

- Compare Protein Scores : 比較して一覧表示したい Combine Group の指定を行う画面。ICAT サンプルの測定結果については、Combine Mascot Results 画面で生成した ICAT light 標識サンプル由来の Combine Group と ICAT heavy 標識サンプル由来の Combine Group を本画面で指定することにより、これらのサンプルにおけるペプチドレベル及びたんぱく質レベルでの ICAT 定量比を表示することが可能。
- Manually Filter & Annotate : Results Viewer のメイン画面であり、たんぱく質同定・比較定量結果を閲覧・編集することができる。Protein Identified サブ画面、Peptide Details サブ画面、Spectrum Details サブ画面から構成される。Protein Identified サブ画面には、Configuration 画面で指定された Mascot スコア以上で同定されたたんぱく質リストが表示される。その中の一つを指定すると、そのたんぱく質を構成する同定ペプチドのリストが Peptide Details サブ画面に現われる。さらに、ペプチドの一つを指定すると、そのペプチドが同定される。MS/MS スペクトルのマッチング情報が Spectrum Details サブ画面に表示される。本画面には様々なフィルタリング機能が内蔵されており、冗長な関連たんぱく質群の除去や Mascot 偽陽性結果の排除などの煩雑な編集作業を容易にすることが可能。

C. 研究成果 1 :

1) 創薬プロテオームファクトリー施設倫理審査委員会の設立 :

研究協力機関（7 医療機関）より提供される患者試料を用いてプロテーム解析を行う場合、業務計画内容のみならず臨床情報、ヒト試料等の匿名化、送付・受領法に関して、倫理的配慮の下で適正であるか審査を受けなければならない。そのため、厚生労働省の「臨床研究に関する倫理指針（平成 16 年 12 月 28 日改正）」に従い、本施設の倫理審査委員会を設置し、各研究協力機関独自の倫理審査とあいまって慎重かつ適正な審査体制を整備した。倫理審査委員会のメンバーは、内部委員 1 名、外部委員 6 名であり、以下の通りである。

創薬プロテオームファクトリー施設倫理審査委員会

- 同 委員長： 岡田 善雄（(財)千里ライフサイエンス振興財団、外部委員）
- 同 委員長代行： 横田 正幸（(財)ヒューマンサイエンス振興財団、内部委員）
- 同 委員： 脇舩 光廣（武田薬品工業（株）、外部委員）
- 同 委員： 神崎 俊彦（一般市民、外部委員）
- 同 委員： 谷本 剛（医薬基盤研究所、外部委員）
- 同 委員： 玉岡 かおる（作家、外部委員）
- 同 委員： 手嶋 豊（神戸大学大学院法学研究科、外部委員）

これまでに、6 回の倫理審査委員会が開催され、5 研究協力機関からのヒト試料の受け入れおよび研究計画について審議し、いずれも承認された。なお、既に 3 研究協力機関（国立成育医療センター、国立精神・神経センター、国立国際医療センター）よりヒト試料を受け入れた。

研究課題（審査順）

- 国立成育医療センター： 腎疾患および免疫・アレルギー疾患における原因たんぱく質の探索
- 国立精神・神経センター： パーキンソン病およびパーキンソン症候群における原因たんぱく質の探索
- 国立長寿医療センター： 痴呆、骨粗鬆および褥瘡疾患における原因たんぱく質の探索
- 国立国際医療センター： 糖尿病合併症動脈硬化性疾患における原因たんぱく質および疾患マーカーの探索
- 大阪府立成人病センター： 各種がん疾患における原因たんぱく質および疾患マーカーたんぱく質の探索

2) 匿名化システムの構築：

創薬プロテオームファクトリープロジェクトでは、ヒト試料等提供者の個人情報を厳重に守るため、研究協力機関（一次匿名化）と PF（二次匿名化）で二重に匿名化され、限定された人以外、提供者を特定することができないシステムを構築した。

すなわち、研究協力機関側で発行される一次匿名化番号は、試料の提供元を表す ID、患者の ID、試料の種類を表す ID、同じ患者からの試料の採取回数、分注本数で構成した。研究協力機関側から、一次匿名化番号シールを貼付したチューブに分注した試料、匿名化番号ごとのヒト試料等提供通知書、臨床情報通知書および暗号化した臨床情報（Excel シート）を PF に送付して頂くことにした。なお、臨床情報は PF の個人情報管理室内の鍵付きの保管庫に厳重に保管した。

一次匿名化番号体系：

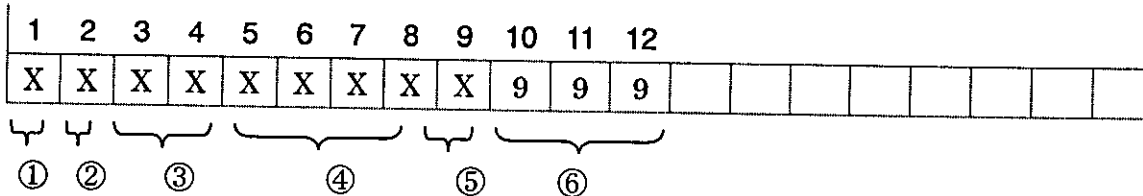
1	2	3	4	5	6	7	8	9										
X	X	X	X	X	X	X	9	9										

① ② ③ ④ ⑤

No	項目名	桁数	説明	例
①	機関区分	1	試料提供元の協力機関の ID	B,C,D...
②	試料 ID	4	患者毎に振られるランダムな 4 桁の英数字	0000~ZZZZ まで
③	試料区分	1	試料の種類を表す区分	血清：S、組織：T
④	時系列識別番号	1	試料の時系列を表す番号	1 回目：1
⑤	小分け No	2	上記③毎に小分け毎の連番	01~99 まで

一方、プロテオームファクトリー施設側で発行する二次匿名化番号は、固定文字 P、試料提供元を表す ID、プロジェクトを表す ID、試料、試料区分、同じ患者からの試料の採取回数、分注本数で構成した。番号体系を定義付けることで、担当者が取り扱う試料を判別しやすくし、試料の取り間違いなど的人為的なミスが無いようにした。なお、二次匿名化は厳重に管理されている個人情報管理室で個人情報管理者によって行われる。

二次匿名化番号体系：



No	項目名	桁数	説明	例
①	固定文字	1	二次匿名化試料であることを表す固定文字	P
②	機関区分	1	試料提供元の協力機関の ID	B,C,D...
③	プロジェクト ID	2	疾患を表す ID	がん：CA
④	試料 ID	4	患者毎に振られるランダムな 2 桁の英数字	0000~ZZZZ まで
⑤	試料区分	1	試料の種類を表す区分	血清：S、組織：I
⑥	時系列識別番号	1	試料の時系列を表す番号	1 回目：1
⑦	小分け No	2	上記③毎に小分け毎の連番	01~99 まで

3) 試料管理システム (Laboratory Information Management System, LIMS)：

PF に送付された試料は厳重に管理された試料保管室の -140℃のフリーザーに保管した。実験に使用する場合は必ず「試料請求申請書」に日時、試料の種類、二次匿名化番号、使用量を記入して、総務部門長、生体試料分析部門長、施設長の許可（押印）を得た上で使用するシステムを構築した。これにより、試料の残量が正確に把握でき、試料の厳重な管理が可能になる。なお、使用済みの試料は滅菌処理後廃棄する。また、フリーザー等の保守管理のために非常用電源確保および委託業者による点検を行うこととした。二次匿名化された試料の情報は LIMS で確認できる。なお、LIMS は、指紋認証によってログインする特定パソコンでのみで閲覧可能である。

4) 機器研修：

平成 16 年度 4 月より、実際に研究員が PF に入所したので、機器納入業者による各種分析機器類の標準仕様および標準サンプルを用いる以下の研修を行った。(1) Cell Sorter FACS Aria

(BD), (2) LCQ-Deca-XP(Thermo ELECTRON), (3)Laser Microdissection system (Leica), (4) Ettan DIGE/Spot Handling Workstation (Amasham), (5) MALDI-TOF/TOF-ABI-4700 (ABI), (6) AXIMA-QIT (島津), (7) ABI-Q-Star XL(ABI), (8) Vision-PF system (SCX, Avidin affinity), (9) nano-LC/Probot system (LC-Packings), (10) SELDI-TOF (Ciphergen), (11) Ultraflex TOF/TOF (Bruker), (12) ABI PKSM 7900 HTR-PF(ABI), (13) GeneChip Fluidics Station (Affymetrix), (14) Agilent 2100 Bio-analyzer (Agilent), (15) Mascot/HiSpec (Hitachi)等。一応の基準はクリアしたが、高性能を発揮するためには特別な調整が必要であることが分かった。

5) 質量分析機器類の PF 特別仕様用対策の検討：

通常の測定室レベルでのクリーン度および質量分析機機器メーカーより提供された標準仕様であると、PF で要求される高感度、精密かつ高いハイスループット性を満足させることはできない。そのために、以下の対策を行った。

(1) 質量分析測定室の改造：

測定室の空気中に漂うダストをできるだけ除くため、特別仕様のフィルターをエアコンに装着し、室内空気を循環させた。その結果、ダスト (0.3 μ m) は従来の約 1/10 に減少させることができ、質量測定時に妨害するシリコン粒子も低下させることが可能になった。

(2) nano-LC/Q-Star システム：

当初、10台のQ-Starを常時連続フル稼働で測定すると、想定外の種々のトラブルが続出した。そこで、各種パーツを改良品 (fused silica tube 等) に交換し、nano-LC のトラブルを解消した。また MS 本体と nano-LC とのコミュニケーションエラーを解決するために、信号のやり取りを1回 (スタート時) にした。これにより、コミュニケーションエラーは解消し、さらに、nano-LC のモニターが可能になったため、何らかの異常があった場合いち早く認知可能になった。

試料を測定するための、SOP を策定し、試料測定前と測定後に 50 fmol の BSA トリプシン断片を測定し、その配列カバー率が 40%以上の値を示した時のみ試料の測定値として採用した。これにより、Q-Star 機種同士の誤差および測定者による誤差は殆ど解消することができた。なお、一部の nano-LC は split flow type から、より信頼性の高い direct flow type に交換した。また、Q-Star の恒常的な性能確保のため、常時 7-8 台を稼働させ、2-3 台を保守・点検・整備に回すことにした。

(3) nano-LC/Probot/ABI-4700-Proteomics Analyzer system(ABI-4700):

nano-LC から溶出画分を MALDI-金属プレートに分注する装置 Probot system (8 台、LC-Packings 製) は 6 枚の金属プレートに連続して正確に分注することはできなかった。その原因を探ったところ、プレートを支えるステージに基本的な欠陥が見出された (修理・修正不可能)。そこで、日本のメーカー (バイオロジカ) に特注したメラニン樹脂製 (削り成型) のステージを使用した結果、ほぼ正確に 6 枚の金属プレートに連続注入可能になった。nano-LC に関しては、peek tube から低吸着の peek-coated fused silica tube に変更することにより、脂溶性の高いペプチドの回収率を 6・10 倍上げることが可能になった。また、試料を LC で分画する場合は、試料分画前と分画後に、アンジオテンシン断片 (5 種) を分画し (UV でモニター)、一定の基準を満たした時のみのものを採用した。これにより、機種間および測定者による誤差は殆ど見られ

なくなった (SOP 策定済み)。

ABI-4700-Proteomics Analyzer (ABI-4700)は、内部のハードパラメーター (Time ion selector) を変更し、cICAT ペプチド解析用仕様に設定した。また、質量誤差補正用に6種類のペプチド (Angiotensin I, ACTH(1-7), ACTH(8-39), ACTH(7-38), Des-[Arg¹]-bradykinin) を外部標準として使用し、質量誤差 (Δ) を0.1以下にした。ABI-4700を常時4台稼働させ、1台は保守・点検・整備に回すことにした。

(4) LCQ Deca XP system(以下, LCQ とする):

