

研究成果報告書

(国立情報学研究所民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		網羅的プロテオーム解析方法の確立とその応用			
研究テーマ (欧文) AZ		Establishment and application of comprehensive proteome analysis			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓)ツジモト	名)ヨシユキ	研究期間 B	2007～ 2009年
	漢字 CB	辻本	善之	報告年度 Y	2009
	ローマ字 CZ	Tsujimoto	Yoshiyuki	研究機関名	京都府立大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		京都府立大学 生命環境科学研究科 助教			
概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください) タンパク質の質と量を網羅的に解析するプロテオーム解析は、生命現象を分子レベルで理解する上で、強力なツールの一つである。等電点電気泳動 (IEF) と SDS-ポリアクリルアミド電気泳動 (SDS-PAGE) を組み合わせた二次元電気泳動 (2D-GE) は、その簡便性と高分解能のために、広く利用されている。しかしながら、サンプル中に含まれる核酸などによるタンパク質プロファイルの妨害や、疎水性の高い膜タンパク質の分離がほとんど不可能であることなどの欠点がある。 我々は、大腸菌と酵母を用いて、サンプル調製法や電気泳動条件などを精査することにより、簡便で再現性の良い 2D-GE 方法を検討した (1)。更に、条件検討を加え、従来法に比べてより改善されたタンパク質プロファイルを得ることができた。しかし、疎水性の高い膜タンパク質を 2D-GE で分離することはできなかった。そこで、2D-GE 用サンプルの不溶性画分を SDS-PAGE で分離した結果、各タンパク質バンドの分離が確認できた。従って、我々が改良した 2D-GE 法と従来の SDS-PAGE 法を組み合わせることにより、細胞内で発現しているほとんどのタンパク質の分離・同定が可能となった。 上記方法を用いて、醸造用酵母のプロテオーム解析を試みた結果、実験室酵母に比べて、2D-GE によるタンパク質分離が不十分であった。この要因は醸造用酵母により多く含まれる核酸であることが判った。そこで、更にサンプル調製法を改良した結果、十分なタンパク質プロファイルを得た。 さらに、ラットがん細胞 (2) や大腸菌 (投稿準備中) に対して、我々が改良した 2D-GE 法が応用できることを示した。今後、不溶性画分においても解析を行う予定である。 (1) <u>Tsujimoto Y</u>, Taguchi N, Hirooka K et al., Comparison of solubilization and preparation procedures for membrane-enriched proteome analysis. <i>J Electrophoresis</i>, 2007; 51(2):15-20. (2) Nakamura Y, Kominami A, <u>Tsujimoto Y</u>, et al., Actin and Vimentin proteins with N-terminal deletion detected in tumor bearing rat livers induced by intraportal-vein injection of <i>Ha-ras</i> transfected rat liver cells, <i>Int. J. Cancer</i>, 2009; 124(11):2512- 2519					
キーワード FA	二次元電気泳動	膜タンパク質	酵母		

(以下は記入しないでください)

助成財団コード TA						研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC						シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入して下さい）

雑誌	論文標題 GB	Actin and Vimentin proteins with <i>N</i> -terminal deletion detected in tumor bearing rat livers induced by intraportal-vein injection of <i>Ha-ras</i> transfected rat liver cells,									
	著者名 GA	Nakamura Y, Kominami A, Tsujimoto Y et al.	雑誌名 GC	<i>Int. J. Cancer</i>							
	ページ GF	2512~2519	発行年 GE	2	0	0	9	巻号 GD	124(11)		
雑誌	論文標題 GB										
	著者名 GA		雑誌名 GC								
	ページ GF	~	発行年 GE					巻号 GD			
雑誌	論文標題 GB										
	著者名 GA		雑誌名 GC								
	ページ GF	~	発行年 GE					巻号 GD			

欧文概要EZ

Proteome analysis is a powerful tool for understanding biological phenomenon, and is mostly performed by two-dimensional gel electrophoresis (2D-GE). The resolving ability of 2D-GE is usually sufficient to separate soluble and mildly hydrophobic proteins. However, nucleic acids in the sample interfere with the profile. In addition, separation of high hydrophobic and some membrane proteins with 2D-GE are often insufficient. Using *Eschericia coli* and yeast cells, we have established a more rapid and convenient method, in which sample preparation is used to solubilize proteins and remove nucleic acids from proteins samples. Thereafter, the methods were additionally improved. Insoluble proteins in the proteins samples for 2D-GE were able to separate using SDS-PAGE. Thus, we can separate and identify almost all proteins in the cell.

We analyzed some organisms such as yeast and cancer cells using the proteome methods. The profile of the brewing yeast cells was insufficient due to much more nucleic acids. The method for sample preparation was improved. Our method will be a powerful tool for proteome analysis.