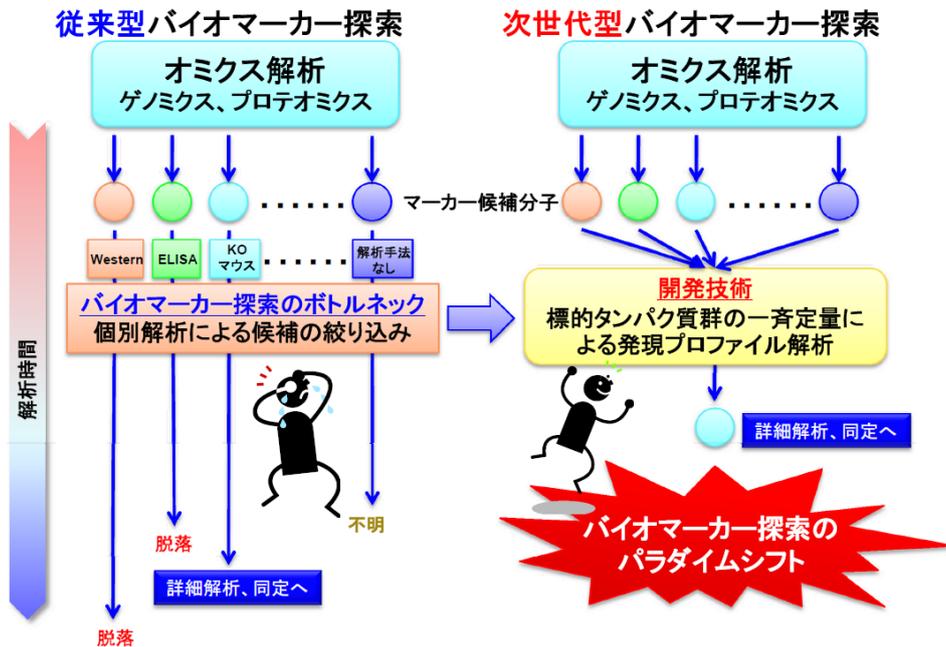


図2 従来型バイオマーカーの問題点と開発技術によるブレイクスルー

2. 開発背景：現状のプロテオミクス研究の問題点

プロテオミクスはポストゲノム時代を担うと期待された技術である。しかし、現状はその問題点、特に膜タンパク質と感度の問題点、が浮き彫りにされてきている。また、ゲノミクスやプロテオミクスにおいてバイオマーカーの候補分子を多数同定したとしても、次の段階で候補分子を絞り込み、バイオマーカーを同定するためには個別のタンパク質定量系が必要となる（図2左）。定量系が全くないタンパク質は、抗体を作成しなければならない。図3に示すように、その行程は、きわめて時間がかかり、一人の研究者が1年で数分子の定量系を構築することが限度である。従って、バイオマーカーの候補分子を絞り込み同定する段階がバイオマーカー探索のボトルネックとなっており、このボトルネックを解消する技術が現れない限り、社会が要求するバイオマーカーの同定にはきわめて長期間がかかってしまうこととなる。



図3 抗体と開発技術によるタンパク質検出系構築に要する時間の比較

我々、若手異分野融合チームは、質量分析計を応用することで、標的タンパク質自身を必要とせず遺伝子情報のみから迅速にタンパク質量系を構築し（図3）、さらにタンパク質群を高感度に一齐に定量する技術に挑み、従来のプロテオミクス技術では同定すらできなかった低発現量の膜タンパク質 37 分子の一齐定量に成功した（表1）。さらに、アプライドバイオシステムズとの協力の下、さらなる高感度化を行い、抗体と同程度の感度でかつ抗体を超える特異性の実現を目指している。

	2D-PAGE+MS (MALDI-TOF MS)	ショットガン解析 (LC-MS/MS)	標的プロテオミクス Multiplexed MRM法
手法概略	2D-PAGEで分離を行い群間で差のあるスポットをMSで同定	トリプシンで消化した試料中のペプチドをLCで分離し、MS/MSで同定	標的タンパク質のペプチドを選択的に検出するMRM法によって同定・定量
同定手法	タンパク質データベース検索による同定		標的とするタンパク質を検出前に設定 (標的プロテオミクス)
感度	10-100 pmol (染色法に依存)	1 pmol	10 fmol 既存技術の 100倍以上
定量	相対定量 ダイナミックレンジ: 1桁未満		絶対定量 ダイナミックレンジ: 最低 3桁
同時同定数	10-50スポット	1,000-5,000タンパク質	37タンパク質
膜タンパク質解析	不可能	発現量の多い分子のみ	トランスポーター、受容体の 同定と定量が可能

