

生細胞の細胞外エピトープを標的としたリガンドの ハイスループットスクリーニング

近藤恭光

我々は、化合物アレイをタンパク質の小分子リガンドを探索するためのツールとして使用しているが、そのためには、タンパク質を可溶化して細胞から取り出してくることが必要である。可溶化できないタンパク質、膜タンパク質などは、解析の対象から外れてしまう。新たな試みとして、膜タンパク質に結合する小分子リガンドを探索する手法として、これを高発現させた細胞や無細胞系で発現させた膜タンパク質を包埋したリポソームを用いて、直接化合物アレイに結合させて探索する手法の開発を計画している。以前、病原菌を直接化合物アレイに結合させ、細菌表面に結合する小分子リガンドを探索する手法をジャーナルクラブで紹介したが、同じグループが哺乳類細胞を化合物アレイに処理して、その膜タンパク質に結合するリガンドを探索する手法について、詳細な処理条件の検討を行っており参考になるので、この論文を紹介する。

紹介論文

Screening of small molecule microarrays for ligands targeted to the extracellular epitopes of living cells.

J.H. Lee, K. Bao, J.V. Frangioni, & H.S. Choi

(Division of Hematology/Oncology, Department of Medicine, Beth Israel Deaconess Medical Center and Harvard Medical School, Boston, MA, USA)

Microarrays 4, 53-63 (2015)

要旨

ハイスループットなマイクロアレイを用いた生細胞のスクリーニングは、技術的にチャレンジングである。リガンドの化学的な提示とそれらと細胞が衝突する数について細心の注意を払わなければならない。これらの問題を克服するために、単一のレセプターが異なる細胞を見分けて選択的に結合する小分子リガンドを探索するためのマイクロアレイシステムを開発した。化合物のスポットは、直径 $300 \pm 10 \mu\text{m}$ であり、ガラススライドに共有結合してある。発光波長が 700 nm と 800 nm の新しい近赤外の蛍光色素を使って、二つの異なる細胞タイプを標識する。注意深くインキュベーションの条件（細胞密度、動き、反応速度論、検出など）を最適化することによって、我々は細胞とリガンドの結合が起こることと化合物スポットあたりの結合した細胞数がリガンドの親和性と特異性に相関することを実証する。このスクリーニングシステムは細胞表面に対する新たなリガンドをハイスループットに探索するための基盤を構築する。