

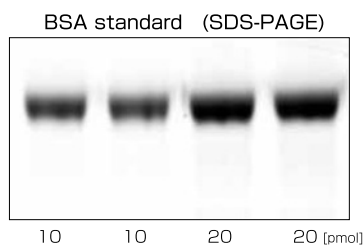
内部アミノ酸配列解析

質量分析機の精度向上に伴いプロテオーム解析技術は飛躍的に発展し、タンパク質解析でもついにハイスループット解析に突入しつつあります。

しかし、プロテオーム解析ではゲノム情報に基づく解析が基本でありますので、例えばゲノム情報が不確定である生物種ではこの手法は必ずしも最適な方法であるとはいえません。

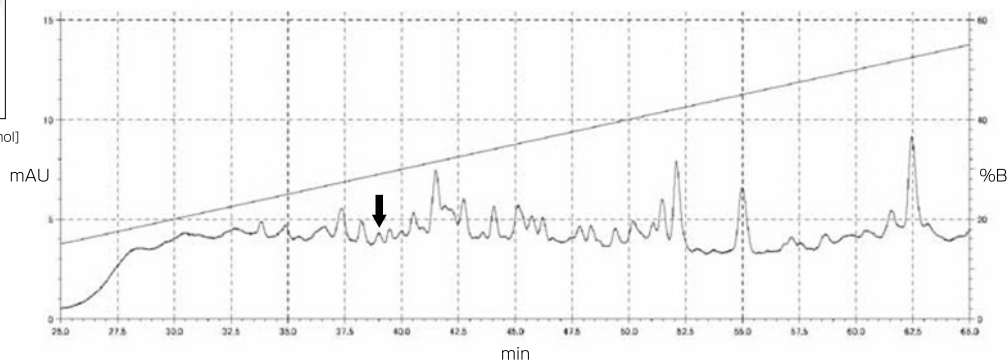
またタンパク質はその性質上、一筋縄にはいかないこともありますので、従来のエドマン法をベースとしたアミノ酸配列解析法もいまだ重要な解析技術として使用されています。

今回はそのなかでもタンパク質内部アミノ酸配列の手法を紹介致します。



In-gel Digestion～HPLC精製

バンドを還元アルキル化後Lysyl EndopeptidaseによりIn-gel digestionを行い、ゲルより抽出したペプチド断片をHPLCにて精製分取をおこなう。



アミノ酸配列解析

分取したペプチド断片を、プロテインシーケンサーにてアミノ酸配列解析を行う。

得られた配列はClustalWによりBSAの配列に対してアラインメントを行い、結果を確認する。

上記断片 (矢印) は、BSAアミノ酸配列の29-35残基と一致しました。

```

CLUSTALW Result
  BSA      VFRRDTHKSEIAHRFKDLGEEHF
  Fr14     -----SEIAHRF-----
           *****
  
```

今回20pmol BSAを用いたシーケンス解析において、10個のペプチド断片から7残基/断片の解析を行い、得られた配列情報はすべて、BSAの内部アミノ酸配列に一致しました。

◇内部配列解析法では確実なシーケンス情報が得られます。
 ……特に未知タンパク質やゲノム情報の得られていない生物を研究対象とされている方に最適です！