表1 従来のプロテオミクス技術と開発技術の比較

3. 高感度定量: 網羅的同定から個別定量への発想の転換

同定数および感度に優れるショットガン解析は現在のプロテオミクスのメインストリームである。しかし、機能するタンパク質、特に膜タンパク質、の同定には感度が不足している。これは、網羅的解析であるため発現量の多い順番に同定され、その結果、発現量の少ないタンパク質は同定できないためである（図4上）。従って、世界の開発は同定数をいかに向上するかという競争に陥っている。

我々は全く新しい発想でこの問題の克服を行った。つまり、特定の標的タンパク質のみを高感度で同定することによって、発現量の多いタンパク質の影響を受けずに感度の問題を解消する（図4下）。これは、網羅的解析から個別（標的）解析への転換である。このような転換を行うことによって 100 倍以上の感度上昇を達成した（表1）。さらに、膜タンパク質は、疎水性が高く、凝集しやすいため解

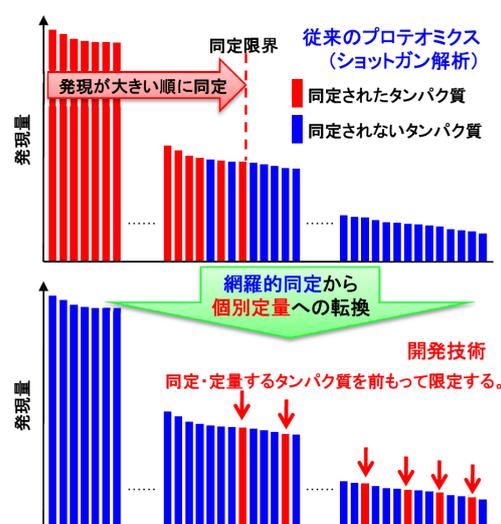


図4 網羅的同定と個別定量の比較

析が非常に困難である。そこで、標的タンパク質自身を同定・定量するのではなく、標的タンパク質をタンパク質分解酵素によって消化し、生成される標的タンパク質特異的な親水性ペプチド（標的対象ペプチド）を同定・定量することによって問題を克服した。

個別解析の実現のため、我々は従来のプロテオミクスで使用されている ToF タイプや FT-ICR タイプではなく、作動原理が異なり感度と定量性に優れた三連四重極型質量分析計 (Triple Quadrupole) の Multiple Reaction Monitoring (MRM) モードをもちいた (図 5)。図 6 に MRM モードの原理を示した。Q1 は特定の質量を持つ親イオンのみを通過させるフィルターであり、Q2 では親イオンを限定的に破壊させて娘

	Ion trap	Q-ToF	ToF-ToF	Triple quadrupole	FT-ICR
特性					
質量精度	×	○	○	△	◎
感度	○	○	○	◎	△
線形性	×	△	△	◎	△
イオン源	ESI	ESI, MALDI	MALDI	ESI	ESI
タンパク質同定・定量における特性					
同定の確度	△	○	○	△	◎
定量性能	×	◎	○	◎	△

図5 各種質量分析計の性能比較

イオンを作る。Q3 は特定の質量を持つ娘イオンを通過させる。親イオンと娘イオンがともに質量フィルターを通過したイオンを最終的に検出器で計測し、定量を行う。Q1 と Q3 の 2 回の質量フィルターによって大幅なノイズピークの低下を実現し、非常に S/N 比が高い測定が可能である。この MRM モードをペプチド測定に応用することによって、膨大なペプチド中から標的タンパク質由来の定量対象ペプチドを高感度に検出し、さらに定量を実現することができる。

