

AXIMAによるプロテオーム解析の実際例

タンパク質の網羅的解析である「プロテオーム解析」は、ポストゲノムの有力な流れになりつつあります。ここではAXIMA-CFRによるプロテオーム解析の実際例として、ラン藻 *Anabaena* sp. PCC7120株のプロテオーム解析で行われた分析の一例について紹介します。

ペプチドマスフィンガープリント(PMF)

PMF法は質量分析計を用いてタンパク質を同定する方法の一つです。まず、二次元電気泳動法などで分離されたタンパク質をトリプシンなどで消化し、得られた複数のペプチド消化断片のマス値を測定します。次にこのデータセットと、DNA・タンパク質データベースから計算された理論値と比較することにより同定します。Fig. 1に二次元電気泳動パターン(a)と、そのうちの一つのスポットのPMFスペクトル(b)を示します。PMF法により、このタンパク質はFig.2(次頁)に示した遺伝子産物と同定されました。

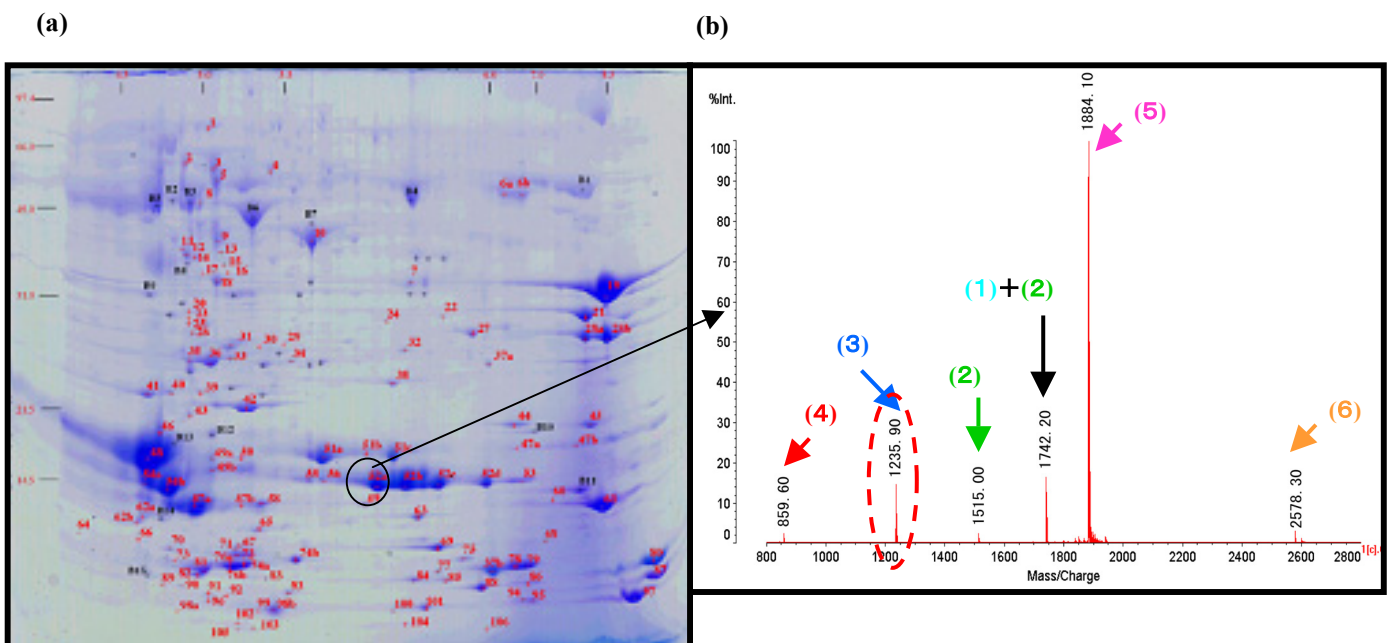


Fig. 1 *Anabaena* sp. PCC7120株の全タンパク質の二次元電気泳動パターン(a)とPMFスペクトル(b)

遺伝子

A29674:

Anabaena sp. PCC 7120

C-PHYCOCYANIN

ALPHA CHAIN

全長アミノ酸配列

VK⁽¹⁾ TPITEAIAAADTQGR⁽²⁾ FLGNTELQSAR⁽³⁾ GR
YER AAASLEAAR⁽⁴⁾ GLTSNAQR LIDGATQAVYQK
PYTTQTPGPQFAADSR⁽⁵⁾ GK SK CAR DVGHYLR
HTYSLVAGGTGPLDEYLIAGLAEINSTFDLSPSWYVEALK
HIK ANHGLSGQAANEANTYIDYAINALS⁽⁶⁾

