

培養細胞株を対象にした解析例

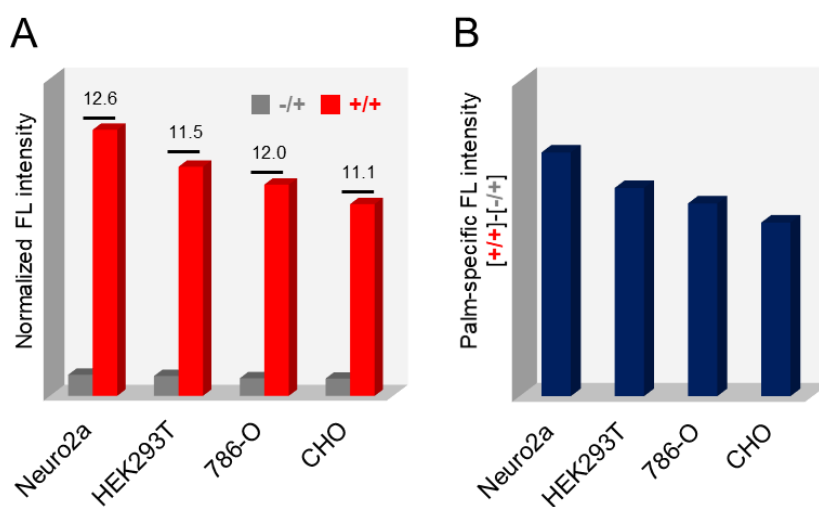
蛍光アッセイによる各試料の S-パルミトイル化修飾総量の相対比較と特異性判定

試料: 培養細胞株 Neuro2a、HEK293T、786-O、Chinese hamster ovary(CHO)

ライセート調製方法: トータル細胞ライセート

スタート試料量: 200 μ L/1 処理 総タンパク質量

使用したキット: 反応キット



(A) 各試料における S-パルミトイル化修飾特異性の評価

いずれの組織試料についても、-/+と+/+で高いSN比 (hpHA(+)/(-) >10) が確認され、S-パルミトイル化修飾特異的なシグナルが優位に観察されていることがわかる。

(B) 4種類の培養細胞試料間における S-パルミトイル化修飾総量の相対比較

今回比較した4種類の細胞株においては Neuro2a の総パルミトイル化量が最も多いことが分かった。

精製キットによる培養細胞株の S-パルミトイル化タンパク質の精製と特異性判定

試料: 培養細胞株 Neuro2a、HEK293T、786-O、Chinese hamster ovary(CHO)

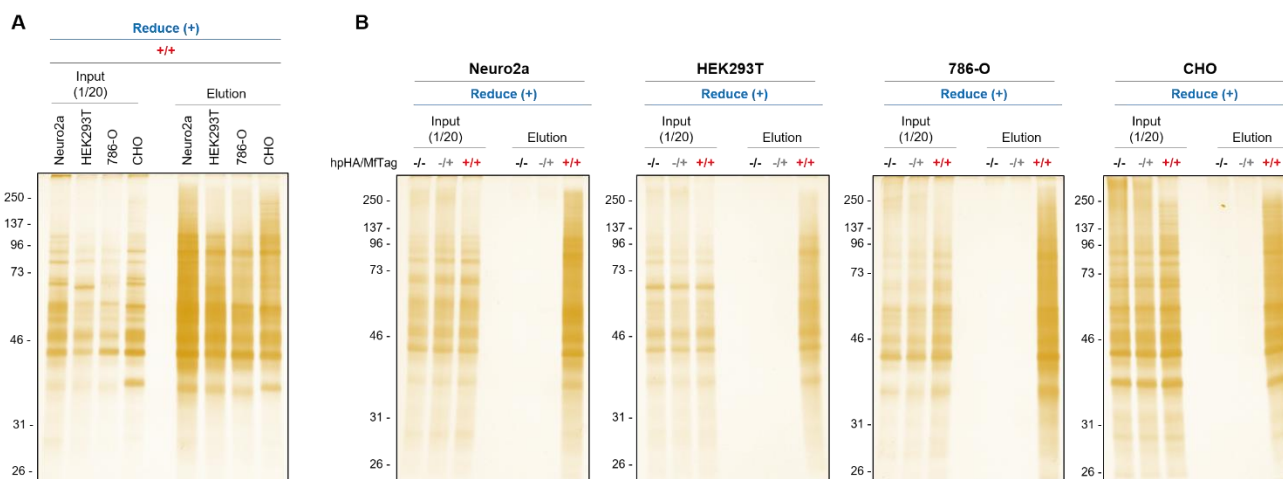
ライセート調製方法: トータル細胞ライセート

使用したキット: 反応キット+精製キット

スタート試料量: 200 μ g/1 処理 総タンパク質量

精製カラムアプライ量: 100 μ g/1 処理 総タンパク質量

電気泳動条件: **還元条件下** (MfTag 標識を除去)



A: 精製キットによる MfTag 標識タンパク質の精製作業後、4 種類の細胞株の **+/+** 処理のカラム精製前試料 (Input、20 倍希釈) およびカラム溶出画分 (Elution、原液) を同液量ずつ **還元条件下** で電気泳動し精製量を比較した。4 種類の細胞株では Neuro2a で比較的多く精製されていることがわかる。

B: 精製キットによる MfTag 標識タンパク質の精製作業後、4 種類の細胞株それぞれの 3 処理 (**-/-**、**-/+**、**+/+**) のカラム精製前試料 (Input、20 倍希釈) およびカラム溶出画分 (Elution、原液) を同液量ずつ **還元条件下** で電気泳動し、銀染色で検出した。いずれの細胞株においても **+/+** 特異的な精製タンパク質が多数観察された。また、いずれ細胞株においても **-/-**、**-/+** の Elution 画分からはほとんどバックグラウンドシグナルが観察されなかった。