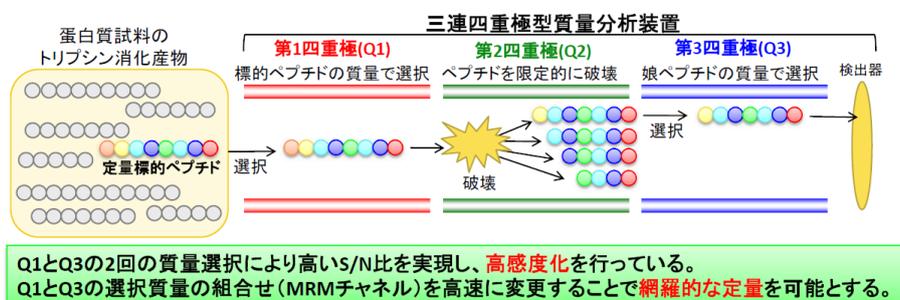


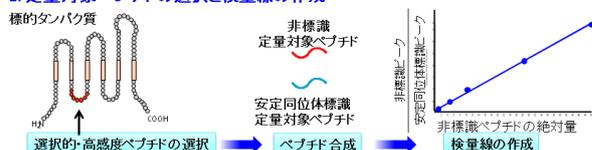
図6 MRM モードによる高感度分析

MRMモードは、親イオンと娘イオンの質量フィルターの組み合わせ(MRMチャンネル)を10msという高速で変更できることである。つまり、一つのチャンネルでは一つの定量対象ペプチドしか検出できないが、チャンネルを高速に変えることによって、複数のペプチドを同時に検出することが可能となる。我々が利用しているアプライドバイオシステムズ(ABI)社製API5000や4000QTRAPでは300チャンネルをくむことができる。さらに、MRMモードは、定量のダイナミックレンジが広く、従来のプロテオミクスやWestern blotの1桁以下のダイナミックレンジから、3桁に拡張することが可能である。

4. Multiplexed MRM 法による抗体を超える信頼性の実現

MRM 法を用いた新規開発タンパク質定量法の概要を図 7 に示した。標的タンパク質をトリプシンで分解し、そのペプチド断片の中から標的タンパク質に特異的であり、かつ強いシグナルを与えるペプチドを定量対象ペプチドとする。生体試料から調製したタンパク質試料を可溶化の後、還元、アルキル化を行いトリプシンによって完全に消化を行い、ペプチド試料を調製する。ペプチド試料に既知量の安定同位体標識ペプチドを添加し、HPLC に接続した三連四重極型質量分析計によって解析を行う。試料中の消化ペプチドは HPLC の C18 カラムで分離され、順次オンラインで質量分析計に投入され MRM モードで解析される(図 8)。その結果、各 MRM チャンネルに対応するクロマトグラムが生成され、定量対象ペプチドと内部標準である安定同位体標識ペプチドとのピークエリニア比と検量線からペプチド試料中の定量対象ペプチドの絶対量を測定する。

1. 定量対象ペプチドの選択と検量線の作成



2. ペプチド試料の調製



3. 定量解析

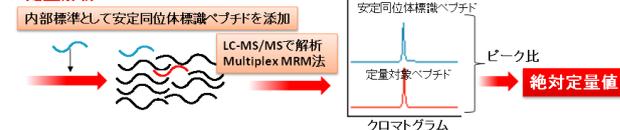


図7 Multiplexed MRM 法の概略

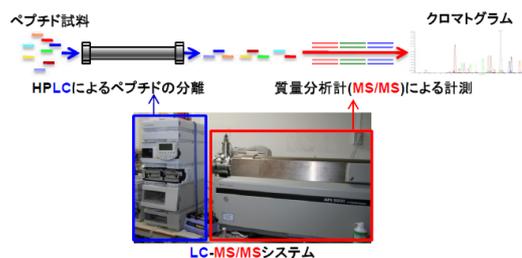


図8 LC-MS/MS システム概略

生体試料は複雑な混合物であり、MRM モードを用いた測定においてもノイズピークが解析の障害となる。図 9 にマウス肝臓の細胞膜画分を解析した際のある膜タンパク質のクロマトグラムを示したが、A のクロマトグラムのみから定量対象ペプチドのピークを同定することは不可能である。また、標的ピークを同定できたとしてもノイズピークが重なってしまい定量値の信頼性が低くなってしまふ。この問題点を克服する手法が内部標準を用いた Multiplexed MRM 法である。定量対象ペプチドと同じアミノ酸配列を持つ安定同位体によって標識したペプチドを合成し、内部標準として用いた。その結果、図9の赤で示すように安定同位体標識ペプチドとの溶出位置の一致から定量対象ペプチドのシグナルを容易に同定が可能となる。さらに、サンプル間で異なるペプチドの回収率やイオン化効率などを補正することが可能である。