空気中のダスト (シリコンポリマー) の影響を受けやすい本機種に特製のガラスフードを装着し、さらに窒素ガスパージシステムにより、測定感度を大幅に向上させた。また、1台は低分子化合物解析用にも使用できるように設定した。

6) 統合データベースシステムの構築:

(1) 統合データベースシステムの稼働

平成17年3月現在、PFで稼働している統合データベースシステム: HiSpec (質量分析計の測定データをサーバに転送し、各種自動解析処理を行って、最終的に得られたたんぱく質同定結果・比較定量結果を統合データベースに登録する一体化システム) の概要を次図(図1)に示す。

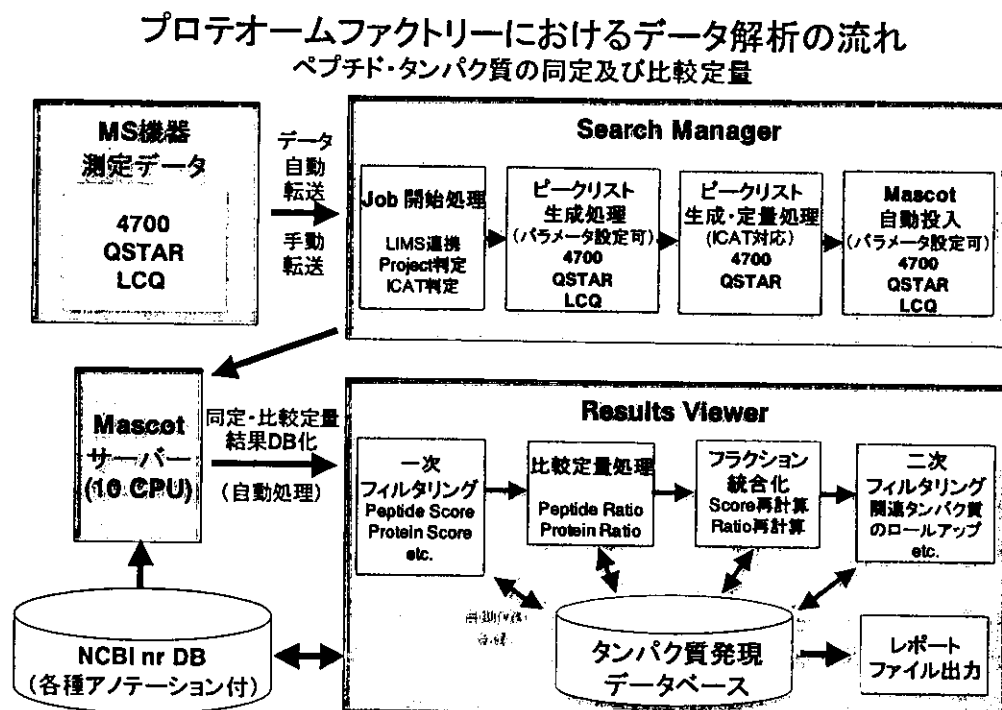


図1. プロテオームファクトリーにおけるデータ解析の流れ

本システムは、①ピークリスト生成等の前処理部分 (Search Manager)、②たんぱく質同定エンジン (Mascot サーバ)、③同定・比較定量結果の後処理部分 (Results Viewer)、④たんぱく質同定・比較定量結果が格納される、たんぱく質発現データベース (統合データベース) から構成される。以

下、個々の機能について得られた成果を述べる。

(2) Search Manager 機能

Search Manager によって、データベース構築用の質量分析計：ABI-4700、Q-Star、LCQ で測定された生データのサーバへの自動転送が安定稼働できた。また、Search Manager のユーザインターフェイスを新たに構築し、研究者（ユーザ）が個別に測定データをサーバに登録し、個々の解析を実行することも可能にした（半自動処理）。ABI-4700 は機器付属 PC 上の専用データベースで測定データを管理する。ユーザは機器番号、プロジェクト名、スポットセット名、MS 及び MS/MS の Run 番号を順次指定し、測定データを登録できるシステムにした。一方 Q-Star および LCQ については、測定データが単一ファイルで管理される。ユーザは測定データの所在を個々の PC 上あるいはサーバ共有領域上のデータファイルから選択し、ディレクトリを追うことによって測定データを登録可能にした。サーバへ転送された各測定データの解析処理法は、サンプルの属性や ICAT 処理の有無等の実験情報を LIMS サーバとの連携により、自動的に決定できるように設定した。

たんぱく質同定処理のための MS/MS スペクトルのピークリスト生成と、比較定量処理のための MS スペクトルのピークリスト生成（ICAT サンプルの場合）の自動実行が安定稼働可能となった。また、ピークリスト生成のためのパラメータをユーザ側で設定するユーザインターフェイスを新たに構築し、ABI-4700 における MS Peak Filter、MS/MS Peak Filter の各パラメータ、Q-Star における Default precursor charge states や IDA survey scan centroid parameter 等のパラメータのマニュアル設定を可能とした。

ICAT サンプルの ABI-4700 及び Q-Star による測定データに対し、Mascot による同定処理に加えて、ペプチドレベル・たんぱく質レベルの比較定量処理を可能にする自動解析処理を安定稼働させた。具体的には、まず MS スペクトルピークリストから ICAT ペア（それぞれ ICAT-L 鎖試薬と ICAT-H 鎖試薬でラベルされた同一ペプチド由来の親イオンのペア）を自動探索する。さらに、全ての親イオンについて同位体イオンまで含めたピーク面積（クラスタ面積）を求め、親イオンの Mass、価数、Retention time（ABI-4700 の場合は Spot 番号）などの ICAT 関連情報と共に、MS/MS ピークリストファイルに情報付加した。その結果、Mascot 処理後のペプチド・たんぱく質同定結果と、ICAT ペアの比較定量結果がリンクし、後述の Results Viewer による表示が可能となった。

Mascot 同定エンジンは、PC クラスタ上に 10 CPU 分インストールしており、高速検索が可能な状態で安定稼働している。Search Manager からの自動投入に加え、各質量分析計の制御 PC からの Mascot Daemon 投入や、研究者 PC からのピークリストの個別投入も可能であり、各 PC において Web 上で結果を確認することが可能になった。

Mascot 検索を実行するための参照たんぱく質配列データベースとしては、NCBI nr、Swiss Prot、MSDB、RefSeq などが標準で使用可能になった。これらのデータベースは、自動アップデート機能により随時最新バージョンにアップデートされている。なお、参照データベースとしては、上記のもの以外にも、定められた形式に変換することにより自由に登録することができ、ユーザの要望に応じて対応できる。

(3) Results Viewer 機能

Search Manager によって生成された Mascot によるたんぱく質同定結果をメインサーバ上のたん

ばく質発現データベース（統合データベース）に自動的に転送・登録する自動アップロード機能を、常時安定稼働させた。Results Viewer は、Mascot 同定結果のみならず、同定されたペプチドの ICAT 定量比やたんぱく質レベルでの平均 ICAT 定量比を自動計算して表示する機能を有す。なお、ICAT 比較定量計算は、現在 ABI-4700 及び Q-Star の ICAT サンプル測定データに対応した。

Mascot 出力結果の中から統合データベースに登録する内容を自動フィルタリングする条件（ペプチドスコアの下限值、たんぱく質スコアの下限值、ペプチド鎖長の下限值、Viewer に表示されるたんぱく質スコアの下限值等）を個別に設定する場合は、Results Viewer 中の Configuration 画面によって対応できるように設定した。

PF で扱う血清等のヒトのサンプルは、2 サンプルを ICAT 処理して混合した後トリプシン処理を行い、複数種類のクロマトグラフィーによって数十フラクションに分画し、それぞれのフラクションを独立に質量分析計で測定する。その結果得られる数十の Mascot 同定結果・ICAT 比較定量結果は、フラクションごとに検討するだけでは、サンプルレベルでの全体像を把握することが困難である。今回構築された PF の統合データベースシステムにおいては、Results Viewer の Combine Mascot Results 機能を利用することにより、同一のサンプル由来の Mascot 結果を統合・集約して Mascot スコア等も自動再計算可能になった。その結果、元々のサンプルに含まれていたペプチド・たんぱく質の情報を統合的に一覧表示することができ、その後の比較データ解析が飛躍的に容易になった。なお、このコンバイン機能を SCX50 画分用等の大量のデータに対してローカルな PC 上で実行すると、速度低下やメモリ不足による動作不良が現れるおそれがあるため、新たにサーバ側でコンバイン処理を行うための Web インターフェイスを開発した。

Results Viewer のメイン画面である Manually Filter & Annotate 画面については、ユーザが様々な編集処理を大きな負荷なく実行できるための改良・利便性向上を図った。

本メイン画面を構成する①Protein Identified 画面、②Peptide Details 画面、③Spectrum Details 画面に関して、以下の項目について表示が可能となった。

①Protein Identified 画面

- ・ たんぱく質の属性情報：GI 番号、RefSeq ID、LocusLink ID、SwissProt ID、たんぱく質名 (Description)、分子量、関連たんぱく質 (Associated Proteins) 一覧
- ・ Mascot 関連情報：たんぱく質スコア、ヒットペプチド数、平均ペプチドスコア、最大ペプチドスコア、ペプチドカバー率
- ・ ICAT 関連情報：ICAT ラベル情報、平均 ICAT 定量比と偏差、システイン残基数（たんぱく質中の全体数およびヒットしたペプチドに含まれる数）

②Peptide Details 画面

- ・ ペプチドの属性情報：親イオンピーク強度、リテンションタイム（又は MALDI スポット番号）、ペプチド分子量
- ・ Mascot 関連情報：ペプチドスコア、1st ランクペプチドのアミノ酸配列、2nd ランク以下のペプチドのアミノ酸配列、Miss cleavage 数、修飾の有無
- ・ ICAT 関連情報：ICAT ラベル情報、ペプチド単位の ICAT 定量比

③Spectrum Details 画面

- ・ MS/MS スペクトル情報：離散化されたスペクトル、マッチしたフラグメント配列のリスト
- ・ フラグメントイオン情報：ペプチドの理論フラグメント数、マッチしたフラグメント数、ペプチ

ド配列同定に利用されたピーク強度比率、各種イオン (a, b, y) シリーズのピーク強度比率

Results Viewer の Proteins Identified 画面に表示されるたんぱく質リストに対して、以下の操作が可能となった。

①Filter

指定された条件に該当するたんぱく質レコードを表示画面から除去する機能。数値による条件設定、文字列による条件設定が可能（例：Score が 30 未満のたんぱく質の除去、Description に”unknown”が含まれるたんぱく質の除去、等々）。

②Roll up

同定ペプチドを共有する関連たんぱく質 (Associated Proteins) を一つに集約する機能

③Auto Roll up

Associated Proteins の関係にあるたんぱく質の中から、代表する一つのたんぱく質のみを画面に残し、残りを全てフィルタアウトする機能。上記「Roll up」が個別のたんぱく質を対象とするのに対し、本機能は Protein Identified 画面にある全てのたんぱく質が、ワンクリックで一度に Roll up される。

④Remove

選択したたんぱく質を表示画面から除去する機能。除去理由をコメント化してデータベースに残すことが可能。

⑤Undo

Filter、Roll up、Auto Roll up、Remove して画面から除去したたんぱく質を再表示させる機能。エクスプローラ様表示により、再表示させるべきたんぱく質リストの判断が容易になった。

⑥Annotate

各たんぱく質にマニュアルでアノテーションを付与してデータベースに残す機能。

⑦Save

表示されているたんぱく質・ペプチドのデータをデータベースに保存する機能。編集中のデータを仮保存しておくことも可能。

⑧Recall

保存されたデータを呼び出す機能。

⑨Report

Protein Identified 画面、Peptide Details 画面の編集結果を、エクセルファイル形式で保存する機能。

これらの操作がたんぱく質・ペプチド表示画面において自在に実施できるようになったことにより、たんぱく質同定・比較定量結果のユーザによる整理、解釈に要する作業の利便性が飛躍的に向上した。

