

BMB 2007 学会要旨

熱ショックによる細胞内熱ショックによる細胞内蛋白の局在変動解析

○田中 幸枝, 岸本 由香, 山本 淳子, 松川 茂

(福井大学・総合実験研究支援センター・バイオ実験機器部門)

Fluorescence DIGE Analysis for Dynamic Changes in Subcellular Localization of Whole Cell Proteins

○Yukie Tanaka, Yuka Kishimoto, Junko Yamamoto, Shigeru Matsukawa

Division of Bioresearch Laboratories, Centers for Advanced Research Support, Univ. of FUKUI

蛍光ディフレンス二次元電気泳動 (two-dimensional difference gel electrophoresis: 2D-DIGE) 法では、複数の生体試料由来のタンパク質を異なる蛍光色素で標識し、同一ゲル上で二次元電気泳動を行うことで、一度に数千のタンパク質の発現変動を定量的かつ網羅的に解析することが可能である。これは、別々の試料に由来するタンパク質を同一ゲル内で分離するので、同じタンパク質のスポットは一致した分離パターンを示すが、試料毎に検出波長が異なるので、それぞれを識別することができる。

我々は、この手法を用いて、ヒートショック処理によるストレス刺激で引き起こされるタンパク質の細胞内局在変動の網羅的解析を試みた。43.5℃で90分間ヒートショック処理後、37℃で3時間、あるいは6時間培養した細胞から、細胞質、膜、核の各画分に存在するタンパク質を抽出分離し、コントロール(ヒートショックなし)細胞から分離した各画分中の蛋白質との比較を網羅的に行った。3種の蛍光色素を用いて解析を行うDIGE法においては、同一ゲル中に泳動するサンプルの組み合わせにより、局在変動タンパク質を視覚的に捉えることができることは興味深いことであり、更に二次元電気泳動解析ソフトProgenesis PG240を用いてそれぞれの変動解析を行った。