

[巻一覧](#) | [English](#)>> [発行機関ホームページ](#)

著者名:

検索語:

[詳細](#)お気に入り
記事に追加お気に入り
資料に追加My J-STAGE
ヘルプ[TOP](#) > [巻一覧](#) > [目次一覧](#) > 書誌事項

日本ヒトプロテオーム機構第3回大会

ETTAN-DIGE法と ^{13}C NBS同位体標識法による新しいプロテオミクスの展開*田中 幸枝¹⁾, 佐々 美里¹⁾, 九山 浩樹²⁾, 西村 紀²⁾, 松川 茂¹⁾

1) 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

2) (株) 島津製作所ライフサイエンス研究所

Abstract: 現在のプロテオームの網羅的発現解析には、1) 2D-PAGE/MALDI-TOF/MSと2) 2D-HPLC/ESI-MS/MSという2つの大きな流れがあり、1) ではETTAN-DIGE法が2D-PAGEの再現性の難問を解決し、蛍光量の相対比から発現量を決めることが容易になった。この方法は、スポットパターンが視覚化できることが最大の強みであり、2) の方法のように、分析中のペプチドがどの蛋白由来なのか分からない不安感を感じさせない利点がある。しかし、分離可能で視認可能なスポット数は通常では2-3千が限界であり、かつ微量蛋白では解析できない場合もある。一方、2) では質量分析装置の感度と微量サンプルに適した分離装置の組み合わせで高感度化が図られている上に、数々の手法が導入されている利点がある。例えば $^{16}\text{O}_2$ / $^{18}\text{O}_2$ 法、ICAT法、iTRAQ法などであるが、いずれも抽出後ラベル化法が採用されている。

九山ら(島津製作所)の開発したNBS法は2-nitrobenzenesulfonylchlorideとトリプトファンのインドール側鎖との特異的反応を利用したもので、ベンゼン環の炭素を全て ^{13}C に置換すると6質量差を生ずることができること、多くの蛋白は1-2個のトリプトファンを含むことから、HPLC/ESI-MSを用いた網羅的解析に用いられる。特長は数少ないトリプトファン残基を標的とし、標識効率が高く完全に全蛋白が標識でき、標識された各蛋白は分離への影響が最も少ないことである。これらの点は、2D-PAGE分析にも適格である。

我々は、NBS試薬でラベルされた蛋白の2D-PAGEにおける分離を検討した。まず、2種のマウス組織抽出液を作製し、NBS試薬(軽元素型と重元素型)で標識し、次に蛍光DIGE試薬のCy3/Cy5でミニマルラベルしてから2サンプル

を混合し、2D-DIGE法にてタンパクを分離し、各スポット中のCy3／Cy5蛍光比を算出した。CBB染色でスポットの位置を調べたが蛍光スポットの位置と一致していた。20スポットを切り出し ” in gel ” 消化してMALDI-TOF/ MS分析すると6質量差のスペクトルピークを持つスポットでは、そのピーク比は蛍光比と相関した。

本法は、翻訳後修飾の解析にも適用できる可能性がある以外に、二次元ゲル中で展開された総蛋白の発現量の比較を行う大規模解析に拡張できる可能性も示唆される。

Keywords: NBS; 2D-DIGE; MALDI-TOF/MS

Copyright (c) 2005 日本ヒトプロテオーム機構

[Japan Science and Technology Information Aggregator, Electronic](#)

