

## 組織/血液/セルラインサンプルにおけるインタクトペプチド、翻訳後修飾（リン酸化、他）解析の最新技術の紹介

### [演題 1] A Method to Prevent Protein Degradation in Tissue / Blood / Cell Line Samples - Key for High Quality Peptidomics and Proteomics

Mats Borén, PhD Denator AB, Gothenburg, Sweden

Loss of sample quality during sample handling and processing is a serious problem in proteomics. The Stabilizer T1 effectively prevents post sampling changes, enabling proteomic studies of higher quality. The effect of stabilization will be exemplified on peptides, proteins and post-translational modifications. The effect in novel applications such as tissue phospho-shotgun and dried blood spots (DBS) will be shown.

### [演題 2]安定同位体標識タンパク質を内部標準とするタンパク質量および翻訳後修飾部位同定法の開発 Development of Absolute Quantitative Assay with Labeled Protein (AQUA protein) for Protein Quantification and Identification of Post-translational Modification Sites.

上家 潤一 麻布大学獣医学部 獣医病理学研究室

Junichi Kamiie Laboratory of Veterinary Pathology, School of Veterinary Medicine, Azabu University

目的タンパク質の断片ペプチドを対象とし、安定同位体標識ペプチドを内部標準として Selected Reaction Monitoring (SRM)で測定するタンパク質量法が普及しつつある。従来のプロテオーム研究では困難であった微量タンパク質の定量法として注目されているが、定量精度の向上、翻訳後修飾の解析など解決すべき課題は多い。

我々は、全てのアミノ酸残基が安定同位体標識された全長タンパク質を内部標準とし、SRM で測定することで、発現量の定量および翻訳後修飾部位の同定を同時に測定する手法を開発した(AQUA protein) (図1)。タンパク質を内部標準とすることで、従来のペプチドを内標とする定量法の課題であった前処理における損失補正が可能となる。本法で用いている内部標準は大腸菌発現タンパク質であり、哺乳類の翻訳後修飾を受けておらず、得られる定量値は非修飾ペプチドに由来する。従って、修飾部位は平均定量値より低値を示すことから同定される(図2)。また、平均値との定量値の

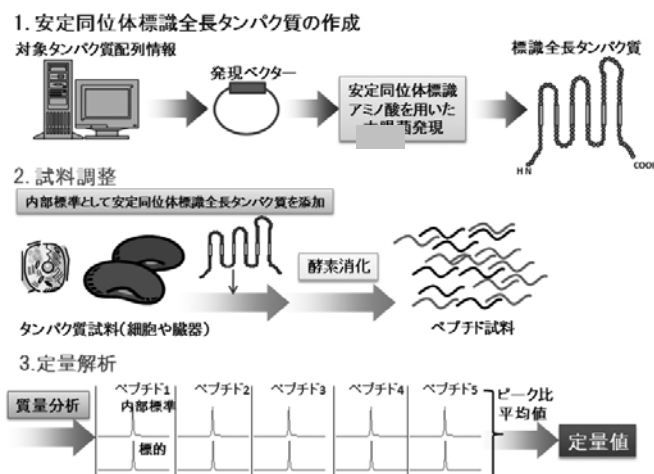


図1.新規定量法の原理

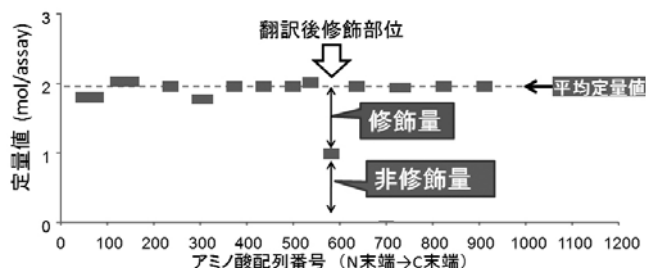


図2.翻訳後修飾部位同定の原理

差は修飾量を反映していると考えられることから、修飾量の推定が可能である。本セミナーでは AQUAprotein の有用性について、実施例を交えて紹介する。本法はタンパク質量および翻訳後修飾解析に有用であり、新たなタンパク質量研究への展開が期待される。