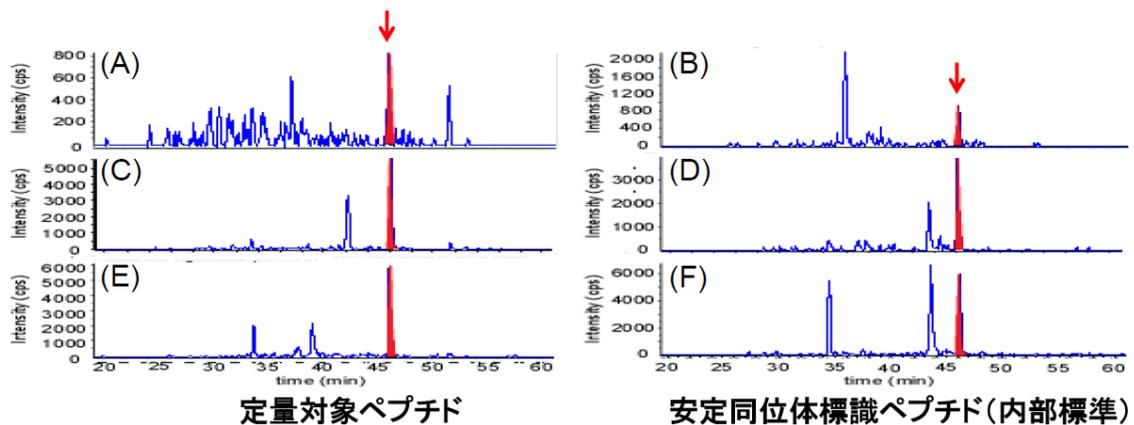
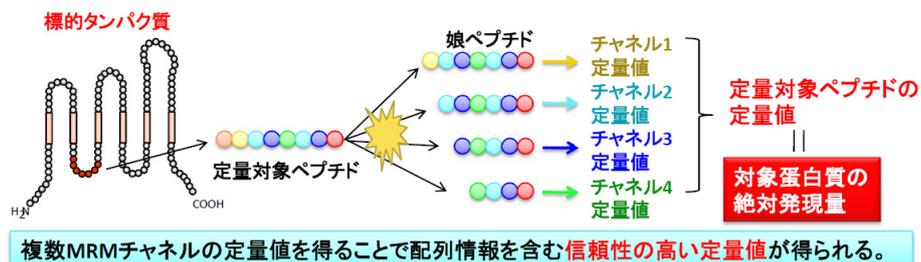


図9 Multiplexed MRM 法の実施例

マウス肝臓の細胞膜画分を解析した際の標的トランスポーター(BCRP)の定量対象ペプチドのクロマトグラム。A、C、Eは同一の定量対象ペプチドを検出する異なるMRMチャンネル(同一親イオンで異なる娘イオン)である。B、D、Fは、定量対象と同じアミノ酸配列を有する安定同位体標識ペプチドのA、C、Eにそれぞれ対応するMRMチャンネルである。赤で示したピークが定量対象ペプチドのピークであり、すべてのクロマトグラムで同一溶出時間である。

図10に示すように定量対象ペプチドは限定的破壊によってアミノ酸配列に応じた複数の娘イオンを生成する。定量対象ペプチドが同一であれば、理論的に、異なる娘イオンから得られるシグナルのカラム溶出時間および定量値は一致する。そこで、同一ペプチドに由来する4つの娘イオンを検出する4つのMRMチャンネルを設定し、それぞれから得られる定量値から定量対象ペプチドの定量値を算出する。3つ以上のMRMチャンネルからの得られた定量値の平均値を定量対象ペプチドの定量値とすることで、定量値の信頼性を高めている。このように定量値にアミノ酸配列の情報を付加することによって抗体を超える信頼性を実現している。一つの定量対象ペプチド当たり8チャンネルを用いるため300MRMチャンネルで、37分子を同時に定量することができる。

以上のように、本開発技術は、網羅的にタンパク質を同定する従来のプロテオミクスとは根本原理が異なり、標的とするタンパク質を限定し、その標的タンパク質群を高感度で絶対発現量を測定する標的絶対プロテオミクス(Targeted Absolute Proteomics)である。