7) 情報セキュリティシステムの構築

PF では、研究協力機関からの試料についての解析を行う。その試料は、試料管理システムに登録される他に、それら試料についての臨床情報や個人情報システム上に(匿名化され)登録される。そのような個人情報を保護するための、システム構成から見た取組みについて以下に述

べる。

(1) 情報セキュリティネットワーク

図2 (下図) は、PFにおけるシステムを、セキュリティの観点から領域分けした時の概念図である (なお、詳細情報はセキュリティ保護のため割愛した)。

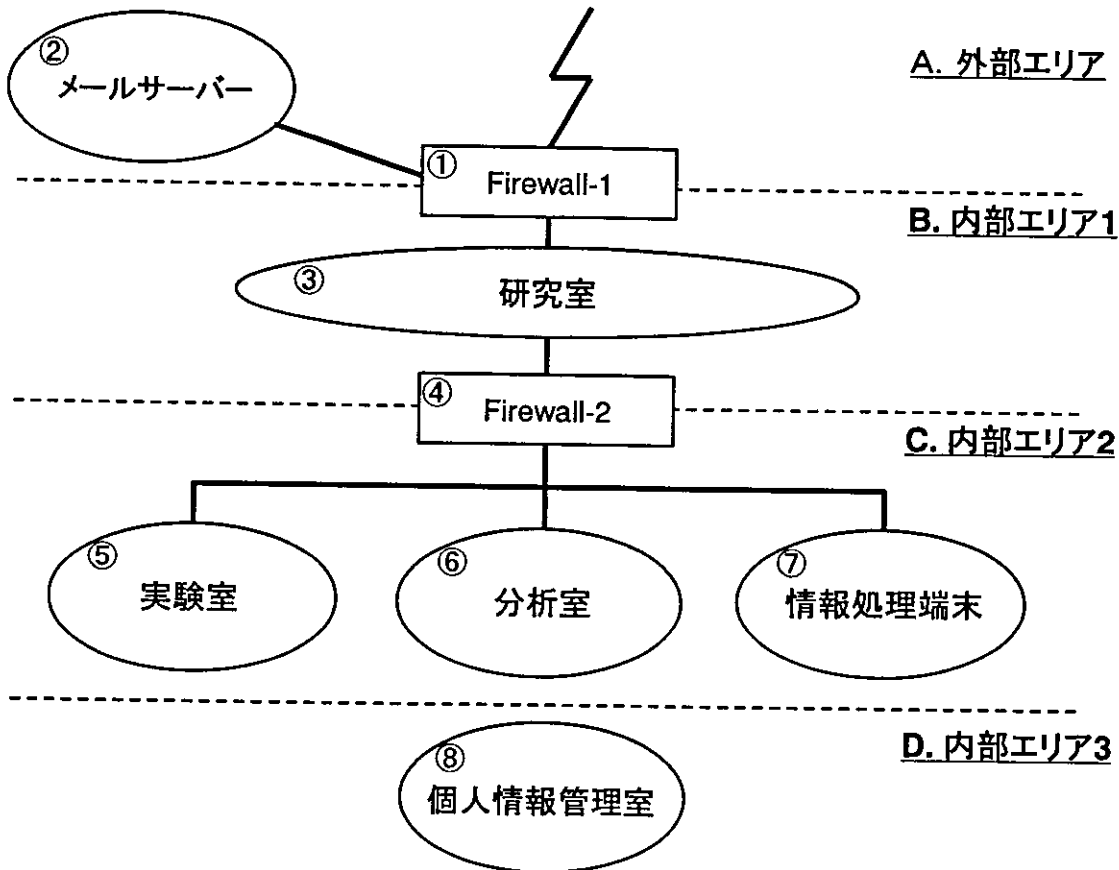


図2. 情報セキュリティネットワーク

最大の特徴はシステム全体が四相構造、すなわち、A.外部エリア、B.内部エリア1、C.内部エリア2、D.内部エリア3の4つに分かれているということである。

通常、外部との境界には Firewall を設置し、セキュリティに配慮する。PF でも、①に示すように、そのような Firewall を導入し、その Firewall の管理下に②メールサーバーが設置されている。

①に保護された領域のすぐ後ろに配置されているのが、③研究室である。ここが主として B. 内部エリア1となる。このエリアで、コンピューター的に可能な作業としては、メールの閲覧や事務処理、標準資料等を用いた条件検討等に限定される。よって、研究協力機関より持ち込まれ

たサンプルに関する一切の情報は、このエリアでは原則として扱うことは出来ない。

B.内部エリア 1 と C.内部エリア 2 の境界に位置するのが、④Firewall-2 である。この Firewall 導入が最大の特徴であり、PF におけるセキュリティの要となる。基本的には④Firewall-2 により、その背後に位置する C.内部エリア 2 へのアクセスは一切不可能となっている。

C.内部エリア 2 には、⑤実験室、⑥分析室、⑦情報処理端末がネットワーク的に配置されている。このエリアでは、研究活動の全てが行われる。ここで生み出される研究結果は、専用の端末(⑦情報処理端末)で処理が行われる。

上記 3 つのエリアとは別のエリアとして、D.内部エリア 3 がある。このエリアには、個人情報管理室が位置する。このエリアは基本的に他のいかなるネットワークとも接続されておらず、また、個人情報管理者が厳重に管理する。

(2) 情報セキュリティの確保

上記情報セキュリティネットワークの元、下記の運用でセキュリティを厳重に確保している。

C.内部エリア 2 では、LIMS 端末等に指紋認証装置を設置し、権限を有する研究者のみが入力・操作可能としている。またここで生み出される研究結果は、専用の端末(⑦情報処理端末)からのみ操作可能としている。これら端末には指紋認証装置が設置されており、確実な本人確認により権限を持った管理者・研究者のみが結果の参照、確定等の処理を行えるようにしている。

D.内部エリア 3 の個人情報管理室は他のいかなるネットワークとも接続されておらず、個人情報管理者が厳重に管理する。研究協力機関から持ち込まれた試料および臨床情報はこのエリアに隔離管理する。研究協力機関から提供された試料に関する情報や臨床情報のうち、必要最小限で匿名化された情報のみが C.内部エリア 2 に対して登録され、厳重な管理下において利用されることとなる。

さらに、研究協力機関から提供された情報、プロテオームファクトリー施設内で得られたすべての情報は C.内部エリア 2、D.内部エリア 3 内のサーバに保持されるとともに、その複製を別媒体に 2 部作成し、プロテオームファクトリー施設内の個人情報管理室およびヒューマンサイエンス振興財団内の耐火金庫に厳重に保管する。これによって装置の故障や火事・地震等の災害が発生しても貴重なデータの損失を防ぐことができる。

D. 研究成果 2 (実験結果).

1) 血清主要たんぱく質の除去法の検討：

ヒト血清中のたんぱく質濃度は約 80 mg/ml である。しかし、そのうち Albumin (54%)、IgG (17%)、 α 1-Antitrypsin(3.8%)、IgA(3.4%)、Transferrin (3.3%)、Haptoglobin (2.9%) などが主要たんぱく質として存在し、それに続き、補体系たんぱく質、線溶・凝固系たんぱく質、リポたんぱく質、プロテアーゼインヒビターなどが存在し、残りの 1%に多数の低濃度たんぱく質があるとされている (図 3)。また、血清中のたんぱく質の濃度範囲は非常に広く 1-10¹² range に達する。従って、血清中のたんぱく質を全て、質量分析装置で解析するためには、多量に存在する血清たんぱく質と微量たんぱく質を選択的に分離した上で、各々を解析する必要がある。

そこで、Albumin、IgG、IgA、 α 1-Antitrypsin、Transferrin、Haptoglobin の 6 種を結合できるアジレント社抗体カラムを用いて、ヒト標準血清（市販）から前述の血清主要たんぱく質の除去を試みた。すなわち、抗体カラム未処理血清と抗体カラム処理血清を 2 次元電気泳動（1 次元：等電点電気泳動、2 次元：SDS-PAGE、SyprpRuby 染色）を行い、両者を比較すると、アジレント抗体カラムにより、6 種の主要たんぱく質が除去され、それ以外のたんぱく質のスポット数が増加したことが確認された（Data not shown）。さらに、抗体カラム除去血清の 2 次元電気泳動の各スポット（図 4）を Ettan Spot Handling Workstation(Amersham)で切りぬき、トリプシン消化を行い、そのペプチド断片を Q-Star で解析し、各スポット（#1~#94）のたんぱく質を、Swiss Prot データベースを用い Mascot 同定エンジンにより検索した。結果を表 1 に示す。94 個のスポットから、 α 2-Macroglobulin, C1r, C1s, C3, C4, Factor B, Factor H, Apolipoprotein A1, α 1-Antichymotrypsin, Serum amyloid P-component, β -1B-glycoprotein, Kininogen, Anti-thrombin III など 約 50 種の血清たんぱく質が同定された。この中には比較的低濃度である捕体制御たんぱく質の一種、Factor I (20 – 50 μ g/ml)が同定されているので、アジレント抗体カラム処理により、より微量な血清たんぱく質が濃縮されたものと考えられる。なお、ラダーで存在するスポットは糖鎖が異なる同種のたんぱく質と考えられる。以上のことから、アジレント抗体カラム処理は血清微量たんぱく質の分取に有効であり、同抗体カラム処理血清を後述する cICAT（同位体標識）法や SELDI-TOF 法で解析することにした。

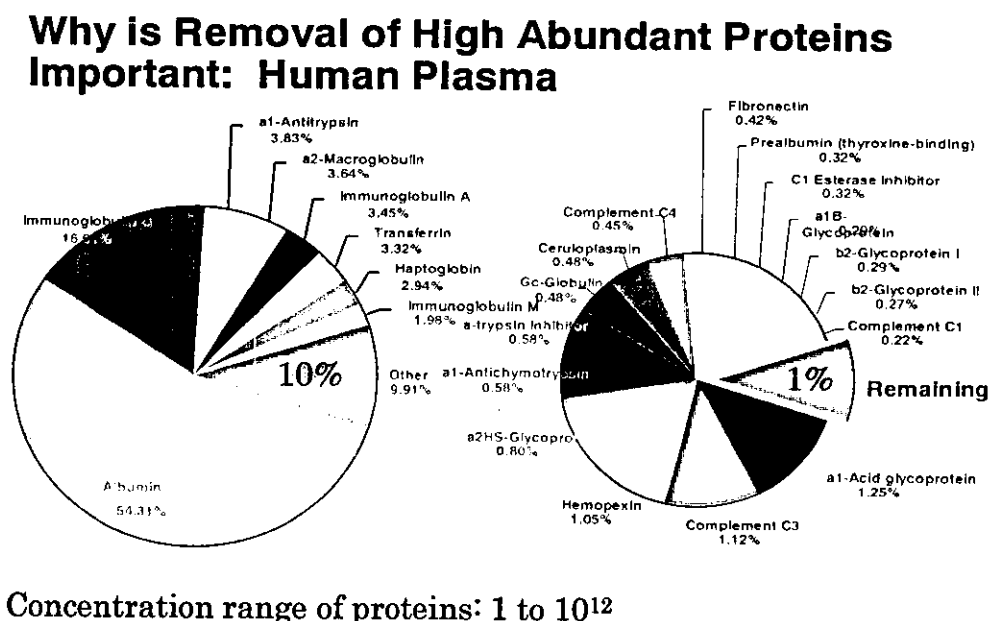


図 3. ヒト血清主要たんぱく質の分類と存在比（Agilent 社より提供）

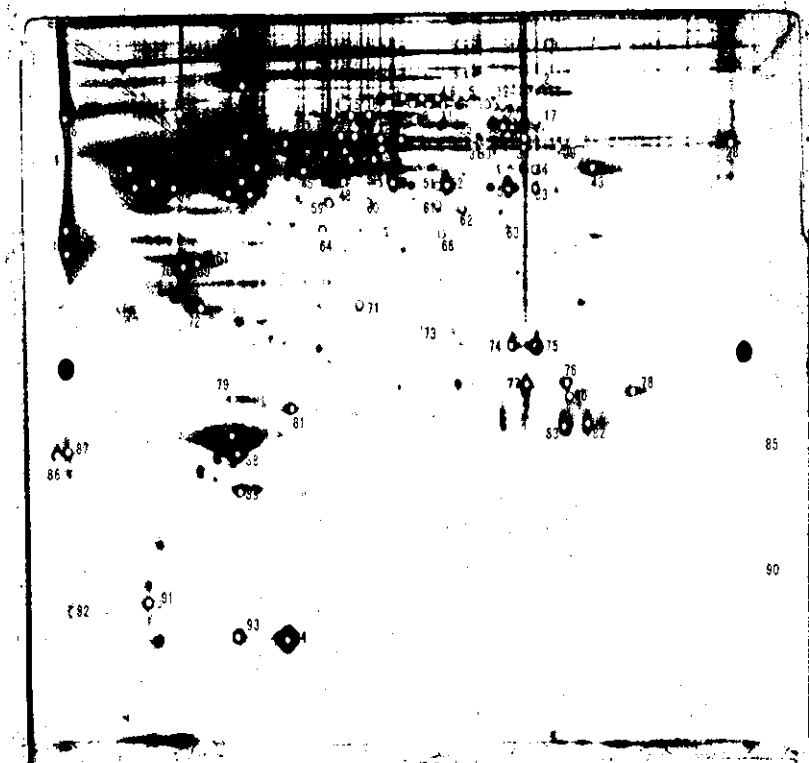


図4. Ettan Spot Handling Workstation (Amersham) によるアジレント抗体
カラム処理血清の発現たんぱく質のスポットピッキング

