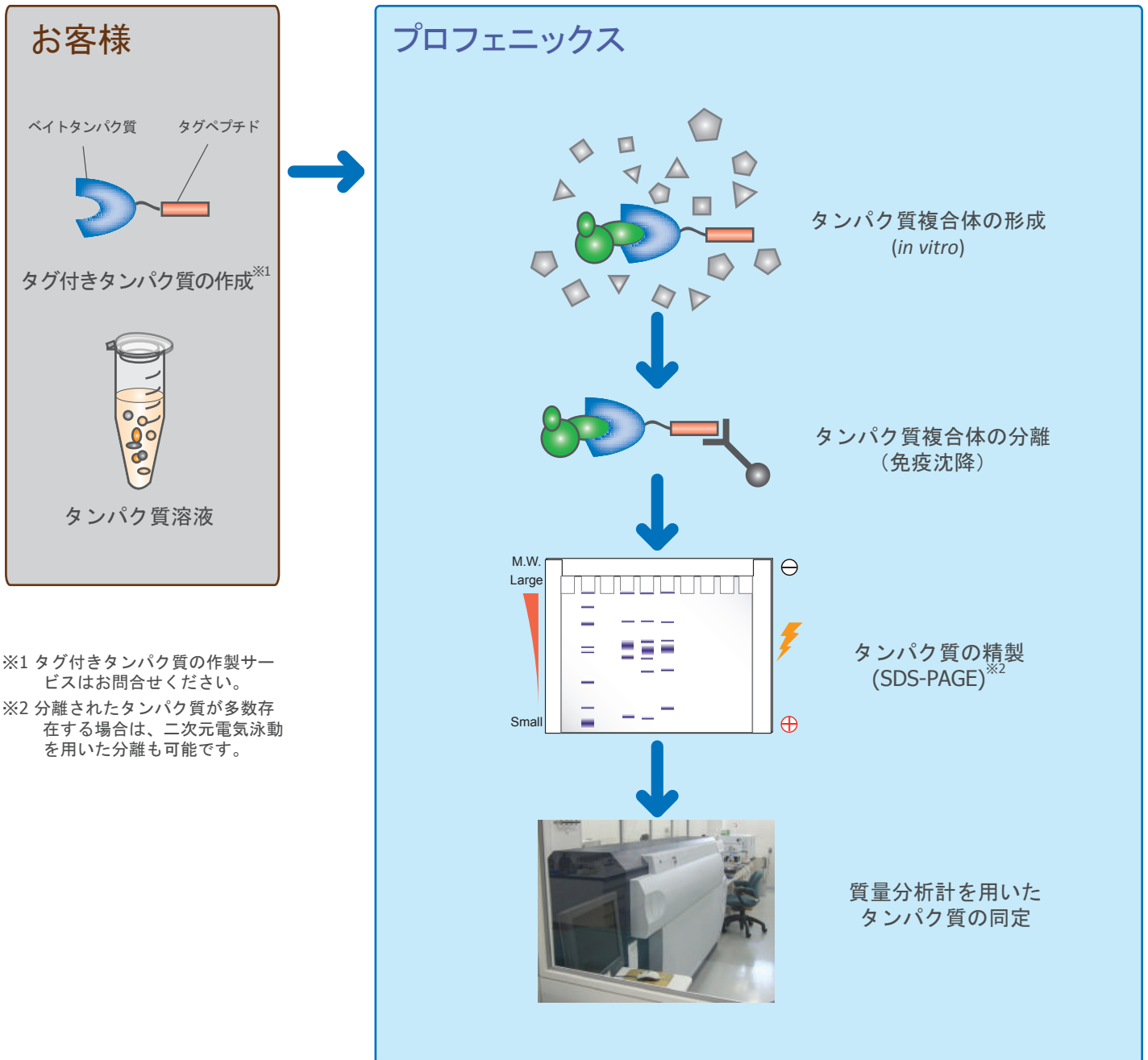


4. Focused Proteome

4-1

タンパク質相互作用(インタラクトーム)解析

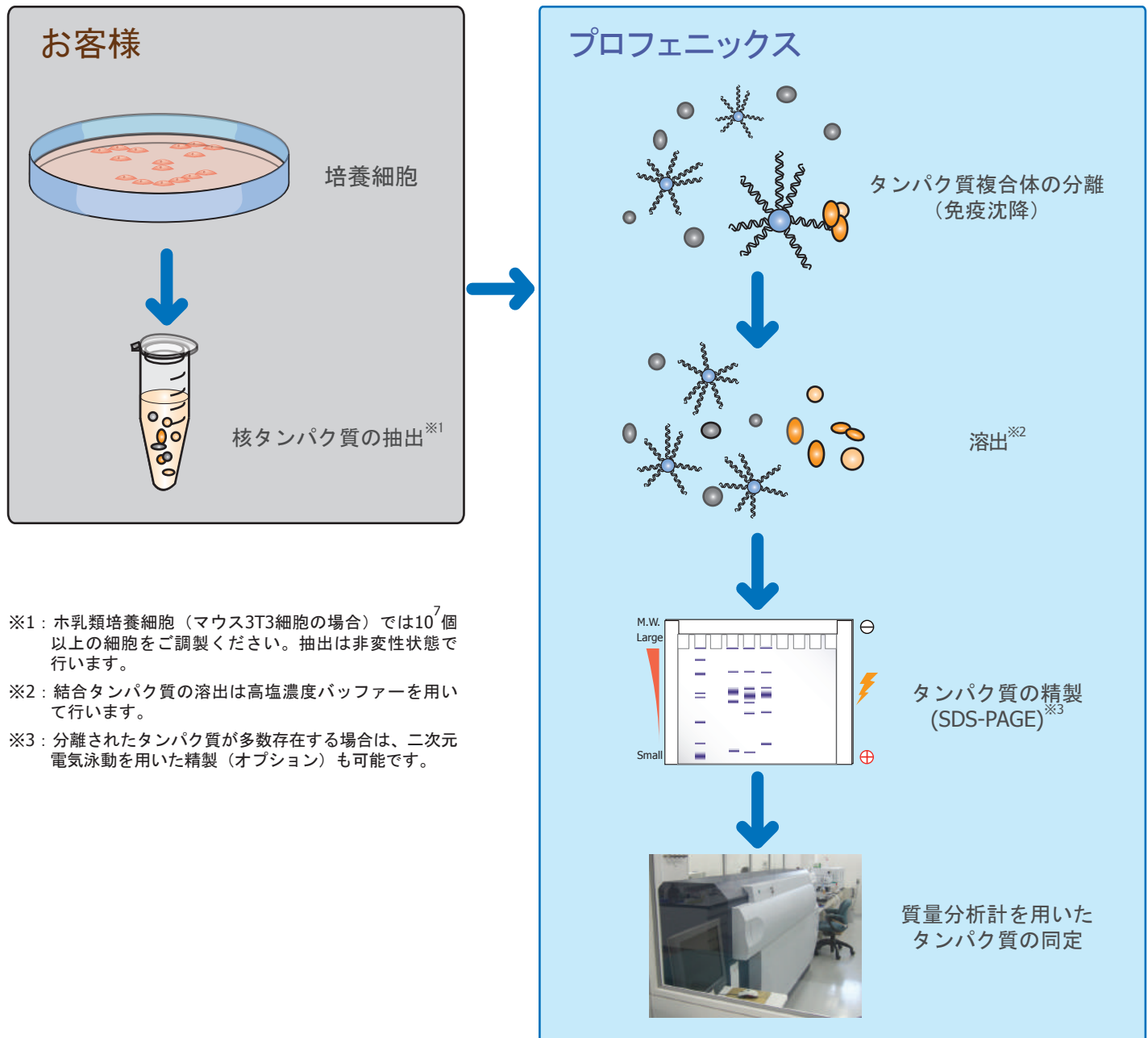
Pull-down法は特定のタンパク質に対して相互作用するタンパク質(interactome)を探索する技術として有効な解析手法のひとつです。タグペプチドを結合させたベイトタンパク質と相互作用するタンパク質を免疫沈降で分離し、得られたタンパク質を質量分析計を用いて同定します。