1タンパク質→1ペプチド→4チャンネル/標的ペプチド+4チャンネル/安定同位体標識ペプチド

図10 Multiplexed MRM 法による定量値の高い信頼性

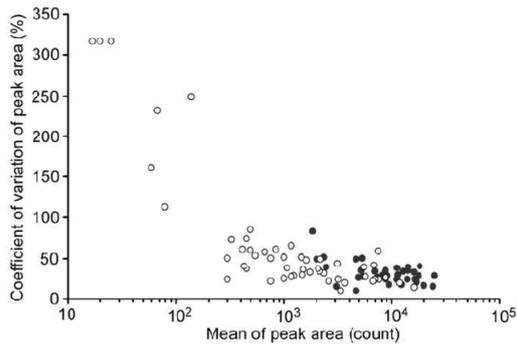


図 11 *In silico* 選択基準による選択ペプチドの感度

In silico 選択基準による選択ペプチド (10 fmol; ●) と Human serum albumin のトリプシン消化ペプチド群 (10 fmol; ○) のピーク面積 (横軸) とぶれ (縦軸)。

第1次クライテリア (必須項目)	
質量分析計で検出するために必要な条件	
6から16アミノ酸からなる	
翻訳後修飾部位を含まない	
Single Nucleotide Polymorphism (SNP) を含まない	
安定したトリプシン消化に関する条件	
膜貫通領域を含まない	
消化領域にアルギニン、リジンの連続配列を含まない	
ペプチドの安定性に関する条件	
メチオニン、システインを含まない	
安定同位体標識するために必要な条件	
ロイシン、イソロイシン、バリン、アラニン、プロリンのいずれか一つを含む	
第2次クライテリア (追加項目)	
8から10アミノ酸からなる	
ヒスチジンを含まない	

表 2 定量対象ペプチド選択基準

5. 遺伝子情報からのタンパク質の定量系の構築の実現

図 11 は、ヒトアルブミンのトリプシン分解物を質量分析装置で検出したものである。ペプチド間のイオン化効率の違いによって数千倍も検出強度が異なり、高い強度を示すペプチドは定量精度も高い。定量対象のタンパク質を高発現するサンプルがある場合、質量分析計で定量に適したペプチドを選択することができる。しかし、そのようなサンプルがない場合、定量対象ペプチドを選択できない。この課題を解決するために、イオン化効率とアミノ酸配列を解析し、表 2 に示す条件を考慮することで定量に適したペプチドを選択することができるようになった。図 11 の●は、この *in silico* 設計法に基づいて選択したペプチドの有用性を示している。この設計法によって遺伝子情報のみから定量系を構築することが可能となる。

本手法を用いることによって従来のショットガンプロテオミクスにおいては同定できなかったトランスポーター37 分子の同時定量に世界で初めて成功した (表 3)。本解析においては、複数分子 (Glut1, Mdr1a, Bcrp) に関して既存の抗体など特異的結合化合物によるタンパク質の定量値と、本定量法による定量値とが一致することを確認している。さらに、アミノ酸配列が非常に似ており、これまで抗体によって区別ができなかった分子 (mdr1a と mdr1b) を区別して定量することにも成功している。

