

二次元電気泳動におけるマルチスポットの成因解明

二次元電気泳動時におけるマルチスポットの生成は、尿素によることを明らかにした。

研究成果の概要

完全長cDNAバンクから選択したハウスキーピング蛋白質をコードしているcDNA 50クローンについてインビトロ翻訳を行い、その翻訳産物を二次元ゲル電気泳動によって解析しところ、多くのクローンが、分子量は同じであるが等電点が異なる複数のスポットを生成することがわかった。その原因を探るため、典型的なマルチスポットを生成するサイクロフィリンをモデルとして、インビトロ翻訳産物、細胞内に存在するサイクロフィリン、大腸菌で発現させた組換え体、それぞれについて二次元ゲル電気泳動パターンを比較したところ、いずれも同じようなマルチスポットを形成した(図1)。このマルチスポット生成の原因を探るため、種々検討を行ったところ、一次元目の等電点電気泳動の際添加する尿素が原因であることがわかった(図2)。すなわち、蛋白質の中のリジンのε-アミノ基がカルバミル化されてマルチスポットが生成したものと考えられる。

成果展開可能なシーズ、用途等

1. プロテオーム解析における二次元電気泳動の解釈に問題提起

特許出願

なし

報告書他

1. C. Eguchi and S. Kato

Two-dimensional gel electrophoresis of *in vitro* translation products of human full-length cDNA clones.

Meeting of the International Council of Electrophoresis Societies ICES '99, 1999, 36.

2. C. Eguchi and S. Kato

Multi-spot formation by two-dimensional electrophoresis is due to chemical modification by urea during isoelectric focusing.

Submitted.

(研究者名) 江口睦志

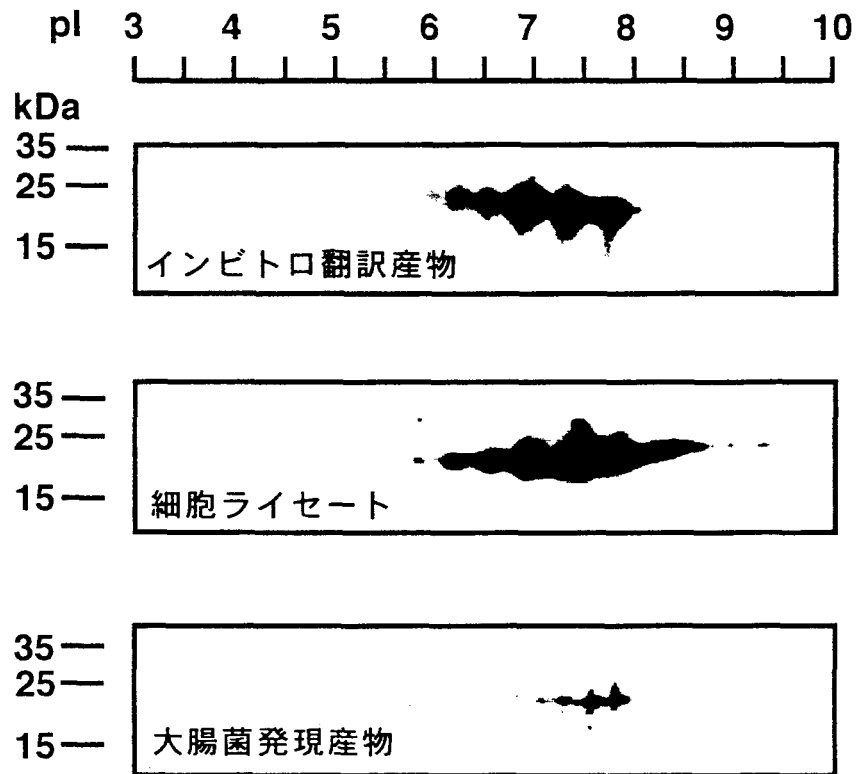


図1 サイクロフィリンの電気泳動パターン

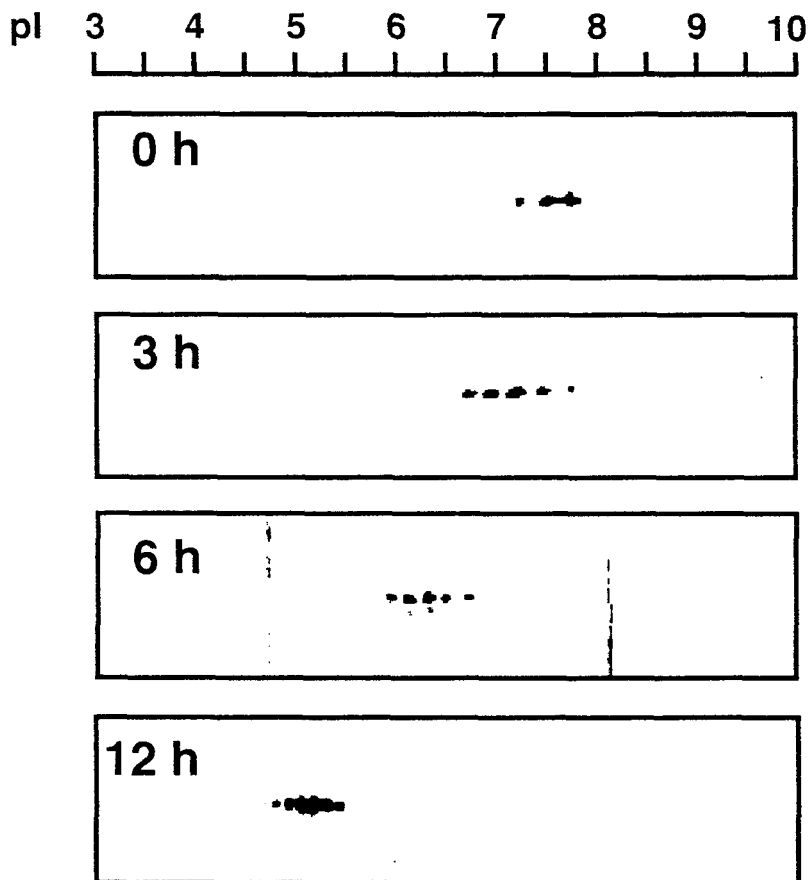


図2 50°Cにおける8M尿素処理の影響