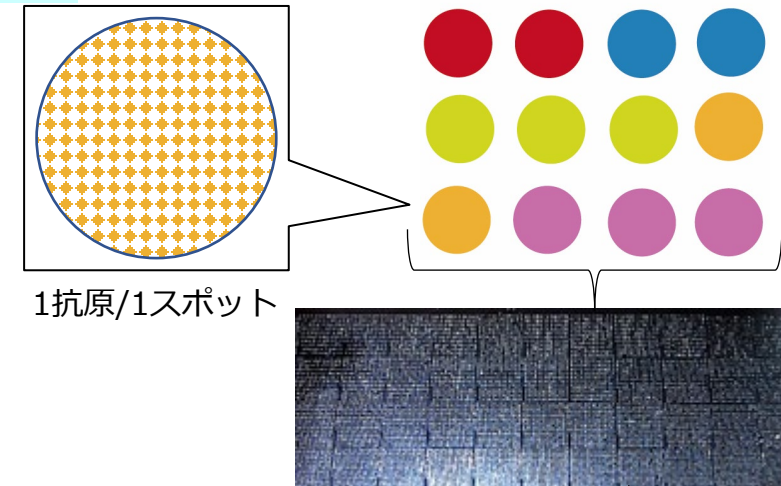
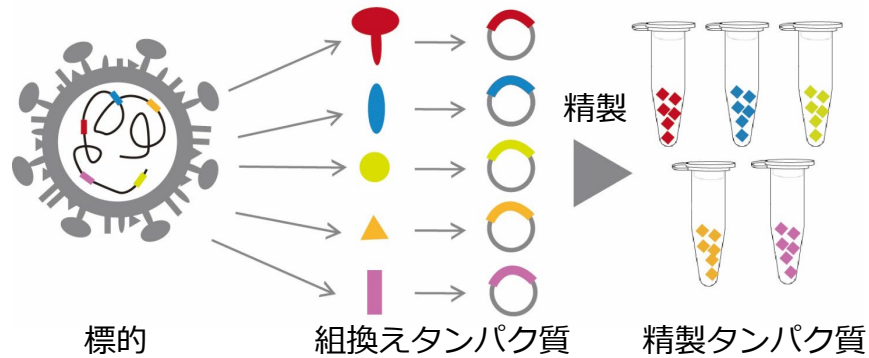


タンパク質マイクロアレイ解析 搭載サンプルについて

弊社のマイクロアレイに搭載されているタンパク質は、順相サンプルと逆相サンプルに分けられます。

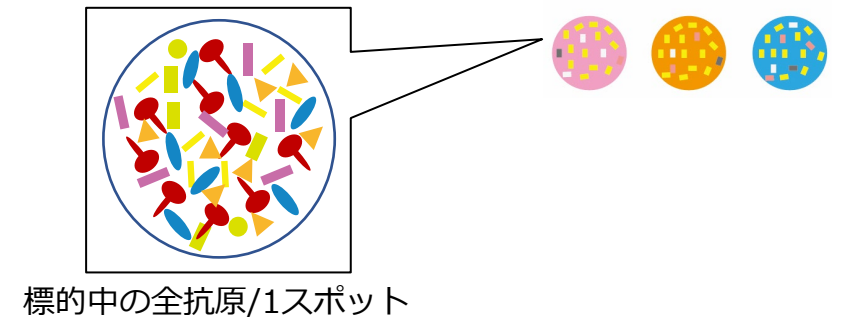
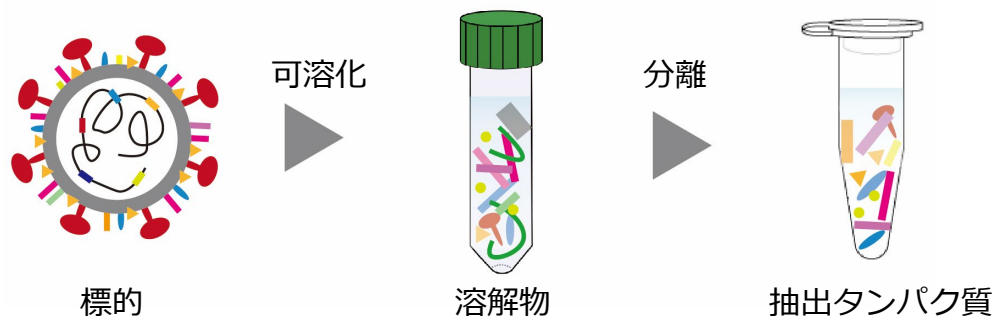
順相サンプル

- ・ 組換えタンパク質を精製したもの
 - ・ 1つのスポットに1種類のタンパク質（抗原）を搭載している
- 細胞やアレルゲン、微生物に含まれるタンパク質のうち、どれを抗原としているか、微生物の感染を防御するために有効な抗体を持っているか、などの詳細な情報が得られる