分子	絶対発現量 (fmol/mg protein)			
	脳毛細血管 (細胞ライゼート)	肝臓 (細胞膜成分)	腎臓皮質 (細胞膜成分)	腎臓髓質 (細胞膜成分)
Mdr1a (peptide1)	15.5 ± 0.84	N.D.	N.D.	N.D.
Mdr1a (peptide2)	12.7 ± 0.53	N.D.	N.D.	N.D.
Mdr1b	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Mdr2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Bsep	N.D.	6.65 ± 0.19	N.D.	N.D.
Mrp1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Mrp2	N.D.	7.05 ± 0.62	4.94 ± 0.48	N.D.
Mrp3	N.D.	3.64 ± 0.54	N.D.	N.D.
Mrp4	1.59 ± 0.07	N.D.	0.22 ± 0.04	0.72 ± 0.05
Mrp5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Mrp6	N.D.	5.11 ± 0.18	N.D.	N.D.
Mrp7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Mrp9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Bcrp (peptide1)	4.02 ± 0.29	8.18 ± 0.40	56.4 ± 1.82	25.9 ± 1.35
Bcrp (peptide2)	4.80 ± 0.15	8.84 ± 0.22	53.4 ± 1.62	23.8 ± 0.95
Abcg5	N.D.	2.82 ± 0.19	N.D.	N.D.
Abcg8	N.D.	3.54 ± 0.12	N.D.	N.D.
Oct3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
4F2hc	16.4 ± 0.34	2.06 ± 0.08	20.9 ± 0.70	9.61 ± 0.31
Asct2	1.58 ± 0.13	N.D.	2.21 ± 0.10	3.09 ± 0.12
Ata2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Nat	N.D.	10.3 ± 0.23	N.D.	N.D.
Gat2	N.D.	2.79 ± 0.14	N.D.	N.D.
Glut1	90.0 ± 2.87	1.87 ± 0.17	N.D.	40.4 ± 1.83
Mct1	23.7 ± 0.87	18.8 ± 0.66	9.51 ± 0.38	4.37 ± 0.18
Lat1	2.19 ± 0.09	N.D.	N.D.	N.D.
Net	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Ntcp	N.D.	17.1 ± 1.15	N.D.	N.D.
Oat1	N.D.	N.D.	12.7 ± 0.60	3.00 ± 0.16
Oat3	1.97 ± 0.07	N.D.	4.66 ± 0.14	0.94 ± 0.07
Oatp1	N.D.	42.9 ± 2.57	12.1 ± 0.79	2.86 ± 0.17
Oatp2	2.11 ± 0.12	1.65 ± 0.14	N.D.	N.D.
Oatpf	2.41 ± 0.16	N.D.	N.D.	N.D.
Tait	3.81 ± 0.60	N.D.	3.20 ± 0.27	4.95 ± 0.25
Mate1	N.D.	N.D.	6.35 ± 0.34	1.37 ± 0.20
Mate2 homolog	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Na ⁺ /K ⁺ ATPase	39.4 ± 1.01	33.5 ± 1.06	254 ± 7.55	559 ± 26.1
γ-GTP	4.37 ± 0.25	N.D.	180 ± 8.16	81.1 ± 5.25

表 3 マウス臓器におけるトランスポータータンパク質の絶対発現量プロファイル

6. 高感度化への挑戦:nanoLC-MS/MSによる高感度定量

これまで述べてきたように開発技術は、

1. 質量分析計を用いた質量による定量対象ペプチドの選択
2. 内部標準と複数の MRM チャンネルを用いた定量対象ペプチドの同定と定量
3. In silico 選択基準による遺伝子情報からの定量対象ペプチドの選択

を実現したことによって、抗体によるタンパク質解析と比較して定量系の構築に必要な時間を著しく短縮し、さらに、信頼性、安定性と特異性の劇的な向上を実現した。親和性の高い優れた抗体と比較して唯一劣っている点は、感度である。ABI 社製 API5000 と HPLC の組み合わせにおいて定量限界が 10-50 fmol であるのに対し(図 12)、優れた抗体による ELISA や Western blot の定量限界は 1 fmol かそれ以下である。そこで、我々は、質量分析計ではなく液体クロマトグラフィ(LC)側の開発によって高感度化を図った。

	分離流速	解析タンパク量	検出限界
HPLC +API5000	50 μ L/min	50-100 μ g-assay	10-50 fmol/assay
nanoLC +4000QTRAP	0.1 μ L/min	5 μ g/assay	1-10 fmol/assay



HPLC+API5000



nanoLC+4000QTRAP

図12 稼働中の2つのLC-MS/MSシステム

LCと質量分析計のシステム(LC-MS/MS)としての感度は、質量分析計自身の感度に加え、LCの分離能や流速に依存する。LC-MS/MSでは、LCの流速を低速にすると溶媒中の測定分子の濃度が上昇するために感度が上昇する。MRM モードを用いた定量においては、低流速化は技術的に困難であるために、ほとんど行われてこなかった。我々は、nanoLC を質量分析計(ABI 4000QTRAP)に接続し、従来の 500 分の 1 の流速である 100 nL/min で定量解析を行うことに成功した(図 12)。技術的制約から API5000 よりも質量分析計としての感度が劣る 4000QTRAP との接続による解析であったが、約 1 桁の感度上昇を実現し、1-10 fmol の定量限界で信頼性と安定性の高い定量を実現した。

nanoLC/4000QTRAP システムにおいても優れた抗体の感度にわずかに及ばない。そこで、最新質量分



図13 稼働開始中の新 LC-MS/MS システム

析計であるABI QTRAP5500を導入し、世界に先駆けて nanoLC 接続による定量システムの構築を進めている(図 13)。試運転段階ではあるがすでに、HPLC/API5000 と比較して二桁の感度上昇が確認されており、本システムの完成によって、抗体と同レベル、もしくは抗体以上の感度によるタンパク質同定・定量が実現されることが期待される。