表 1. 質量分析機器 (Q-Star)を用いたピーキングたんぱく質の同定

スポット	同定スコア	同定タンパク質	スポット	同定スコア	同定タンパク質	スポット	同定スコア	同定タンパク質
1	251.4	(P00450) Cereuloplasmin precursor (EC 1.16.3.1) (Ferritinase)	33	450.9	(P01024) Complement C3 precursor (Contains: C3a anaphylatoxin)	65	40.1	(P1962) Alpha-1-acid glycoprotein 2 precursor (AGP 2) (Orosomucoid 2) (OMD 2)
2	296.9	(P00747) Plasminogen precursor (EC 3.4.21.7) (Contains: Anapolatin)	34	311.5	(P02790) Hemopexin precursor (Beta-1B-glycoprotein)	66	225.0	(Q14624) Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 precursor (ITI heavy chain H4) (Inter-alpha-i
3	503.2	(P00751) Complement factor B precursor (EC 3.4.21.47) (C3/C3 convertase) (Properdin factor B) (Glyc)	35	243.0	(P01024) Complement C3 precursor (Contains: C3a anaphylatoxin)	67	345.7	(P08727) Apolipoprotein A-IV precursor (Apo-AIV)
4	730.7	(P00751) Complement factor B precursor (EC 3.4.21.47) (C3/C3 convertase) (Properdin factor B) (Glyc)	36	388.4	(P01024) Complement C3 precursor (Contains: C3a anaphylatoxin)	68	187.5	(P19452) Alpha-1-acid glycoprotein 2 precursor (AGP 2) (Orosomucoid 2) (OMD 2)
5	256.3	(P00751) Complement factor B precursor (EC 3.4.21.47) (C3/C3 convertase) (Properdin factor B) (Glyc)	37	216.1	(P02790) Hemopexin precursor (Beta-1B-glycoprotein)	69	404.5	(P01024) Complement C3 precursor (Contains: C3a anaphylatoxin)
6	372.4	(P00751) Complement factor B precursor (EC 3.4.21.47) (C3/C3 convertase) (Properdin factor B) (Glyc)	38	114.4	(P02790) Hemopexin precursor (Beta-1B-glycoprotein)	70	183.2	(P08800) Complement factor H precursor (H factor 1)
7	730.4	(P00751) Complement factor B precursor (EC 3.4.21.47) (C3/C3 convertase) (Properdin factor B) (Glyc)	39	255.4	(P02790) Hemopexin precursor (Beta-1B-glycoprotein)	71	183.2	(P08600) Complement factor H precursor (H factor 1)
8	265.5	(P01023) Alpha-2-macroglobulin precursor (Alpha-2-M)	40	401.3	(P01024) Complement C3 precursor (Contains: C3a anaphylatoxin)	72	43.2	(P10901) Chaperin precursor (Complement-associated protein SP-40.40) (Complement cytolysis inhibit
9	276.1	(P01023) Alpha-2-macroglobulin precursor (Alpha-2-M)	41	225.1	(P01011) Alpha-1-antitrypsin precursor (ACT)	73	11.2	(O94925) Glutaminase, kidney isoform, mitochondrial precursor (EC 3.5.1.2) (GLS) (L-glutamine amido
10	181.8	(P01023) Alpha-2-macroglobulin precursor (Alpha-2-M)	42	123.1	(P01011) Alpha-1-antitrypsin precursor (ACT)	74	156.1	(P01020) Complement C4 precursor (Contains: C4a anaphylatoxin)
11	229.2	(P01023) Alpha-2-macroglobulin precursor (Alpha-2-M)	43	194.4	(P01860) Ig gamma-3 chain C region (Heavy chain disease protein) (HDC)	75	236.4	(P01020) Complement C4 precursor (Contains: C4a anaphylatoxin)
12	177.2	(P01023) Alpha-2-macroglobulin precursor (Alpha-2-M)	44	358.8	(P00751) Complement factor B precursor (EC 3.4.21.47) (C3/C3 convertase) (Properdin factor B) (Glyc)	76	174.3	(P03871) Complement C1s subcomponent precursor (EC 3.4.21.42) (C1 esterase)
13	236.5	(P01024) Complement C3 precursor (Contains: C3a anaphylatoxin)	45	100.0	(P01878) Ig alpha-1 chain C region	77	123.1	(P01024) Complement C3 precursor (Contains: C3a anaphylatoxin)
14	142.5	(P05160) Coagulation factor XIII B chain precursor (Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase B c	46	114.7	(P01042) Kininogen precursor (Alpha-2-thiol proteinase inhibitor) (Contains: Bradykinin)	78	94.8	(P02746) Complement C1q subcomponent, B chain precursor
15	177.9	(P06396) Gelatin precursor, plasma (Actin-depolymerizing factor) (ADF) (Bravin) (AGEL)	47	196.1	(P01008) Antithrombin-III precursor (ATIII) (PRO3008)	79	17.7	(O95477) ATP-binding cassette, sub-family A, member 1 (ATP-binding cassette transporter 1) (ATP-bin
16	346.1	(P06396) Gelatin precursor, plasma (Actin-depolymerizing factor) (ADF) (Bravin) (AGEL)	48	112.4	(P00736) Complement C1r subcomponent precursor (EC 3.4.21.41)	80	101.1	(P01024) Complement C3 precursor (Contains: C3a anaphylatoxin)
17	13.4	(Q7827) E3 ubiquitin protein ligase URE-B1 (EC 6.3.2.-) (NSPC272)	49	77.8	(P02748) Beta-2-glycoprotein 1 precursor (Apolipoprotein H) (Apo-H) (B2GPD) (Beta2GPD) (Activated)	81	319.4	(P02743) Serum amyloid P-component precursor (SAP) (B5S alpha-1-glycoprotein)
18	504.6	(P05155) Plasma protease C1 inhibitor precursor (C1 inh) (C1inh)	50	113.8	(P00736) Complement C1r subcomponent precursor (EC 3.4.21.41)	82	147.3	(P01596) Ig kappa chain V-H region EU
19	414.2	(P02787) Serotransferrin precursor (Transferrin) (Siderophilin) (Beta-1-macrot binding globulin) (PR	51	119.8	(P00736) Complement C1r subcomponent precursor (EC 3.4.21.41)	83	82.8	(P01834) Ig kappa chain C region
20	657.5	(P02787) Serotransferrin precursor (Transferrin) (Siderophilin) (Beta-1-macrot binding globulin) (PR	52	81.6	(P02749) Beta-2-glycoprotein 1 precursor (Apolipoprotein H) (Apo-H) (B2GPD) (Beta2GPD) (Activated)	84	110.9	(P13645) Keratin, type I cytoskeletal 10 (Cytokeratin 10) (CK10) (CK 10)
21	190.9	(P01028) Complement C4 precursor (Contains: C4a anaphylatoxin)	53	48.5	(P02749) Beta-2-glycoprotein 1 precursor (Apolipoprotein H) (Apo-H) (B2GPD) (Beta2GPD) (Activated)	85	14.1	(P55072) Transitional endoplasmic reticulum ATPase (TER ATPase) (5S Mg2+-ATPase p97 subunit) (Va
22	388.8	(P01028) Complement C4 precursor (Contains: C4a anaphylatoxin)	54	134.8	(P01042) Kininogen precursor (Alpha-2-thiol proteinase inhibitor) (Contains: Bradykinin)	86	292.0	(P04264) Keratin, type II cytoskeletal 1 (Cytokeratin 1) (K1) (CK 1) (67 kDa cyokeratin) (Hair alp
23	194.7	(P01028) Complement C4 precursor (Contains: C4a anaphylatoxin)	55	80.9	(Q14824) Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 precursor (ITI heavy chain H4) (Inter-alpha-i	87	72.8	(P02547) Apolipoprotein A-1 precursor (Apo-A0)
24	537.0	(P01028) Complement C4 precursor (Contains: C4a anaphylatoxin)	56	173.9	(P02748) Beta-2-glycoprotein 1 precursor (Apolipoprotein H) (Apo-H) (B2GPD) (Beta2GPD) (Activated)	88	169.3	(P02547) Apolipoprotein A-1 precursor (Apo-A0)
25	300.9	(P01028) Complement C4 precursor (Contains: C4a anaphylatoxin)	57	387.6	(P02774) Vitamin D-binding protein precursor (DBP) (Group-specific component) (Gc-globulin) (VDB)	89	106.4	(P02753) Plasma retinol-binding protein precursor (PRBP) (RBP) (PRO2222)
26	326.9	(P01028) Complement C4 precursor (Contains: C4a anaphylatoxin)	58	311.8	(P02774) Vitamin D-binding protein precursor (DBP) (Group-specific component) (Gc-globulin) (VDB)	90	15.4	(P38159) Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein G (hnRNP G) (RNA binding motif protein, X chromoso
27	327.8	(P04217) Alpha-1B-glycoprotein precursor (Alpha-1-B glycoprotein)	59	86.5	(P05156) Complement factor I precursor (EC 3.4.21.45) (C3b/C4b inactivator)	91	47.5	(P02547) Apolipoprotein A-1 precursor (Apo-A0)
28	286.1	(P01024) Complement C3 precursor (Contains: C3a anaphylatoxin)	60	29.3	(P05156) Complement factor I precursor (EC 3.4.21.45) (C3b/C4b inactivator)	92	11.5	(P01028) Complement C4 precursor (Contains: C4a anaphylatoxin)
29	16.8	(P38159) Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein G (hnRNP G) (RNA binding motif protein, X chromoso	61	46.5	(P02790) Hemopexin precursor (Beta-1B-glycoprotein)	93	36.7	(P04264) Keratin, type II cytoskeletal 1 (Cytokeratin 1) (K1) (CK 1) (67 kDa cyokeratin) (Hair alp
30	264.8	(P01024) Complement C3 precursor (Contains: C3a anaphylatoxin)	62	42.4	(P02790) Hemopexin precursor (Beta-1B-glycoprotein)	94	55.5	(P02766) Transthyretin precursor (Prealbumin) (TTPA) (TTR) (ATTR)
31	190.5	(P01024) Complement C3 precursor (Contains: C3a anaphylatoxin)	63	39.7	(P02790) Hemopexin precursor (Beta-1B-glycoprotein)			
32	294.7	(P01024) Complement C3 precursor (Contains: C3a anaphylatoxin)	64	302.2	(P38855) Pigment epithelium-derived factor precursor (PEDF) (EPC-1)			