Fig. 2 同定されたタンパク質の遺伝子と、コードされているタンパク質の全長アミノ酸配列。
()内の数字はFig.1の数字に対応

PSD(Post Source Decay)による分析

PSDによるMS/MS分析は、ペプチドの構造解析に有用な方法です。Curved Field ReflectronによるPSD分析は、フラグメントイオンの質量によってリフレクトロンの電場の設定を変えることなく、一度の分析で全範囲のフラグメントイオンを検出するために迅速な分析が可能です。Fig. 1中のペプチド(3)のマスピークについてPSD分析を行ったところ、Fig. 3のスペクトルを得ることができました。この結果、全11アミノ酸のうち9アミノ酸について配列を確認することができました。

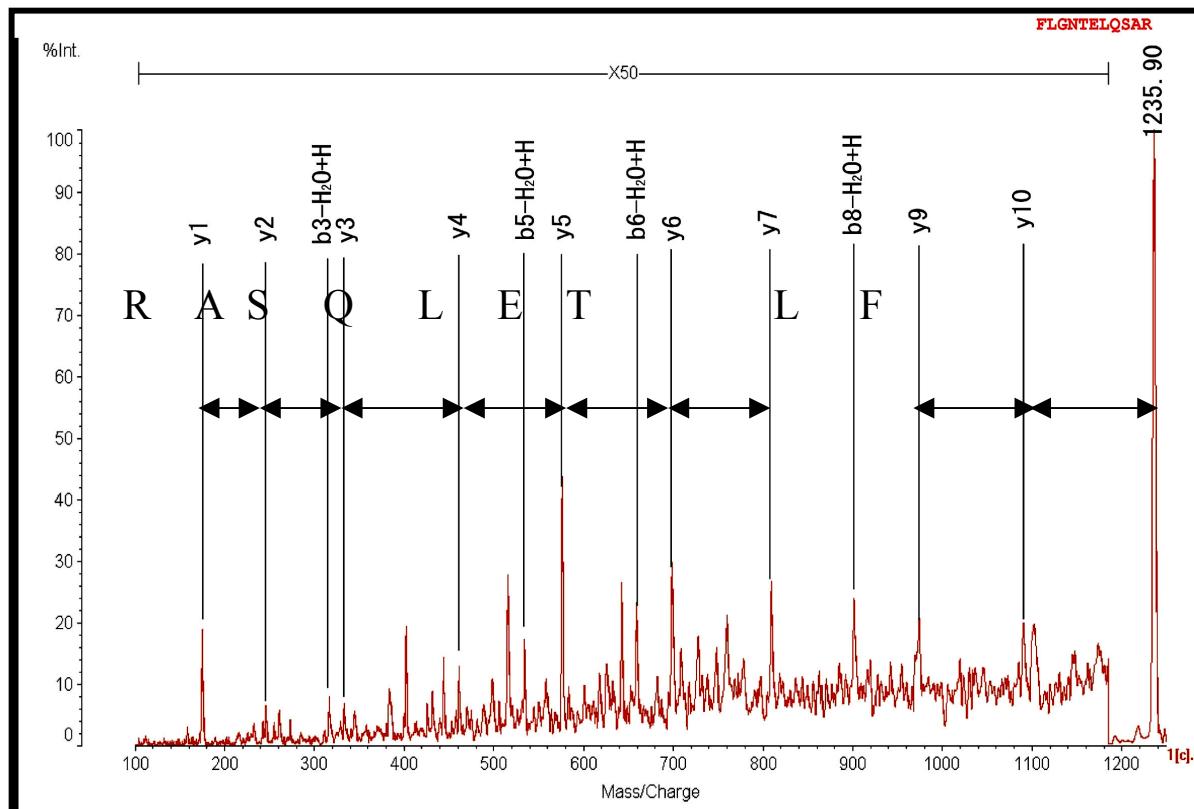


Fig. 3 ペプチド(3)のPSDスペクトル。図中に対応するアミノ酸を一文字表記法で示す。
ゲノム配列から予想されるアミノ酸配列はFLGNTELQSAR。

このようにPMF法によってタンパク質が同定され、またPSD分析により消化ペプチドのアミノ酸配列が確認されました。AXIMA-CFRのハイスループット・高精度解析能力は「プロテオーム解析」でのソリューションを約束します。

データ提供: かずさDNA研究所・佐塚博士