

タンパク質のスクリーニング

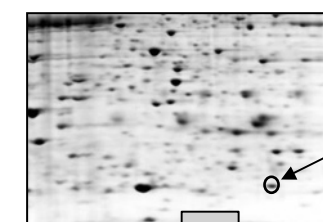
～局所変異アミノ酸シーケンスをもつタンパク質の解析を例に～

プロテオーム解析を行う際、我々は膨大な数のタンパク質を解析しなければなりません。意味のあるデータをより早く見つけるには、「ハイスループット解析」とともに「正確なタンパク質のスクリーニング」が非常に重要となります。

スクリーニングの正確性は、結果として研究のスピードや質を大きく向上させることにつながります。

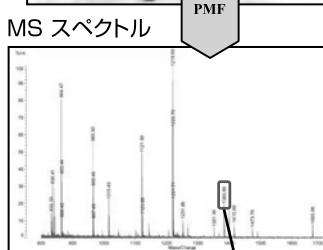
現行ではタンデム型質量分析計を用いたMS/MSシーケンスによるタンパク質同定が、最も有効なツールとして認識されていますが、果たしてより早く正確にタンパク質を同定・識別できるのでしょうか？

今回は、ラット脳組織に含まれるタンパク質の二次元電気泳動スポットを用い、PMF法及びMS/MS法による解析結果を比較検討した例をご紹介します。



ラット脳組織の二次元電気泳動結果

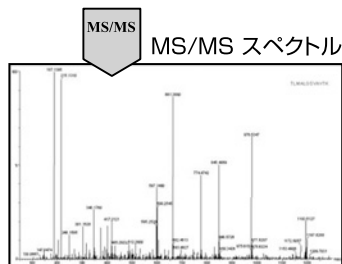
左記丸枠内に示したスポットをゲル内消化後、質量分析を行い、その結果をMascot検索にかけ、検索結果を比較検討しました。



Mascot検索結果 (PMF)

Observed Mr(expt)	Mr(calc)	Delta	Start-End	Miss	Sequence
836.41	835.40	835.42	-0.02	5 - 12	GPSYGLSR
1665.96	1664.95	1664.91	0.04	65 - 79	LINSLYPPGQEPYK
1251.68	1250.67	1250.63	0.04	89 - 98	QMEIQSPLK
864.47	863.46	863.45	0.01	99 - 106	AAEVYGVK
1015.49	1014.48	1014.47	0.02	146 - 153	GEPSWFHR
1143.63	1142.62	1142.56	0.06	146 - 154	1 GEPSWFHRK
1121.59	1120.58	1120.56	0.02	160 - 168	1 RGFSEQLR
965.50	964.49	964.46	0.03	161 - 168	0 GFSEQLR
1473.79	1472.78	1472.74	0.04	169 - 182	0 QGNVIGLQMSNK
1383.66	1382.65	1382.61	0.05	183 - 196	0 GASQAGMFGYK

Observed Mr(expt)	Mr(calc)	Delta	Start-End	Miss	Sequence
836.41	835.40	835.42	-0.02	5 - 12	GPSYGLSR
1665.96	1664.95	1664.91	0.04	65 - 79	LINSLYPPGQEPYK
1251.68	1250.67	1250.63	0.04	89 - 98	0 QMEIQSPLK
864.47	863.46	863.45	0.01	99 - 106	0 AAEVYGVK
1015.49	1014.48	1014.47	0.02	146 - 153	0 GEPSWFHR
1143.63	1142.62	1142.56	0.06	146 - 154	1 GEPSWFHRK
1121.59	1120.58	1120.56	0.02	160 - 168	1 RGFSEQLR
965.50	964.49	964.46	0.03	161 - 168	0 GFSEQLR
1473.79	1472.78	1472.74	0.04	169 - 182	0 QGNVIGLQMSNK



Mascot検索結果 (MS/MS)

Observed Mr(expt)	Mr(calc)	Delta	Start-End	Miss	Ions	Peptide
611.79	1221.57	1221.59	-0.01	55 - 64	0	45 WLMGDTLVCK
833.94	1665.86	1664.91	0.95	65 - 79	0	21 LINSLYPPGQEPYK
626.31	1250.61	1250.63	-0.02	89 - 98	0	56 QMEIQSPLK
826.90	1651.78	1651.81	-0.03	107 - 120	0	82 TDFQTVDLWEGK
595.83	1189.65	1189.67	-0.02	128 - 139	0	50 TLMALGSVAIVK
737.38	1472.74	1472.74	-0.00	169 - 182	0	38 QGNVIGLQMSNK

Observed Mr(expt)	Mr(calc)	Delta	Start-End	Miss	Ions	Peptide
611.79	1221.57	1221.59	-0.01	55 - 64	0	45 WLMGDTLVCK
833.94	1665.86	1664.91	0.95	65 - 79	0	21 LINSLYPPGQEPYK
626.31	1250.61	1250.63	-0.02	89 - 98	0	56 QMEIQSPLK
826.90	1651.78	1651.81	-0.03	107 - 120	0	82 TDFQTVDLWEGK
595.83	1189.65	1189.67	-0.02	128 - 139	0	50 TLMALGSVAIVK
737.38	1472.74	1472.74	-0.00	169 - 182	0	38 QGNVIGLQMSNK

MS/MS法とは異なり、PMF法では図中に示したフラグメントイオンが検出でき、結果としてごく一部分のみにしか差のないタンパク質を、正確に同定できました。

PMF法およびMS/MS法におけるSequence Coverage

・・・データベースと一致したペプチド断片を示しています

→PMF法はMS/MS法よりSequence Coverageにおいても優れていると言えます

PMF法...44%

```

1  MANRGPPSYGL SREVQEKIEQ KYDADLENKL VDWIILQCAE DIEHPPPGRT
51  HFQKWLMDGT VLCKLINSLY PPGQEPIPKI SESKMAFKQM EQISOFLKAA
101 EVYGVRTTDI FQTVDLWEGK DMAAVQRTLM ALGSVAVTKD DGCYRGEPSW
151 FHRKAQNNR GFSEELROG QNVIGLQMSG NKGASQAGMT GYGMPRQIM
  
```

MS/MS法...38%

```

1  MANRGPSYGL SREVQEKIEQ KYDADLENKL VDWIILQCAE DIEHPPPGRT
51  HFQKWLMDGT VLCKLINSLY PPGQEPIPKI SESKMAFKQM EQISOFLKAA
101 EVYGVRTTDI FQTVDLWEGK DMAAVQRLLM ALGSVAVTKD DGCYRGEPSW
151 FHRKAQNNR GFSEELROG QNVIGLQMSG NKGASQAGMT GYGMPRQIM
  
```



株式会社 島津テクノリサーチ
SHIMADZU TECHNO-RESEARCH

本社 / 〒604-8435 京都市中京区西ノ京三条坊町2番地の13
Tel: (075) 811-3181 Fax: (075) 821-7837
<http://www.shimadzu-techno.co.jp>