2) BSA を用いた Cleavable ICAT(cICAT)法の検討:

同位体標識試薬の一つである Cleavable ICAT (cICAT) 試薬(ABI) は、Cystein 残基に特異的に反応する ^{13}C -chain (heavy chain (H 鎖)) または ^{12}C -chain (light chain)(L 鎖)を含むアルキル化試薬である。また、cICAT 試薬はビオチンタグを含むので反応したペプチド断片は簡単にアビジンカラムでアフィニティ精製することができる (図 5)。従って、 ^{13}C -cICAT(heavy-cICAT) (H 鎖) あるいは ^{12}C -cICAT (light-cICAT) (L 鎖) 試薬を各々別々にたんぱく質に反応させた後に、cICAT 試薬反応 Cystein 含有ペプチドの質量 (H 鎖標識と L 鎖標識で 9 Dalton 差がある) を分析すると、両者の存在比を定量することができる (3)。

そこで、我々は、等量の牛血清アルブミン (BSA) に、cICAT(light, ^{12}C)と cICAT(heavy, ^{13}C) 試薬を各々別々に標識した後、両者を 1 : 1 に混合し、トリプシンで消化後、ICAT 反応ペプチドを SCX カラムおよびアビジンカラムで分画し、TFA でビオチンタグをはずした各断片を C18-nano-LC/Probot で分画し、ABI-4700 (MALDI/TOF/TOF) を用いて、同定、比較定量を行った。

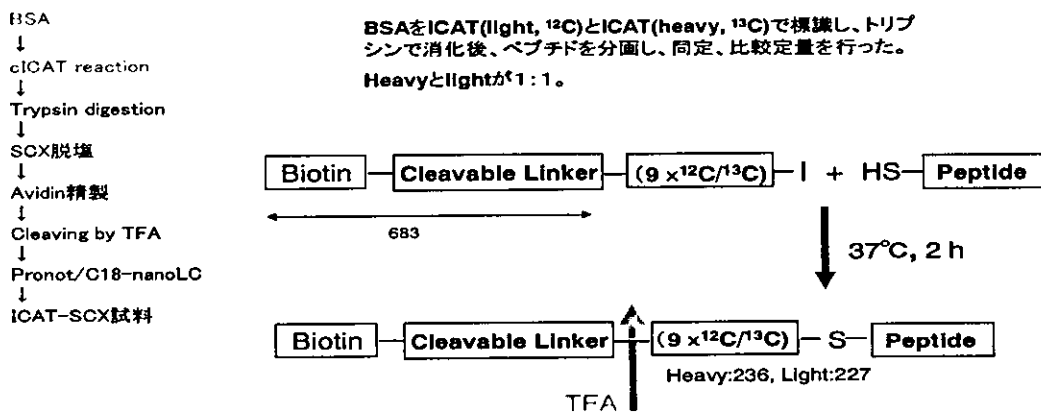


図 5. Cleavable ICAT (cICAT)試薬の構造

BSA Cysteine 含有ペプチド (トリプシン消化断片)	同定ICAT 反応ペプチド	ICAT Ratio H/L	Mascot 同定スコア	
			H	L
DVCK				
CASQK				
GACLLPK				
LCVLHEK		1.14	25.5	23.0
CGAADK		1.04	15.2	13.4
QNGDQFEK		1.06	27.5	32.6
NECFLSHK		1.00	33.2	31.7
CCTKPESER		0.85	11.4	14.3
CCTESLVNR		0.85	13.8	19.9
SHCIAVEK		1.07	50.4	50.3
ECQDKLLEK		0.85	26.5	23.2
EACFAVEGPK		1.00	54.0	49.9
ETYGDMDGCEK		0.88	42.1	29.7
YCDNODTSSK		0.97	43.4	55.8
SLHTLFGDELK		0.97	88.7	79.4
EYEATLECCAK		0.88	60.4	29.4
TCYADESHAGCEK		0.87	44.9	53.1
DDPHACYSTVFDK		0.97	71.1	65.8
LKPDNPNTLCDEFK		1.01	45.5	61.6
YNGVFQEQQAQEK		0.95	40.3	18.1
ECCHGDLLECAADR		0.72	38.1	12.2
MPGTEDYLSLNR		0.93	23.5	18.4
LFTFHADKTLPDTEK		1.10	23.2	27.2
RPCFSALTPDETYVPK		1.06	30.1	
GLVLIAFSQYLQQGPFDEHWK				

短いペプチド断片のため、ABI-4700
質量分析器で検出するのが難しい

BSAのCys含有ペプチド
断片(25種)の内、21種
を同定・比較定量するこ
とが可能。

測定機器:ABI-4700

図6. BSA 同定ペプチド断片の比較定量解析

その結果、BSA トリプシン消化 Cystein 含有ペプチド断片 (25 種) のうち、21 種(84%)を同定・比較定量することができた (図6)。また、各断片の H 鎖標識と L 鎖標識の比率 (H/L)はほぼ 1 : 1 であり、BSA たんぱく質全体としての比率 (H/L)は 1 : 0.92 であった。なお、同定・定量できなかった 3 種のペプチド(DVCK, CASIQK, GACLLPK) は、いずれも短い断片であったため、ABI-4700 では検出することが難しかったと思われる。 図7に BSA のアミノ配列,ICAT 反応断片および cICAT 法による BSA 解析(ABI-4700 を用いた)の配列カバー率(46%)を示す。以上のことより、cICAT 法はたんぱく質の発現量の比較定量に優れた方法であると考えた。

(MATRIX) Mascot Search Results
(SCIENCES)

Taxonomy: *Bos taurus*
Links to retrieve other entries containing this sequence from NCBI Entrez:
gi|1351907 from *Bos taurus*

Variable modifications: ICAT_heavy, ICAT_light, Oxidation (M)
Cleavage by Trypsin: cuts C-term side of KR unless next residue is P
Sequence Coverage: 46%

Matched peptides shown in Bold Red

```

1  MKWVTFISLL LLFSSAYSRG VFRRDTHKSE IAHRFKDLGE EHFKGLVLLIA
51  FSQYLQOCPF DEHVKLVNEL TEFAKTCVAD ESHAGCEKSL HTLFGDELCK
101 VASLRETYGD MADCCEKQEP ERNECFLSHK DDSPLPKLK PDPNTLCDEF
151 KADEKKFWGK LYEIARRHP YFYAPELLYY ANKYNGVFQE CCQAEDKGAC
201 LLPKIETMRE KVLASSARQR LRCASIQKFG ERALKAWSVA RLSQKFPKAE
251 FVEVTKLVTD LTKVHKECCH GDLLECADDR ADLAKYICDN QDTISSKLKE
301 CCDKPILLEK HCIAEVEKDA IPENLPPLTA DFAEDKDVCK NYQEAKDAFL
351 GSFLYEYSRR HPEYAVSVLL RLAKEYEATL EECCAADDPH ACYSTVFDKL
401 KHLVDEPQNL IKQNCQDFEK LGEYGFQNAL IVRYTRKVPQ VSTPTLVEVS
451 RSLGKVGTRC CTKPESERMP CTEDYLSLIL NRLCVLHEKT PVSEKVTKCC
501 TESLVNRRPC FSALTPDETY VPKAFDEKLF TFHADICTLP DTEKQIKKQT
551 ALVELLKHKP KATEEQLKTV MENFVAFVDK CCAADDKEAC FAVEGPKLVV
601 STQTALA

```

図7. BSAのアミノ配列, ICAT反応断片およびcICAT法によるBSA解析の配列カバー率

3) cICAT法によるヒト正常血清たんぱく質の解析

濃度範囲が非常に大きくかつ多種類のたんぱく質を含むヒト血清を、cICAT法により解析した報告は今までに殆どない。そこで、cICAT試薬をヒト血清に反応させ、どのような種類・濃度の血清たんぱく質が本方法により同定および比較定量可能なのかを検討した。

そこで、アジレント抗体カラム(10 x 100mm)で主要6種の血清たんぱく質を除いた等量のヒト標準血清(1mg)に、cICAT(light, ¹²C)とcICAT(heavy, ¹³C)試薬を各々別々に標識した後、同様に両者を1:1に混合し、トリプシンで消化後、ICAT反応ペプチド含有反応液を、BSAの場合と同様に、ABI社の標準方法により分画した。しかし、BSAと異なり、血清を用いた場合には、TFA切断後に多量のビオチンが残り、その後の質量分析機器による解析を大きく妨害した。そこで、ICAT反応ペプチド含有反応液を、まず、SCXカラム(4.6 x 100mm)で脱塩後、ペプチドを溶出(1分画)し、次に大型アビジンカラム(6.2 x 66.5mm)でビオチン含有ICATペプチドを分取し、その後、TFA処理でビオチンタグをはずした各断片を、SCXカラム(4.6 x 100mm)でKClの濃度勾配(0-0.5M)で50画分に分画した(図8)。

各画分(合計で50画分)を脱塩後、一方はC18-nanoLC systemで分画・Probotで金属プレートに分注し、ABI-4700を用いて解析した(同定、比較定量)。また、一方はC18-nanoLC/Q-Star

system で解析した。 ペプチド/たんぱく質の同定および H 鎖と L 鎖の比較定量は、検索対象 DB として RefSeq (RefSeq : 主要な生物種に関する、重複がなく正確性や完全性が評価された遺伝子、たんぱく質のリファレンス配列のデータベース)を用い、PF で開発した統合データ同定システム (HiSpec) で解析した。

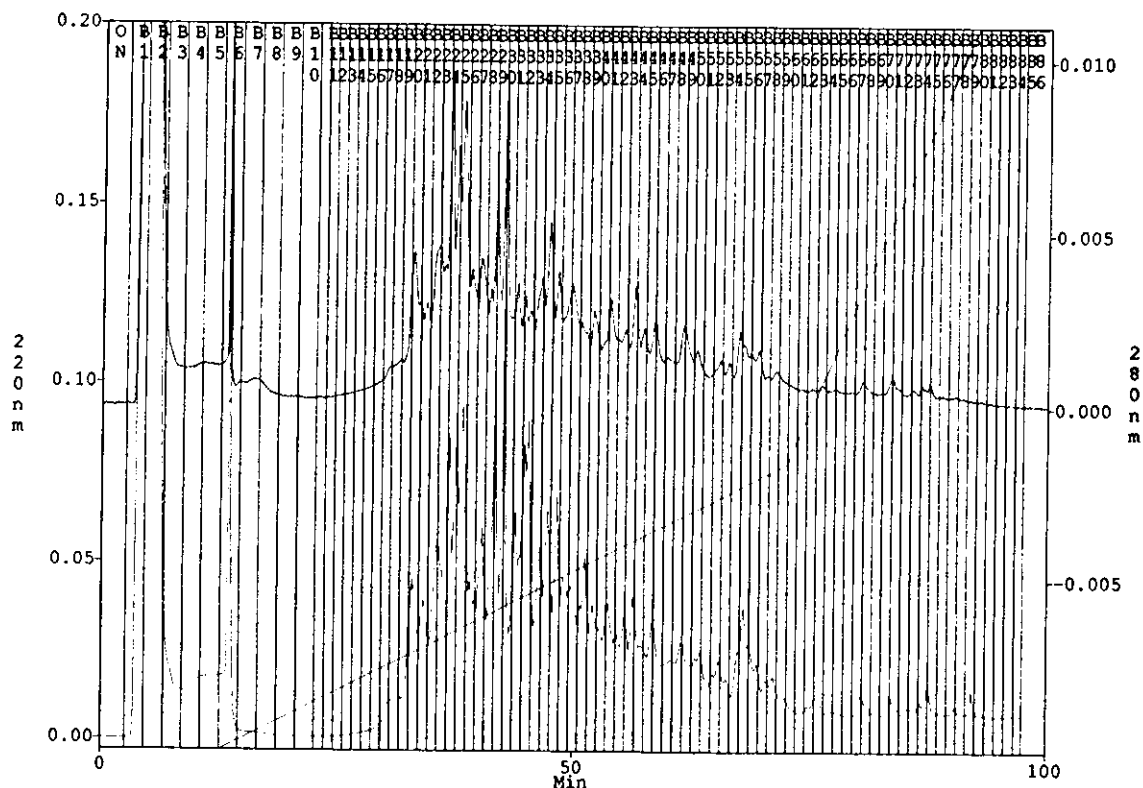


図 8. ヒト血清たんぱく質の cICAT peptide の SCX column による分画

なお、H鎖標識とL鎖標識は、等量反応させたので(前述)、H鎖標識/L鎖標識比(Ratio)は理論的には1になると考えられる。結果を表2に示す。

すなわち、総合 Score の高い同定たんぱく質順に順位(Rank, Q-Star or ABI-4700)をつけ、その一般名(Description)、GI 番号、分子量(Mass)、H鎖およびL鎖別 Score 値、H鎖/L鎖比(Ratio, 比較定量値)、Cys 残基数(Total Cys)、実際に同定したH鎖標識およびL鎖標識反応トリプシン消化断片数(NRPepCnt(H, L)), および 配列カバー率(Protein Coverage (H, L))を纏めたものである。