特徴

- タグ付きタンパク質の作製から質量分析による同定までトータルで実験をサポートします。
- 核内転写因子複合体などの解析にも最適です。
- 目的に応じてタンパク質の発現系 (in vitro・大腸菌・真核細胞・カイコなど) を選択できます。
- 部分的なコース解析も選択可能です。

DNA結合タンパク質の多くは、遺伝子の発現調節やクロマチンの高次構造形成に関与しており、細胞の機能や生理現象を研究する上で非常に重要な分子だと考えられています。このサービスでは細胞から核タンパク質を非変性条件で抽出し、DNAに親和性のあるタンパク質をDNA結合ビーズを用いて分離します。分離されたDNA結合タンパク質は、高感度の質量分析計を用いて同定します。



特徴


- 核タンパク質の抽出から質量分析によるタンパク質の同定までトータルで実験をサポートします。
- 細胞内タンパク質の分画とDNA親和性に基づく濃縮の両方を行うため、低発現量タンパク質の解析にもご利用できます。
- それぞれのステップごとの解析も承ります。
- 標準プロトコルでは、ビーズに結合させるDNAにはウシ胸腺DNAを使用しますが、その他の特異的配列を有するDNAも対応可能です。詳細はお問い合わせください。

4-3

血清タンパク質の解析サービス

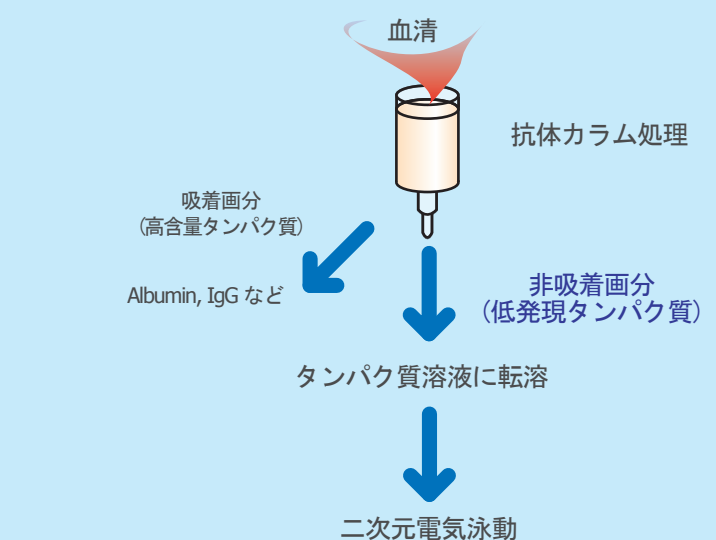
疾病の指標となるバイオマーカーは、創薬プロセスで重要な役割を果たします。血清にはタンパク質バイオマーカーが必ず含まれ、採取の際の侵襲性が低いことから研究・診断の対象となっています。しかし、アルブミンをはじめとする含量が極めて高いタンパク質の存在が分析の障害になってきました。このサービスでは、抗体カラムを用いて血清中の高含量タンパク質を取り除き、バイオマーカーとなる低発現タンパク質を解析します。処理後のサンプルは、高い分解能を持つ大型二次元電気泳動でプロファイルされ、微量のバイオマーカーの検出を可能にします。

お客様



採血と血清処理

プロフェニクス



泳動条件

サンプル： 左 ヒト血清 (除去前)
右 ヒト血清 (除去後)

