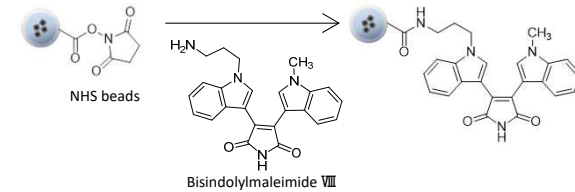


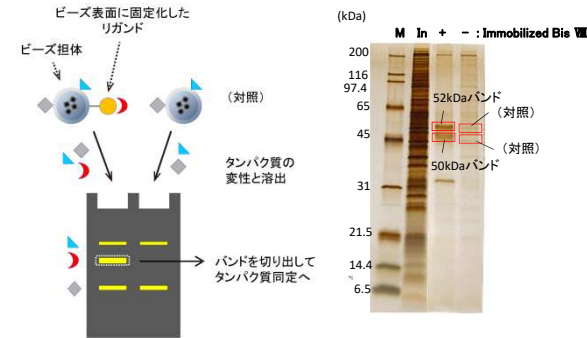
キナーゼ阻害剤Bisindolylmaleimide VIIIの標的タンパク質の探索 ～ビーズ上で精製されたタンパク質の分析

キナーゼ阻害剤 Bisindolylmaleimide VIII (Bis VIII)をFG beads®に固定化しHeLa細胞質画分から結合タンパク質をアフィニティ精製しました。精製したタンパク質を2種類の方法でそれぞれ分析しました。



SDS-PAGEで結合分子を分離展開する方法

(ゲルバンド切り出し)



52 kDa バンド

同定タンパク質	分子量 (10 ³)	同定ペプチド数	
		リガンドあり	リガンドなし (対照)
Glycogen synthase kinase-3 alpha (GSK3α)	51	9	0
Glycogen synthase kinase-3 beta (GSK3β)	47	5	0
Tubulin alpha-1B chain	50	3	1
Dermcidin	11	3	3

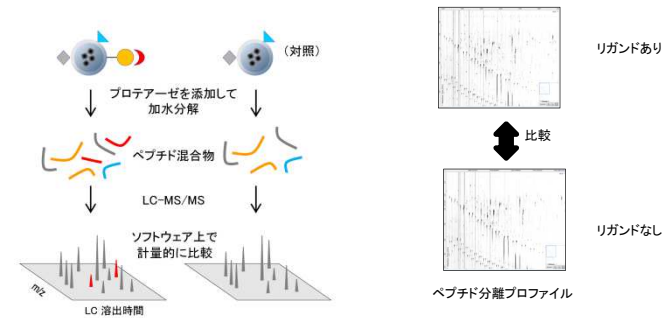
50 kDa バンド

同定タンパク質	分子量 (10 ³)	同定ペプチド数	
		リガンドあり	リガンドなし (対照)
Glycogen synthase kinase-3 beta (GSK3β)	47	14	0
Actin, cytoplasmic 1	42	3	2
Dermcidin	11	2	2
Elongation factor 1-alpha 1	50	2	1
Glycogen synthase kinase-3 alpha (GSK3α)	51	1	0
Desmoplakin	332	0	4

52 kDaと50 kDaのタンパク質バンドから、複数のタンパク質が同定されました。対照バンドとの同定ペプチド数の比較によって、主要なタンパク質をそれぞれGSK3α、GSK3βとみなしました。

質量分析データの上でペプチド断片の検出強度を比較する方法

(ショットガン)



タンパク質	遺伝子名	分子量 (10 ³)	タンパク質の計量値		倍数値
			リガンドあり	リガンドなし (対照)	
Glycogen synthase kinase-3 beta	GSK3B	47	1.6 × 10 ⁸	8.4 × 10 ⁵	195.4
Glycogen synthase kinase-3 alpha	GSK3A	51	5.7 × 10 ⁷	3.7 × 10 ⁵	153.2
NAD(P)H dehydrogenase [quinone] 1	NQO1	31	7.0 × 10 ⁶	5.9 × 10 ⁴	117.8
Apoptosis-inducing factor 2	AIFM2	41	1.2 × 10 ⁵	6.5 × 10 ³	18.2
Heme-binding protein 1	HEBP1	21	7.2 × 10 ⁵	4.9 × 10 ⁴	14.7
Ferrochelatase, mitochondrial	FECH	48	1.9 × 10 ⁵	1.5 × 10 ⁴	12.3
RNA-binding protein 25	RBM25	100	8.3 × 10 ³	1.0 × 10 ³	8.0
RNA-binding protein EWS	EWSR1	68	1.3 × 10 ⁴	2.1 × 10 ³	6.3
60S ribosomal protein L17	RPL17	21	2.4 × 10 ⁴	4.1 × 10 ³	5.9
Heterogeneous nuclear Ribonucleoprotein U-like protein 1	HNRNPUL1	96	4.7 × 10 ²	8.5 × 10 ¹	5.5
Serine/arginine-rich splicing factor 5	SRSF5	31	7.9 × 10 ³	1.5 × 10 ³	5.2
LETM1 domain-containing protein 1	LETMD1	42	1.1 × 10 ⁴	2.2 × 10 ³	5.1

一度の解析で273種類のタンパク質の計量情報が得られました。対照試料の間で検出強度を比較し、タンパク質を12種類まで絞り込みました。このうち2種類はGSK3α、GSK3βでしたが、その他は今までに報告のない結合タンパク質であり、新規標的タンパク質の可能性ががあります。