

## 質量分析法を用いた定量ケミカルプロテオミクスによるキナーゼ阻害剤の標的分子解析

室井 誠

質量分析法を用いたプロテオミクスは膜蛋白質などの様に2次元電気泳動では解析のできない蛋白質の解析もできたり、蛋白質の同定が同時にできたりするなどの利点を持つが、装置が比較的大掛かりになり、定量性や修飾を考慮に入れた差異解析にはあまり適していなかった。以前の雑誌会(JC 313)でICAT試薬を用いて、質量分析法を用いたプロテオミクスでも差異解析が行なえる事を紹介したが、それよりも進んだiTRAQという手法も現在では利用できる様になり、フォーカスドプロテオミクスでは威力を発揮する様になってきた。今回、iTRAQの技術とキナーゼ阻害剤のビーズの技術をうまく組み合わせて、キナーゼの標的分子解析している報告があったので紹介する。

### 紹介論文

Quantitative chemical proteomics reveals mechanisms of action of clinical ABL kinase inhibitors  
Bantscheff, M., Eberhard, D, et al. & Drewes, G. (Cellzome AG, Heidelberg, Germany)  
Nature Biotechnology, 25, 1035-1044 (2007)

### 要旨

本論文では、内在的に発現している数百のプロテインキナーゼやプリン結合蛋白質と低分子のインタラクションをプロファイルするケミカルプロテオミクスのアプローチについて述べられている。非選択的キナーゼ阻害剤を固定化したビーズ(kinobeads)を用いてサブプロテームを捕捉し、結合蛋白質をisobaric tags for relative and absolute quantification(iTRAQ)を用い、いくつもの蛋白質を並行して定量解析する。アフィニティービーズへの競合実験を行なう事によって、薬物の標的分子への結合を細胞ライゼートや細胞内レベルで評価した。捕捉されたプロテオームのリン酸化状態の薬剤によって引き起こされる変化をマッピングする事によって、標的となるキナーゼのシグナリング経路をも解析した。K562細胞をもちいてイマチニブ(Gleevec)、ダサチニブ(Sprycel)やボスチニブの定量的プロファイリングを行なったところ、ABL並びにSRCファミリーキナーゼを含む既知の標的分子が確かめられた事に加え、受容体チロシンキナーゼDDR1と酸化還元酵素NQO2がイマチニブの標的分子として同定された。これらのデータから、このようなアプローチは薬剤開発において有効である事が示唆される。

### 参考論文

On the iTRAQ of kinase inhibitors  
White, F. M. (University of Cambridge, MA), Nature Biotechnology 25, 994-996 (2007)