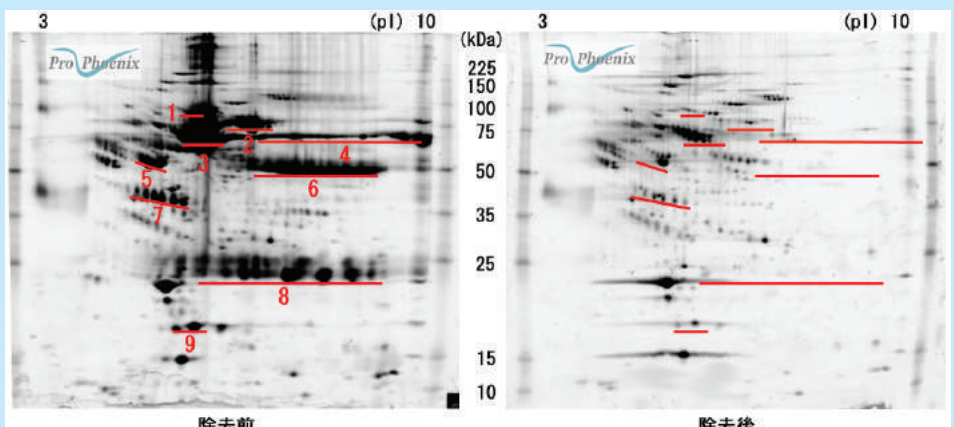
サンプル量： 10 μ L (0.816 mg)

一次元： pI 3-10, 18cm IPG strip gel

二次元： 18 cmアクリルアミド濃度勾配ゲル

染色： SYPRO Ruby染色

解析例



除去前

除去後

※ヒト由来サンプルの場合にはサンプルの安全性に関する情報提供をお願いします。

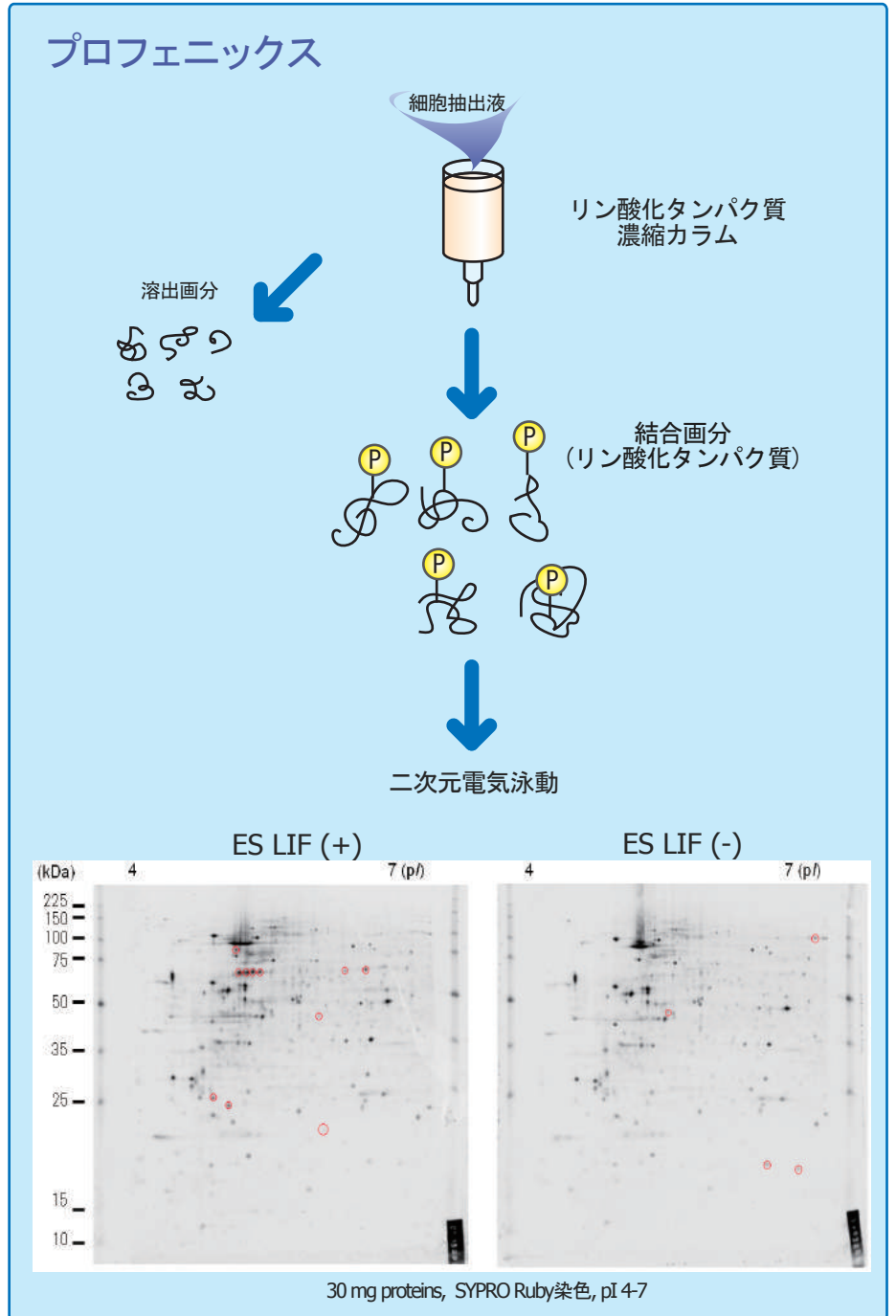
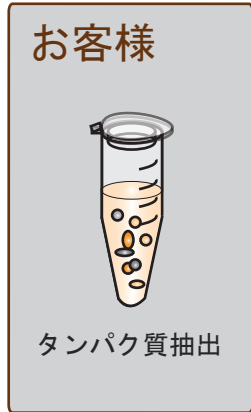
特徴