7. オンディマンドタンパク質定量の実現に向けて

本開発技術を応用することによってタンパク質科学の研究者の一つの悲願であるオンディマンド(必要な分子を必要ときに短時間で)によるタンパク質定量系の構築が可能となる(図 14)。その実用化を科学技術振興機構大学発ベンチャー創出推進の「オンディマンド型の蛋白質絶対定量キットの開発」プロジェクトとして進めている。定量 PCR においては、最適な PCR プライマーを設計し、オリゴヌクレオチドを合成し、さらに特定のファミリー分子に対するプライマーライブラリをキットとして販売している。このビジネスモデルが開発技術によってタンパク質科学においても初めて可能となる。すなわち、最適な定量対象ペプチドを遺伝子情報から設計し、ペプチドを合成し、最適条件を研究者に提供する。さらに、重要なファミリー分子は、定量対象ペプチドライブラリをキットとして販売する。このサービスによって、遺伝子と同様にオンディマンドで複数分子のタンパク質定量系を容易に構築できるようになる。このようなサービスを実用化することによって、最初に述べたバイオマーカー探索のボトルネックを克服し、バイオマーカーの同定を加速することができる。

上記で述べたような定量対象ペプチドライブラリのキットは、診断キットとしても有用である。抗体と比較した大きな利点は特異性と価格である。本開発技術は質量分析計を用いているために、極めて高い特異性を有しており、1 アミノ酸の違いや修飾の違いを確実に区別して測定することが可能である。このため測定系に起因する擬陽性を PCR と比較してもきわめて低くすることができる。さらに、抗体を用いたキットは非常に高価であるが、本定量系のランニングコストの大部分はペプチド合成費用であり、大量合成によって 1 測定 1 円以下/ペプチドで実施することが可能である。

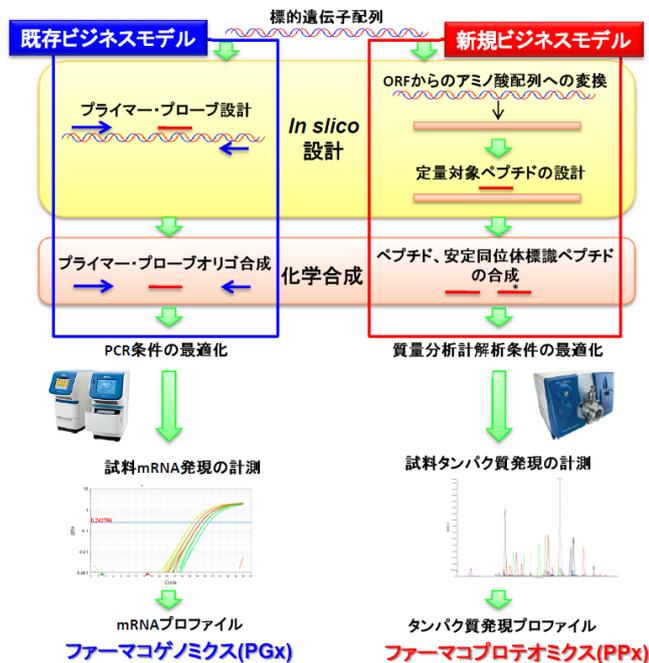


図14 遺伝子およびタンパク質のそれぞれのオンディマンド定量系構築のスキームとビジネスモデル

8. おわりに

以上述べてきたように、三連四重極型質量分析計を用いた Multiplexed MRM 法の開発によって、タンパク質において半網羅的な定量的プロファイル解析が初めて可能となった。本技術は、タンパク質科学に全く新しい領域を提供することで、今後の活用が期待される。37 分子の同時定量数は基礎研究段階の標的タンパク質の数として十分な分子数である。しかし、新薬開発のシーズ探索への応用を視野に入れ、さらなる同時測定分子数の向上を目指し、開発を継続している。

バイオマーカー探索に関しては、ガンの薬剤耐性、感受性のバイオマーカーの探索と分子機構の解析を行っている(図 15)。ガン細胞の薬剤耐性・感受性に関与すると報告されているトランスポーター、受容体、酵素合計 100 分子の定量系を構築し、培養細胞レベルでは、発現プロファイル解析から複数のバイオマーカーを選択し個別の薬剤耐性の特性を予測し克服することを示している。今後、治療プロトコルに反映することができれば、個別化治療の応用としてきわめてその重要性は大きくなる。従来、このようなプロファイル解析は

