

令和 6 年 6 月 8 日現在

機関番号： 17401  
研究種目： 奨励研究  
研究期間： 2023 ~ 2023  
課題番号： 23H05248  
研究課題名 質量分析リン酸化プロテオーム用いた微量タンパク質修飾部位の検討

## 研究代表者

谷 直紀 (Tani, Naoki)

熊本大学・技術部・技術専門職員

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 480,000 円

研究成果の概要：リン酸化修飾ではごく微量な変化が生体調節機構に関わっていることが多く、本研究では微量なリン酸化ペプチドを効率的・選択的に測定し、検出から機能タンパク質の解析限界の評価を試みた。翻訳後修飾の解析ではカラム試料負荷量が最大に近いサンプルを投入する必要があった。本研究では、数時間単位の溶出グラジエント適用とリン酸化ペプチド精製用いた調製を適宜併用し、生体内試料中からのごく微量なリン酸化ペプチドの実践的な測定解析を試みた。微量なリン酸化ペプチドを効率的測定するには有効であり、タンパク質への比較評価は良好であった。しかし、微量タンパク質の限界まで評価できなかったため、引き続き測定解析を継続していく。

## 研究成果の学術的意義や社会的意義

質量分析計を用いたプロテオミクスによりタンパク質の翻訳後修飾による調節機構を解明する研究が盛んに行なわれている。装置の高感度・高性能・高速化により網羅的解析ではごく僅かなサンプル量にて測定解析が可能となっているが、翻訳後修飾の解析では大量のサンプルを投入する必要がある。リン酸化修飾の網羅的解析を僅かなサンプル量にて測定解析が可能とすることで、プロテオーム解析のスピードアップ、さらに生体内の調節機構に関わる研究へ進展も期待される。

研究分野： 生命科学

キーワード： 質量分析 翻訳後修飾 プロテオミクス

1. 研究の目的

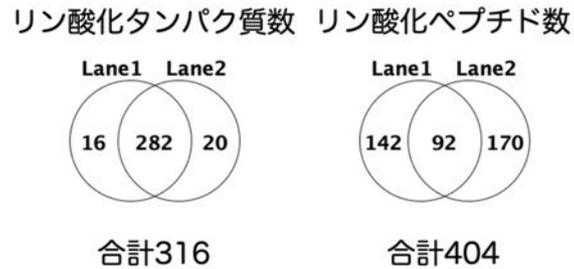
質量分析計の高感度・高性能・高速化により僅かなサンプルでも測定解析が可能となり、転写・翻訳後タンパク質による生体の調節機能や動的性質にスポットライトが当てられ、タンパク質の翻訳後修飾による調節機構を解明する研究が盛んに行われている。特にリン酸化修飾ではごく微量な変化が生体の調節機構に深く関わっていることが多く、これまでの研究課題に引き続き、本研究では微量なリン酸化ペプチドを効率的・選択的に測定し、検出から機能タンパク質の解析限界を評価する。

2. 研究成果

これまでの研究課題から翻訳後修飾の解析では大量のサンプルを投入する必要があり、カラムの試料負荷量が最大に近い投入が必要であった。本研究課題では、数時間単位の分離溶出グラジエント適用とリン酸化ペプチド精製・クリーンアップキット (Fe-NTA) 用いた調製を適宜併用し、生体内試料中からのごく微量なリン酸化ペプチドの実践的な測定解析を試みた。図に示すようにリン酸化ペプチド精製なしで測定した場合 (図上段)、検出されたリン酸化ペプチド数は合計404 (リン酸化タンパク質合計316) に対し、リン酸化ペプチド精製した後に測定した場合 (図下段) では検出されたリン酸化ペプチド数が合計1,896 (リン酸化タンパク質合計590) と検出数が向上した。生体試料中の微量なリン酸化ペプチドを効率的測定するには有効であり、タンパク質への比較評価は良好であった。しかし、実践的に生体試料の測定数が伸びず、微量タンパク質の限界まで評価できなかつたため、引き続き多種にわたる生体試料測定を行い、微量タンパク質の評価を目指し、今後も実験を継続して行く予定である。



リン酸化ペプチド精製なし



リン酸化ペプチド精製あり

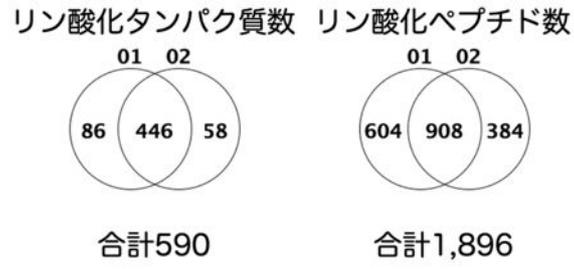


図 リン酸化ペプチド精製の有無による、リン酸化タンパク質とリン酸化ペプチド検出数の比較 (上段) リン酸化ペプチド精製ステップなし (下段) リン酸化ペプチド精製ステップあり

主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名
----	--------