- 抗体カラム処理を行うことにより、アルブミン、トランスフェリン、IgG、IgA、ハプトグロビン、アンチトリプシンなどの高含量タンパク質を血清サンプルから取り除きます。
- 処理後の血清サンプルはご指定の条件で二次元電気泳動分析いたします。
- 血清タンパク質の90%が取り除かれ、血清中の微量タンパク質を約10倍濃縮する効果が得られます。
- 血清以外にも関節液、脳脊髄液などの組織液への適用が可能です。
- 対応生物種は、ヒトおよびマウス・ラットとなります。他の生物種につきましてはご相談ください。

4-4

リン酸化タンパク質の網羅的解析

リン酸化タンパク質を精製濃縮することで、細胞中に微量に発現したリン酸化タンパク質を網羅的に解析します。



解析例

マウスES細胞は増殖因子の一種である Leukemia inhibitory factor (LIF)の添加によって、多能性を維持した状態で培養が可能です。この機構にはJAK-STAT3シグナル伝達系の活性化が重要であることがわかっていますが、それ以外のシグナル系も重要と考えられています。そこで、LIFを添加することでES細胞内のリン酸化タンパク質がどのように変動するか、リン酸化タンパク質に親和性のあるカラムと二次元電気泳動・質量分析計を用いて、網羅的な解析をおこないました。

- ※カラム濃縮により全タンパク質の約10%がリン酸化タンパク質画分として回収されました。
- ※リン酸化タンパク質画分を二次元電気泳動したところ、LIFの有無によって変動するスポットを多数検出することができました(右図○)。
- ※本研究は広島大学大学院理学研究科発牛生物学研究室との共同で行われました。(2002-2004年)

特徴

- リン酸化タンパク質と非リン酸化タンパク質を分離します。
- 濃縮することで、発現量の低いリン酸化タンパク質が検出可能です。
- 濃縮後は大型二次元電気泳動で網羅的に解析いたします。
- リン酸化サイトの決定に関しては、次頁をご覧ください。

4-5

リン酸化サイト同定解析

タンパク質は様々な翻訳後修飾を受けることによって本来の機能を発揮します。なかでも、リン酸化は細胞の増殖の調節や酵素の活性、細胞内シグナル伝達などに関わる重要な生命現象です。しかし、リン酸化のような翻訳後修飾は遺伝子解析では推定することが出来ず、タンパク質を直接解析することが必要です。本サービスでは、高感度質量分析計 ultraflex TOF/TOF (Bruker Daltonics社製)を用いてリン酸化サイト同定解析を行います。