遺伝子行われておりファーマコゲノミクス(Pharmacogenomics; PGx)として各分野で大きく扱われている。開発技術を用いることによってプロファイル解析をタンパク質で実践すること、すなわちファーマコプロテオミクス(Pharmacoproteomics; PPx)が初めて可能となった。生命においてはタンパク質が機能実体であり、特定の場のタンパク質発現は機能ときわめてよい相関を示す。すなわち、ファーマコプロテオミクスはファーマコゲノミクスよりも高感度、高信頼性で新しいバイオマーカーの同定につながることを期待される。

開発を行ったタンパク質群一斉定量技術は、タンパク質検出技術におけるパラダイムシフトとなる技術であり、ファーマコプロテオミクスのコア技術として今後 10 年のプロテオミクスとバイオマーカー探索の重要技術として発展するであろう。本技術は、プロテオミクスと質量分析計の分野外の研究者と専門家が同じ方向性で開発を行い、これまでの概念にとらわれない技術開発を行えた成果である。本開発技術によって優れたバイオマーカーが同定され、診断、個別化治療、そして再生医療に応用されることによって、患者の Quality of Life の向上に少しでも貢献できれば幸いである。

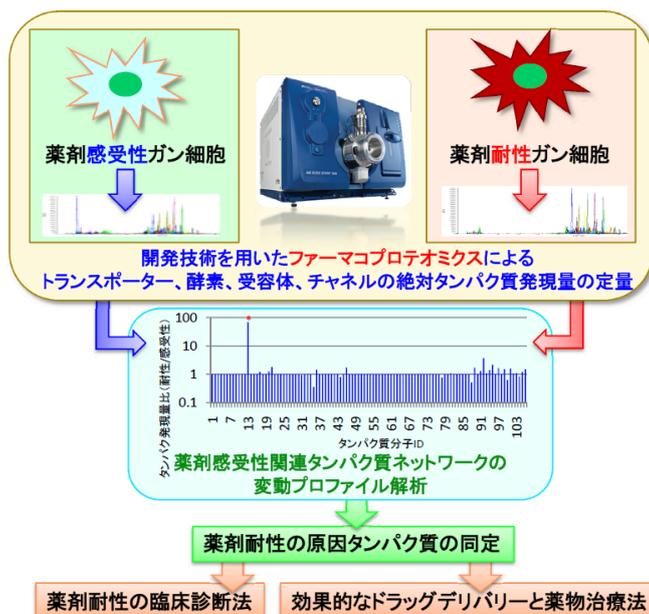


図 15 開発技術を用いたファーマコプロテオミクスによるバイオマーカー探索と個別化治療への発展

【参考文献】

特許出願リスト

1. 日本：特願 2007-544097、アメリカ：12/093,133、EU：06822538、カナダ：2,628,708、オーストラリア：2006313253、インド：4197/DELNP/2008、中国：200680041752.6、韓国：2008-7013757
「質量分析計を使った膜タンパク質の定量方法」 発明者：上家潤一、大槻純男、寺崎哲也
2. 特願 2008-251212 「質量分析装置を用いた代謝酵素群の一斉タンパク質定量に用いるペプチド」 発明者：上家潤一、大槻純男、寺崎哲也
3. 特願 2009-039937 「質量分析装置を用いたタンパク質定量のための評価用ペプチド、人工標準タンパク質、及びタンパク質の定量方法」 発明者：大槻純男、上家潤一、寺崎哲也

論文リスト

1. J. Kamiie, S. Ohtsuki, R. Iwase, K. Ohmine, Y. Katsukura, K. Yanai, Y. Sekine, Y. Uchida, S. Ito, T. Terasaki: Quantitative atlas of membrane transporter proteins: Development and application of a highly sensitive simultaneous LC/MS/MS method combined with novel in-silico peptide selection criteria. Pharm. Res., 25:1469-1483 (2008)
2. J. Niessen, G. Jedlitschky, M. Grube, S. Bien, H. Schwertz, S. Ohtsuki, H. Kawakami, J. Kamiie, S. Oswald, K. Starke, U. Strobel, W. Siegmund, D. Roskopf, A. Greinacher, T. Terasaki, HK. Kroemer: Human platelets express OATP2B1, an uptake transporter for atorvastatin. Drug Metab Dispos, Epub ahead of print