表2. ヒト血清たんぱく質のcICAT法による解析結果

スコア順位	A47	QSTAR	Description	GI	分子重量	システイン残基数	Ratio		Score(H)		Score(L)		Protein Coverage(H)		Protein Coverage(L)		
							A47	QSTAR	A47	QSTAR	A47	QSTAR	A47	QSTAR	A47	QSTAR	
1	1	1	H factor 1 (complement); H factor-1 (complement); cor	gi4504375	139125.4	82	0.92	0.97	1801.4	841.0	1563.5	833.8	32	25	30	25	
3	2	2	plasminogen	gi4505881	90569.0	48	0.95	0.98	1100.7	751.5	1159.5	862.6	31	26	34	33	
4	3	3	coagulation factor II precursor; prothrombin	gi4503635	70036.9	26	0.88	0.98	1097.1	875.9	959.7	707.5	35	32	32	35	
2	4	4	alpha 2 macroglobulin precursor	gi4557225	163278.0	25	0.92	0.95	1314.4	702.3	1222.9	694.8	15	16	15	15	
5	5	5	complement component 3 precursor; acylation-stimula	gi4557385	187164.1	27	0.92	0.88	1045.8	593.2	893.4	632.1	13	9	11	10	
7	6	6	transferrin; PRO2086 protein	gi4557871	77049.9	40	0.93	0.92	740.0	460.6	791.9	595.0	23	20	25	28	
10	7	7	kininogen 1; alpha-2-thiol proteinase inhibitor; bradykin	gi4504893	47883.2	19	0.96	0.94	553.6	386.7	626.8	453.3	29	21	29	27	
9	8	8	albumin precursor; alpha-albumin	gi4501887	69069.1	34	0.95	0.99	602.0	345.9	638.7	432.5	21	18	21	21	
6	9	9	vitamin D-binding protein precursor; vitamin D-binding	gi32483410	52917.5	28	0.94	0.92	751.4	314.9	842.5	412.2	29	26	29	25	
16	10	10	ceruloplasmin (ferroxidase); Ceruloplasmin	gi4557485	122205.2	15	0.96	0.92	505.2	341.4	397.6	395.8	9	8	9	12	
17	11	11	alpha-1-microglobulin/bikunin precursor; Alpha-1-micro	gi4502087	38959.5	16	0.83	0.88	426.2	340.0	493.1	363.3	29	27	30	33	
12	12	12	complement component 4A preproprotein; acidic C4; R	gi14577919	192336.0	28		0.83				355.4				6	
13	13	13	complement component 4B proprotein	gi4502501	192797.5	27	0.92	0.83	531.5	354.2	490.3		6	5	8	1	
11	14	14	beta-2-glycoprotein I precursor	gi4557327	38312.2	23	0.95	0.87	527.3	321.6	586.8	222.5	39	48	39	40	
12	15	15	I factor (complement)	gi4504579	65768.3	42	0.92	0.90	545.6	290.2	507.1	319.8	23	18	26	17	
15	16	16	hemopexin	gi11321561	51676.4	13	0.95	1.01	605.3	281.3	600.2	305.5	22	19	23	19	
24	17	17	complement factor B preproprotein; C3 proactivator; C	gi4502397	85504.8	24	0.92	0.92	338.7	258.5	343.4	301.9	10	11	10	13	
8	18	18	complement component 7 precursor	gi45580688	93518.2	56	0.96	0.91	623.8	285.9	650.7	297.8	18	14	18	15	
26	19	19	coagulation factor XIII B subunit precursor; TGase	gi9961357	75491.6	40	0.92	0.92	307.4	264.4	303.2	296.5	13	13	13	14	
22	20	20	fibronectin 1 isoform 3 preproprotein; cold-insoluble gly	gi16933542	259225.9	63	1.05	1.11	376.0	295.0	346.9	205.9	4	5	4	2	
18	21	21	complement component 1, r subcomponent	gi4502493	80189.7	27	1.04	0.91	408.1	271.6	484.5	293.9	17	11	15	16	
19	22	22	complement component 4 binding protein, alpha; Com	gi4502503	67033.2	36	0.90	0.91	375.2	290.9	441.5	251.1	20	17	19	18	
21	23	23	alpha-2-HS-glycoprotein; Alpha-2HS-glycoprotein	gi4502005	38324.7	14	1.01	0.93	459.2	263.0	398.8	241.0	16	23	20	30	
14	24	24	plasma kallikrein B1 precursor; Kallikrein, plasma; kall	gi4504877	71369.7	37	0.91	1.08	393.2	148.2	531.0	248.4	16	10	22	18	
25	25	25	peptidoglycan recognition protein L precursor	gi21361845	69770.3	13	0.97	0.98	277.3	238.1	324.9	228.0	11	11	12	11	
20	26	26	albumin precursor; PRO0883 protein	gi4502027	69366.7	35	0.90	0.91	384.5	125.9	451.9	220.7	17	9	19	16	
27	27	27	Complement component 6 precursor	gi4559406	104844.1	64	1.01	0.99	298.2	220.2	300.3	171.9	10	7	10	8	
40	28	28	apolipoprotein D precursor	gi4502163	21275.8	5	1.00	1.02	171.5	200.8	178.2	139.8	13	13	13	13	
44	29	29	properdin P factor, complement	gi4505737	51276.4	44	0.99	1.05	124.3	182.3	151.2	116.1	10	12	10	10	
23	30	30	complement component 8, alpha polypeptide precursor	gi4557389	85163.2	30	0.83	1.00	364.4	172.0	340.9	168.1	19	10	19	10	
31	31	31	complement component 1, a subcomponent	gi4502495	76684.4	27	1.02	0.86	241.8	86.1	243.2	163.2	10	4	8	6	
43	32	32	tetranectin (plasminogen binding protein); tetranectin (g	gi4507557	22588.8	7	0.78	1.00	106.5	109.5	158.4	160.9	10	12	17	17	
33	33	33	vitronectin precursor; serum spreading factor; somatom	gi18201911	54335.7	14	0.95	0.98	210.8	156.2	238.2	140.2	7	7	7	7	
50	34	34	apolipoprotein B precursor; apoB-100; apoB-48	gi4502153	51582.7	25	1.02	0.96	112.1	87.0	135.5	155.6	1	0	1	1	
64	35	35	apolipoprotein M; NG20-like protein	gi22091452	21253.3	6	0.91	0.96	76.5	102.5	98.8	147.8	9	12	12	25	
35	36	36	atractin isoform 1; attractin-2; mahogany protein	gi21450861	158536.9	88	0.89	1.20		145.1	226.2	110.4	5	6	4	4	
30	37	37	coagulation factor XII precursor; Hageman factor	gi4503829	67181.1	40	0.83	1.02	226.1	107.7	243.3	132.0	10	5	9	7	
56	38	38	complement component 8, beta polypeptide	gi4557391	66947.7	30	0.99	0.94	112.9	62.6	80.5	127.1	12	5	11	10	
55	39	39	alpha-2-glycoprotein 1, zinc; Alpha-2-glycoprotein, zinc	gi4502337	34258.7	4	1.08	0.93	115.8	44.0	109.3	121.2	8	3	7	7	
41	40	40	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade C (antith	gi4502281	52602.4	8	0.95	1.10	167.1	103.3	165.6	115.0	7	7	7	7	
28	41	41	heptoglobin	gi4826762	45205.3	12	0.77	0.89	239.1	112.4	252.2	67.7	15	7	19	9	
32	42	42	alpha 1B-glycoprotein	gi21071030	54253.5	10	0.94	0.91	224.7	111.8	240.7	111.4	8	8	8	8	
28	43	43	histidine-rich glycoprotein precursor; histidine-proline r	gi4504489	50578.3	17	0.95	0.92	254.7	108.0	256.7	105.2	10	9	10	8	
63	44	44	complement component 4 binding protein, beta; comp	gi4502305	28357.4	17	0.96	1.03	99.0	107.2	92.8	88.3	9	20	9	15	
61	45	45	immunoglobulin J chain	gi21489959	18098.8	8	1.05	0.98	92.8	104.5	104.2	23.0	15	15	15	6	
37	46	46	orosomucoid 1 precursor; Orosomucoid-1 (alpha-1-ac	gi9257232	23511.6	4	0.98	0.90	189.8	103.8	156.5	93.1	10	10	10	10	
63	47	47	complement component 2 precursor; C3/C5 convertase	gi14550407	83267.8	24	1.07	1.25			98.4	84.0	28.2	3	4	3	3
69	48	48	alpha-2-plasmin inhibitor; alpha-2-antiplasmin	gi11368143	54595.8	6	0.94	0.83	65.5	34.8	87.0	97.0	2	2	6	6	
60	49	49	orosomucoid 2; alpha-1-acid glycoprotein, type 2	gi4505529	23802.6	5	0.97	0.81	105.0	96.3	89.8	62.7	12	12	12	12	
39	50	50	protein S (alpha); Protein S, alpha	gi4506117	75072.5	36	0.94	1.00	183.1	66.1	164.6	95.5	9	4	6	3	
46	51	51	clusterin isoform 1; complement-associated protein SP	gi42716297	57832.8	13	2.29	0.94	91.9	93.8	145.6	94.9	4	4	8	4	
42	52	52	complement component 9	gi4502511	63173.4	25	0.98	0.89	160.3	57.9	160.7	92.9	6	3	6	7	
153	53	53	inter-alpha (globulin) inhibitor H1; Inter-alpha (globulin)	gi4504781	101402.2	8	0.94	0.92	12.8	81.0	31.5	87.4	2	2	2	2	
53	54	54	mammalian-binding lectin serine protease 1 isoform 1, pre	gi21264357	79246.7	29	1.00	0.95	115.1	84.6	130.0	30.3	7	5	6	2	
163	55	55	complement component 8, gamma polypeptide	gi4557393	22210.4	3	1.11	1.01	25.8	81.7	29.3	40.3	8	8	8	8	
34	56	56	complement component 5	gi38016947	188305.3	30	1.01	0.97	214.8	70.9	228.6	80.6	5	1	3	2	
47	57	57	biotinidase precursor	gi4557373	61132.9	16	0.94	0.90	130.4	77.3	145.5	42.5	7	3	7	3	
85	58	58	PREDICTED: similar to Carboxypeptidase N 83 kDa ch	gi15464068	65803.8	15	1.02	1.01	61.6	67.8	40.7	78.6	2	3	2	7	
52	59	59	apolipoprotein A-II precursor	gi4502149	11175.0	2	1.00	0.75	130.1	89.1	114.1	81.7	20	20	20	20	
165	60	60	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade A, mem	gi50659080	47650.9	3	0.88	0.87	28.9	68.5	17.2	45.1	2	2	2	2	
61	61	61	heptoglobin-related protein; Heptoglobin-related locus	gi45580723	39029.8	9		0.96				88.5				10	
68	62	62	coagulation factor V precursor; labile factor; factor V L	gi4503643	251719.4	20	0.82	0.87	87.2	40.0	56.6	65.9	1	1	1	1	
75	63	63	insulin-like growth factor binding protein, acid labile sub	gi4826772	66035.0	13	0.92	0.97	68.7	63.8	77.3	39.8	3	3	3	2	
58	64	64	H factor (complement)-like 3; factor H-related gene 2	gi5031895	30650.7	16	1.00	1.08	83.7	63.1	108.7	40.0	13	7	11	7	
48	65	65	H factor (complement)-like 1	gi11321587	37681.6	20	0.91	0.95	145.4	48.9	143.0	61.5	12	5	12	6	
179	66	66	sex hormone-binding globulin; Sex hormone-binding gl	gi7382460	43779.2	4	0.99	1.01	23.9	56.0	26.0	90.3	2	2	2	2	
67	67	67	keratin 1; Keratin-1; cytokeratin 1; hair alpha protein	gi17318569	66068.7	3	N/A	1.08			10.6	57.6	3	3	3	3	
119	68	68	apolipoprotein E precursor; apolipoprotein E3	gi4557325	38154.1	2	1.08	1.01	39.2	35.3	37.5	57.3	3	3	3	3	
143	69	69	insulin-like growth factor binding protein 3	gi4504617	31860.2	18	1.02	1.10	30.7	20.8	33.4						

