

国内出張報告書

提出日 2010年06月14日



申請者	氏名	荒木 孝明
	所属・職	細胞増殖制御分野
出張期間	2010年 06月 07日 ~ 06月 11日	
出張先	九州大学生体防御医学研究所プロテオミクス分野	
出張目的	技術習得	
研究課題名	ユビキチンリガーゼ SCF ^β -TrCP の機能解析	
技術解説・プロトコル・得られた成果など	<p>細胞内タンパク質の特異的な分解を制御するユビキチンリガーゼに注目して研究を行っている。ユビキチンリガーゼの機能解析のためには基質タンパク質の発現量の評価が必要であるが、その手段として広く行われている抗原抗体反応を応用した検出方法に必要な抗体は必ずしも優良なものが得られるとは限らない。また、細胞内に微量に存在するタンパク質では検出感度に限界があり、検体の消費量も多くなる。一方、質量分析計を用いた解析では、特異的抗体を要さず、微量の検体から網羅的な情報を得ることが可能である。</p> <p>現在、我々が構築しようとして試みている実験プラットフォームでは、内部標準タンパク質の質量分析情報を参照し、実際に測定対象とする細胞内のタンパク質を MRM による高精度の質量分析法を用いて定量的に評価することが可能となる。内部標準タンパクについては cDNA をプラスミド内にクローニングし、すでに合成・解析を依頼済みである。今回の出張では細胞抽出物の処理法を、実際に培養細胞を用いて実習形式で習得した。その概要としては、</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) TRIzol を用いて培養細胞を消化、タンパク質を抽出する。 2) エタノール沈殿により核酸を除去する。 3) 還元アルキル化する。 4) トリプシンおよびリシルエンドペプチターゼによりタンパク質を分解してペプチド化する。 5) 安定同位体を結合させ標識する。 <p>などのステップからなる。今後、習得した調製法に沿って当研究室にて測定に供する細胞よりタンパク質を抽出・分解して先方に送付し、解析を依頼する予定である。(以上)</p>	

技術解説・プロトコル・得られた成果など	
---------------------	--

- ※ 出張後 10 日以内に報告書を提出してください。HP に掲載することがあります。
- ※ 技術解説・プロトコルに焦点をあてたものを記載してください。
- ※ 可能であれば写真も添付してください。
- ※ 用紙が不足する場合は、適宜加えてください。