逆相サンプル

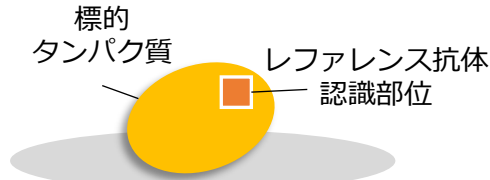
- ・ 微生物マイクロアレイおよびアレルゲンマイクロアレイの一部で使用
 - ・ アレルゲンや微生物の抽出タンパク質画分
 - ・ 1つのスポットには1種類のサンプルに由来する、あらゆる抗原が含まれている
- アレルゲンや微生物そのものに対する抗体の有無を評価することができる



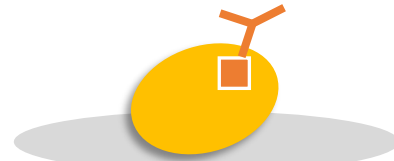
タンパク質マイクロアレイ解析 測定について

測定方法

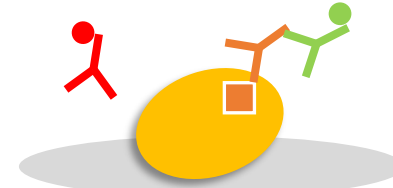
陰性対照



①ブロッキング

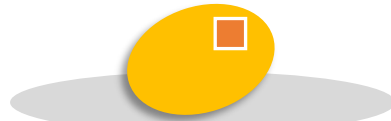


②レファレンス抗体のみを添加してインキュベート

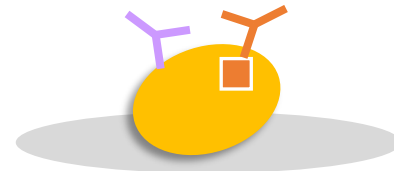


③2種類の蛍光標識抗体を添加してインキュベート

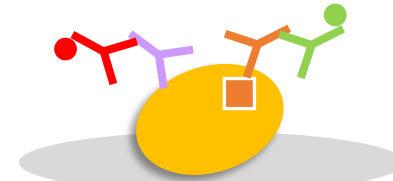
サンプル



①ブロッキング



②サンプルとレファレンス抗体を添加してインキュベート



③2種類の蛍光標識抗体を添加してインキュベート

レファレンス検出系

Y (緑) 蛍光色素 (緑) 標識
二次抗体

Y (オレンジ) レファレンス抗体*

サンプル検出系

Y (赤) 蛍光色素 (赤) 標識
二次抗体

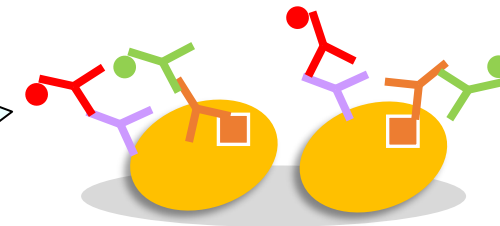
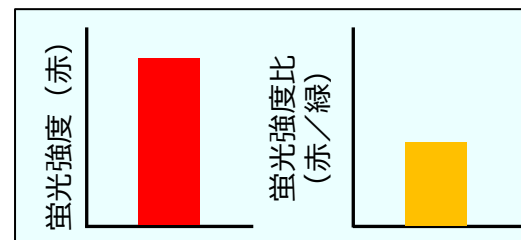
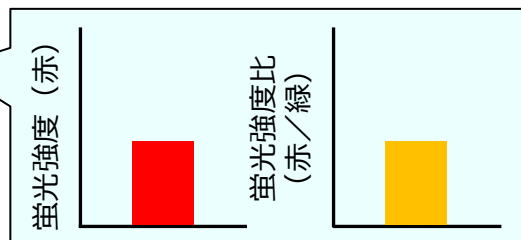
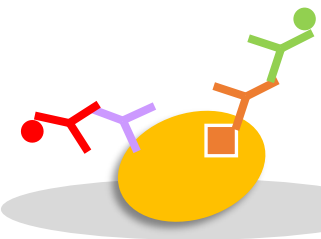
Y (紫) 抗標的タンパク質
抗体

2色法による補正

タンパク質マイクロアレイでは、1スポット当たりの液量が数nLと極微量なため、タンパク質量を揃えることは困難です。このため、測定サンプルとともにレファレンス抗体*を加えて共染色し (=2色法) 両者の蛍光強度比を解析に用いることで、スポットごとのタンパク質量のばらつきを補正します。

タンパク質量によってサンプルの蛍光強度は異なるが、レファレンスとの蛍光強度の比は同じ

→タンパク質量のばらつきを補正するために、解析に蛍光強度比を使用する



*レファレンス抗体：

複数の抗体を混合した溶液中で、様々なタンパク質に結合する。このため、各スポットのタンパク質量の指標とすることができる。

タンパク質マイクロアレイ解析 データ解析について

スポットの検出

正規化

二次比の算出

解析方法

- ・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)

- ・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 X と前述の平均値 μ の差を算出

$$X' = X - \mu$$

- ・各スポットについて、サンプルの測定値と陰性対照の測定値の差を算出 (対数値なので割り算)

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)

(スポットの検出と同一)

- ・サンプル、陰性対照ともに検出できたスポット

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

(スポットの検出から増減なし)

- ・サンプルまたは陰性対照のいずれかが検出できなかったスポット