スコア順位	A47	QSTAR	Description	GI	分子量	システイン残基数	Ratio		Score(H)		Score(L)		Protein Coverage(H)		Protein Coverage(L)	
							A47	QSTAR	A47	QSTAR	A47	QSTAR	A47	QSTAR	A47	QSTAR
	101		ring finger protein 130; goliath protein; g1-related zinc	gi 29788758	46404.8	13	0.93	4.27	13.4	28.2	18.8	17.0	1	3	1	1
	102		arylsulfatase B isoform 1 precursor; N-acetylgalactosyl	gi 38586405	59687.2	9	0.90	0.88	10.1	27.9			1	1		
	103		galactin 3 binding protein; L3 antigen; Mac-2-binding p	gi 5031863	65331.0	16		2.19				27.8				2
112	104		fibrinogen, beta chain precursor	gi 11781631	55902.1	12	0.90	N/A			41.6	23.7	27.2	1		1
271	105		CD14 antigen precursor	gi 4557417	40076.2	11	0.96	1.09	17.7	27.1	20.3	18.0	4	2	4	2
159	106		peroxanase 1; Peroxanase	gi 19923106	39731.3	3	0.94	0.96	28.7	26.8	29.9	26.1	3	3	3	3
	107		metallothionein 1A	gi 28866980	6133.3	20		N/A			25.9				16	
	108		cholesterol ester transfer protein, plasma precursor	gi 4557443	54770.2	7	0.99	1.14				17.5	23.4			2
	109		hypothetical protein FLJ34064	gi 22749293	97728.3	31	0.73	N/A		11.6		23.1		1		0
	110		inter-alpha (globulin) inhibitor H4 (plasma kallikrein-inh	gi 31542984	103357.4	4		1.12			23.1			2		0
90	111		mitogen-activated protein kinase kinase kinase	gi 6005810	91296.4	18	2.21	10.22	54.6	23.0	12.6		2	1	2	
	112		calcium binding protein 39-like	gi 13569887	33694.2	3		1.00			13.7		22.9		3	
99	113		ε-disintegrin-like and metalloprotease (repolyisin type)	gi 28480890	214506.1	130	0.85	1.17				48.1	22.8			3
	114		ephrin receptor EphB4 precursor; hepatoma transmem	gi 32528301	108272.0	27	0.98	0.29	10.2	14.1	13.7	22.0	0	0	0	0
	115		PREDICTED: chromosome 9 open reading frame 4	gi 51467585	37270.1	8		0.95			16.1		21.8		1	1
	116		acute carrier family 37 member 1; glycerol-3-phosphat	gi 49619231	57648.1	12		0.98				21.7				1
	117		zinc finger protein 588	gi 39930587	43735.1	23	1.03	1.35		21.4	12.4			1	1	1
	118		golgi autoantigen, golgin subfamily a, 4; golgin-245; tra	gi 6715600	261140.2	18	0.88	0.90				12.3	20.4			0
	119		hypothetical protein BC08322	gi 19923907	34854.5	9	2.11	0.90	14.5			20.0	4			0
188			L-plastin; Lymphocyte cytosolic protein-1 (plasmin); pl	gi 4504965	70289.3	10	0.75	0.95	25.3			19.3		1		2
273			serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade A (alpha	gi 50363217	46736.6	3	1.00	0.88			19.1	20.3		2	2	
93			leucine-rich repeat-containing G protein-coupled recep	gi 39930403	99268.6	23	1.01	0.95	51.0	18.2	27.8		2	0	0	
95			plasma coagulation factor XI precursor isoform a; plas	gi 4503827	71019.1	36	1.00	1.09	39.2	17.9	53.2		2	1	6	
136			serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade A (alpha	gi 21361302	48542.0	3	1.04	0.89	34.7	17.1	12.9		1	1	1	
147			transferrin; prealbumin	gi 4507725	15897.0	2	1.00	1.35	32.9	15.9	27.8	14.3	4	4	4	4
81			complement component 1, q subcomponent, gamma	gi 27363488	25729.6	4	0.95	1.04	64.4		49.8	15.3	5	4	4	4
98			ubiquitin protein ligase E3 component n-recognin 1; ub	gi 28372497	200210.6	59	1.17	1.87	47.4	15.1		12.5	2	0	0	0
195			excision repair cross-complementing rodent repair defi	gi 4557563	89277.7	14	0.78	1.09	22.8		24.8	14.9	1		1	1
115			PREDICTED: similar to KIAA0445 protein	gi 51481034	298001.2	39	0.84	0.74	40.5	14.4	19.9		1	0	0	0
231			T1 protein	gi 40255278	139422.9	25	0.94	1.41	22.3		13.3	13.7	0	0	0	0
87			retinoblastoma-associated factor 600	gi 24418002	573901.0	124	0.80	N/A		24.9	13.4	58.8	0	0	0	0
267			PREDICTED: KIAA1093 protein	gi 51476025	188211.8	13	N/A	0.85			20.5	13.0		1	0	
169			PREDICTED: hypothetical protein XP_496773	gi 51464894	29364.1	9	N/A	0.99			27.8	11.5		3	2	
264			zinc finger protein ZNF-U69274; zinc finger protein	gi 7657703	119382.6	37	N/A	N/A	20.7		15.8	11.2	1		0	0
190			hypothetical protein FLJ35728	gi 22749249	72363.7	13	0.82		1.19	18.0		25.1	10.7	1		2
36			pregnancy-zone protein; Pregnancy zone protein	gi 4506355	163635.9	26	1.02			205.1				2		
36			attractin isoform 3; attractin-2; mahogany protein	gi 21450848	133701.8	82	0.90			184.1				7		
51			mannan-binding lectin serine protease 1 isoform 2, pre	gi 21264359	81880.3	27	0.97				135.0					6
57			cartilage oligomeric matrix protein precursor; epiphyse	gi 40217843	82860.5	48	1.22		109.1		102.7		7	7		
68			fibulin 1 isoform C precursor	gi 34734062	74481.9	72	0.76		107.0		48.3		6	2		
66			lipoprotein Lp(a); Apolipoprotein Lp(a); antiangiogeni	gi 5031885	501319.1	241	1.00		54.3		92.2		1	1		
87			von Willebrand factor precursor; Coagulation factor VII	gi 4507907	309298.6	234	1.09		89.4		84.3		1	1		
70			low density lipoprotein-related protein 1; alpha-2-macr	gi 4758860	504575.3	331	0.99		84.4		42.9		1	1		
72			procollagen C-endopeptidase enhancer; procollagen, ty	gi 4505643	47946.4	15	1.38		50.2		84.2		7	6		
73			plasminogen-related protein B; type B plasminogen rel	gi 4505883	10970.6	4	0.99		80.2				2			
74			PREDICTED: katch repeat end BTB (POZ) domain con	gi 51480530	631761.2	177	1.15		26.8		79.4		0	0		
77			stabilin 2; CD44-like precursor FELL; hyaluronan reced	gi 20806091	278994.1	202	N/A				66.7		1	0	0	0
78			low density lipoprotein-related protein 1B; low density li	gi 9055270	515398.8	345	0.82		29.0		66.4		0	0		
84			KIAA1404 protein	gi 28626521	220226.8	88	1.73		61.8		46.1		1	1		
88			selectin L; lymph node homing receptor; lymphocyte ad	gi 4506875	42187.1	29	0.87		26.9		58.3		2	6		
89			dymein, axonemal, heavy polypeptide 6	gi 15029526	514813.9	64	1.04		26.8		58.3		2	6		
92			Fc fragment of IgG binding protein; IgG Fc binding pro	gi 4503881	572095.7	435	1.24		53.2		11.0		3	4		
94			viral sarcoma viral oncogene homolog; Avian sarcoma	gi 4506967	80005.1	22	1.35		26.4		52.6		3	4		
97			PREDICTED: similar to hypothetical protein	gi 51484920	39317.0	9	0.82		39.6		49.1		4	5		
100			GREB1 protein isoform a; gene regulated by estrogen	gi 23397842	216467.3	50	1.00		16.9		46.0		4	5		
101			hypothetical protein FLJ13909	gi 13376679	29645.1	7	N/A				45.8		3			
102			ε-disintegrin and metalloproteinase with thrombospond	gi 33824898	218491.2	126	0.28		27.2		45.7		0	1		
103			DNA (cytosine-5)-methyltransferase 1; DNA methyltra	gi 4503351	183165.2	41	0.80		28.8		45.5		0	0		
106			hypothetical protein LOC129607	gi 48400274	32845.7	15	0.72		18.0		44.6		3	8		
107			ubiquitous tetrapeptide containing protein RoXa1.	gi 27881484	109858.0	33	0.66				44.2		3	8		
108			scavenger receptor cysteine-rich type 1 protein M169	gi 50689091	159257.1	104	N/A		33.0		44.1		2	3		
109			integrin beta chain, beta 2 precursor; Integrin, beta-2 (gi 4557886	84790.8	57	1.48				43.9		2	3		
110			fibrinogen, gamma chain isoform gamma-A precursor	gi 4503715	49481.5	11	1.10		43.0		18.2		4	4		
111			PREDICTED: hypothetical protein XP_374152	gi 51464804	19629.2	5	N/A		10.4		42.0		3	7		
113			PREDICTED: similar to RIKEN cDNA S430400H23	gi 51458895	142108.7	17	1.03		27.5		41.5		1	0		
118			protein kinase, lysine deficient 1; kinase deficient prote	gi 12711660	250755.7	15	1.18		35.0		40.1		1	0		
117			transmembrane protease, serine 6; membrane-bound	gi 23957702	90000.1	38	0.88				40.0		2	2		
118			zinc finger protein 560	gi 22749003	91135.0	46	1.01				39.3		1	1		
120			factor H-related protein 5	gi 13540563	64419.4	36	0.43		26.8		38.8		1	1		
121			prerenyloxydase 1; prerenyloxydase lyase	gi 33820751	56700.2	7	0.98		33.5		38.8		1	1		
122			zinc finger protein 625	gi 21687161	34748.3	21	2.17		38.4		17.1		6	4		
123			hypothetical protein FLJ32954	gi 21389491	65228.0	13	0.40				38.2		1	2		
124			similar to Hypothetical zinc finger protein KIAA1559	gi 42861594	63463.3	31	N/A		38.1				2			
128			guanylate binding protein 4-like	gi 48409420	72525.3	11	N/A				37.9				3	
128			zinc finger protein 521; early hematopoietic zinc finger	gi 24308069	147886.1	79	N/A			37.0			1			
129			PREDICTED: chromosome 20 open reading frame 82	gi 51475205	90734.9	28	1.36				36.7		2			
130			smooth muscle myosin heavy chain 11 isoform SM2	gi 13124875	223677.3	15	0.80				27.1		38.1		1	
131			hypothetical protein SB153 isoform 2	gi 42475948	33050.1	8	1.43				35.9		7			
132			phosphoinositide-3-kinase, class 2, alpha polypeptide;	gi 4506799	180737.7	29	N/A									
133			immunoglobulin superfamily, member 10	gi 38490688	290837.9											

スコア順位	Description	GI	分子量	システイン残基数	Ratio		Score(H)		Score(L)		Protein Coverage(H)		Protein Coverage(L)	
					A47	QSTAR	A47	QSTAR	A47	QSTAR	A47	QSTAR	A47	QSTAR
A47	QSTAR													
158	KIAA0076 protein isoform a	gi45597175	140524.7	20	0.82			30.3				2		
160	aquaporin 3	gi4826845	31543.8	8	N/A			29.8				4		
161	semaphorin 4D; sema domain, immunoglobulin domain	gi33942064	96207.9	24	1.08			15.9		29.8		0		0
162	hypothetical protein MGC34032	gi22749391	81743.3	31	0.94			29.8				2		
164	PREDICTED: similar to KIAA0033	gi51470820	70600.3	12	N/A			29.0				2		1
166	sacsin	gi38230498	504567.3	97	0.38			27.9				0		0
167	wingless-type MMTV integration site family, member 9	gi17017976	39600.8	25	N/A					28.4				2
170	tripartite motif protein 15 isoform beta	gi18445350	12301.1	12	0.88			27.8		11.2		6		6
171	proteasome alpha 7 subunit isoform 1; proteasome subunit	gi4506169	27886.8	3	1.76			27.7				3		
172	wingless-type MMTV integration site family, member 1	gi18938520	46444.3	24	0.88			23.3				4		5
173	gp130-like monocyte receptor; soluble type I cytokine receptor	gi21314785	82953.8	16	0.74					27.0				1
176	S100 calcium-binding protein A8; calgranulin A; cystic fibrosis transmembrane conductance regulator	gi21814544	10834.5	1	0.71			26.5				11		
177	extracellular matrix protein 2	gi4557543	79789.3	16	N/A			26.2				2		
178	kinase insert domain receptor (a type II receptor tyrosine kinase)	gi11321597	151526.8	33	2.03			26.1				0		
180	PR domain containing 11; PR-domain containing protein	gi41349468	57862.9	15	0.77					26.0		2		
181	hypothetical protein FLJ14938	gi24782238	37476.5	4	N/A			26.0				4		
182	zinc finger protein 177	gi4508009	36473.1	18	1.12					26.0				3
183	neuroblastoma-amplified protein	gi41393547	268571.3	58	0.98			25.8				0		
184	gonadotropin inducible transcription repressor 1	gi48371195	86214.0	33	0.97			25.8				2		
185	a disintegrin-like and metalloprotease (reprolysin type) with thrombospondin type 1 domain-containing 1 isoform 1	gi40806187	135187.1	77	N/A					25.4				1
186	thrombospondin type 1 domain-containing 1 isoform 1	gi8923894	94583.9	22	0.88			14.1		25.4		1		1
189	tarsh protein	gi33667044	118642.0	12	0.88			25.2		24.7		1		1
191	rhomoid, venetel-like 4; ventroth transmembrane protein	gi21284326	45244.6	6	0.33					25.1				4
192	glutamate receptor KA1 precursor; excitatory amino acid transporter 3; arginine/serine-rich 5	gi29029595	107245.5	24	N/A			25.0				1		
193	splicing factor, arginine/serine-rich 5	gi5902078	12528.0	2	0.78			22.3				9		9
194	PREDICTED: similar to Ataxin-1 (Spinocerebellar ataxia 1)	gi51473085	70403.9	8	N/A					24.8				2
196	heat shock 90kDa protein 1, alpha; heat shock 90kDa protein 1, beta	gi40254816	84873.7	7	0.91					24.7				0
197	PREDICTED: similar to carbonic anhydrase VA, mitochondrial	gi51472954	70702.3	16	N/A			24.7		18.6		3		2
199	PREDICTED: myosin VB	gi51474593	265807.1	49	3.20			17.1		24.5		0		0
200	hypothetical protein FLJ4768	gi14249548	51993.9	29	N/A			17.3		24.2		2		3
201	hypothetical protein DT1P1A10	gi24308388	20894.0	4	N/A					24.2				4
202	signal transducer and activator of transcription 5A	gi21818342	90647.0	10	N/A					24.0				0
203	thyroid peroxidase isoform a; thyroperoxidase; thyroid peroxidase	gi28558982	102962.7	29	1.34			24.0				1		1
204	DEAH (Aap-Glu-Ase-His) box polypeptide 33; DEAD/H domain-containing protein 33	gi20338302	78674.1	13	N/A			23.9				1		
205	protein phosphatase 5, catalytic subunit	gi5453958	59878.6	10	N/A			23.9				3		
206	PREDICTED: KIAA1447 protein	gi51474423	269352.4	49	0.81			23.9				0		
207	HLA-B associated transcript 5; HLA-B associated transcript 5	gi15100151	63243.3	11	1.06					23.8				2
208	interferon-alpha receptor 1 precursor; alpha-type interferon receptor	gi46488932	63525.3	11	N/A			23.8				3		
209	PREDICTED: similar to 33 kDa protein	gi51465830	40917.2	7	0.78					23.7				1
210	neuronal-like protein 2; neuronal-like 2; chromosome 10 open reading frame 10	gi18152787	31689.6	5	N/A			23.6				3		
211	solute carrier family 29 (nucleoside transporters), member 1	gi23397536	58114.7	12	0.98			17.1		23.6		3		3
212	PREDICTED: DNA2 DNA replication helicase 2-like protein	gi51468484	129681.5	35	0.57			23.6		12.4		0		1
213	vanin 1 precursor; Vanin 1; pantothenase	gi4759312	57023.7	13	0.67			15.4		23.5		2		2
214	neurexin 1 isoform alpha precursor; neurexin 1	gi14149613	181882.0	40	N/A			10.1		23.5		0		1
215	coronin, actin binding protein, 1A; coronin, actin-binding protein	gi5902134	51026.3	12	N/A					23.5				2
216	similar to 60S ribosomal protein L10 (QM protein homolog)	gi41151097	24626.9	8	N/A					23.3				4
217	chromosome 20 open reading frame 42; UNC-112 related protein	gi26865871	77408.8	11	N/A					23.2				0
218	PREDICTED: bicaudal C homolog 1	gi51468248	53276.3	11	N/A					23.2				3
219	PREDICTED: similar to Charot-Leyden crystal protein; Charot-Leyden crystal protein	gi51474887	16189.4	4	N/A			23.1		17.3		7		8
220	hypothetical protein FLJ10853	gi6922716	16473.8	3	N/A			23.1				5		
221	hypothetical protein XP_376795	gi42858838	19258.2	5	0.88			22.7		22.9		7		7
222	PREDICTED: similar to ankyrin repeat domain 20A	gi51477143	60218.7	14	0.82			22.8				2		
223	interleukin 19 isoform 2 precursor; melanoma differentiation-associated protein 19	gi30795208	20451.8	8	N/A					22.8				5
224	exostasin 1	gi46370066	86254.8	13	N/A			22.7				2		
225	solute carrier organic anion transporter family member, SLC22A1	gi39777594	77193.3	29	0.65			12.0		22.7		0		0
226	PREDICTED: similar to P38IP protein	gi51477368	93855.0	18	N/A					22.6				0
227	connector enhancer of kinase suppressor of Ras 2; coiled-coil domain-containing protein	gi41393057	117534.5	20	N/A			22.6				0		
228	inositol 1,4,5-trisphosphate receptor, type 1	gi10835023	396773.3	59	0.99			22.6		21.5		0		0
229	surfactant, pulmonary-associated protein A2	gi13346506	26168.3	8	0.95					22.6				2
230	PREDICTED: similar to Dual specificity protein phosphatase 1	gi51468522	36368.5	5	0.84					22.3				2
232	mitochondrial ribosomal protein L45	gi34304322	35242.8	5	0.98					22.1				4
233	hypothetical protein FLJ20436	gi46367765	43483.0	13	N/A			22.1				2		
234	heparan sulfate 6-O-sulfotransferase 5	gi41393593	85896.7	8	0.64					21.9				3
235	heparan sulfate 6-O-sulfotransferase; heparan sulfate 6-O-sulfotransferase	gi12545389	47075.8	12	N/A					21.9				2
236	rab-related GTP-binding protein	gi39930371	25006.7	7	0.99			10.7		21.8		2		2
237	helicase/primase complex protein	gi19923863	27864.8	5	0.81			21.8				7		
238	similar to S. cerevisiae SSM4	gi33589648	102545.2	23	N/A					21.8				0
239	PREDICTED: similar to Vascular endothelial growth factor receptor 3	gi51464024	47909.0	10	N/A			21.7				2		
240	zinc finger protein 639; Kruppel-like, zinc finger protein	gi7705935	56054.4	27	N/A			21.7				2		
241	BarH-like 1; BarH (Drosophila)-like 1	gi14149728	35074.5	5	N/A					21.7				5
242	cathepsin S propeptide	gi23110962	37495.7	11	1.02					21.7				2
243	sarcoendoplasmic reticulum Ca2+-ATPase isoform a	gi28373103	109258.2	25	N/A			21.6				1		
244	glypican 5	gi4758484	63707.0	20	N/A			21.5				1		
245	leucine rich repeat transmembrane neuronal 2	gi282102	59078.2	18	0.62					21.5				2
246	solute carrier family 12, member 8; solute carrier family 12, member 8	gi38589457	78224.8	14	0.94			21.4		13.9		1		1
247	zinc finger protein 228	gi34932255	105076.4	44	N/A			19.1		21.4		0		1
248	PREDICTED: similar to Mucin 1 precursor (MUC-1) (P1)	gi51466822	93058.4	22	N/A					21.4				0
249	tankyrase, TRF1-interacting ankyrin-related ADP-ribosyltransferase	gi4507813	142011.5	31	1.38					21.3				0
250	1-acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase 3; lysophospholipase	gi9910394	43381.0	10	0.89					21.3				1
251	ATP-binding cassette, sub-family C, member 4; canalicular ATPase	gi5031915	149540.8	16	0.57					21.3				0
252	brain glycogen phosphorylase; glycogen phosphorylase	gi21381370	96896.0	12	N/A					21.3				1
253	potassium channel tetramerization domain containing 3	gi46255026	88984.0	12	N/A			21.3		14.6		1		1
254	PREDICTED: similar to ODZ3	gi51464355	21895.0	7	0.99			15.6		21.3		5		5
255	potassium voltage-gated channel, Shal-related subfamily 1	gi9789987	70536.5	18	N/A			21.2				1		
256	pigg/Bac transposable element derived 2	gi25777742	68011.4	16	0.88					21.1				2
257	hypothetical protein FLJ90430	gi30425538	81740.8	33	0.79			21.1		11.6		2		1
258	aryl hydrocarbon receptor	gi4502003	96147.4	18	0.91			21.0				1		0
259	SH3 and cysteine rich domain; arc homology three (SH3 domain)	gi4507247	44553.6	11	N/A					21.0				2
260	phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase, type I, beta	gi4505812	81036.3	4	0.48					20.9				1
261	leucine-rich repeats and immunoglobulin-like domains 4	gi37551987	76433.8	16	N/A			20.9			</			