

## 植物組織（ブロッコリー）を対象にした解析例

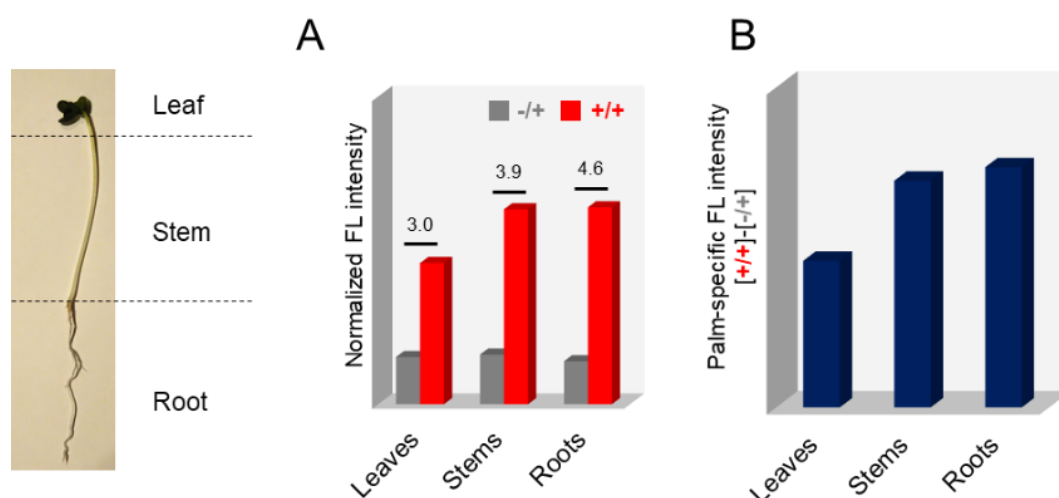
### 蛍光アッセイによるスプラウトの各部における S-パルミトイル化修飾総量の相対比較と特異性判定

試料: ブロッコリースプラウトの葉、茎、根

ライセート調製方法: トータル組織ライセートより不溶性残渣を取り除いたもの

スタート試料量: 200  $\mu$ 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、hpHA(+)/(-) >3 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) 3 部位試料間における S-パルミトイル化修飾総量の相対比較

今回比較した 3 つの部位では茎と根が同程度であることが分かった。

## 精製キットによるスプラウトの S-パルミトイル化タンパク質の精製と特異性判定

試料: ブロッコリースプラウトの葉、茎、根

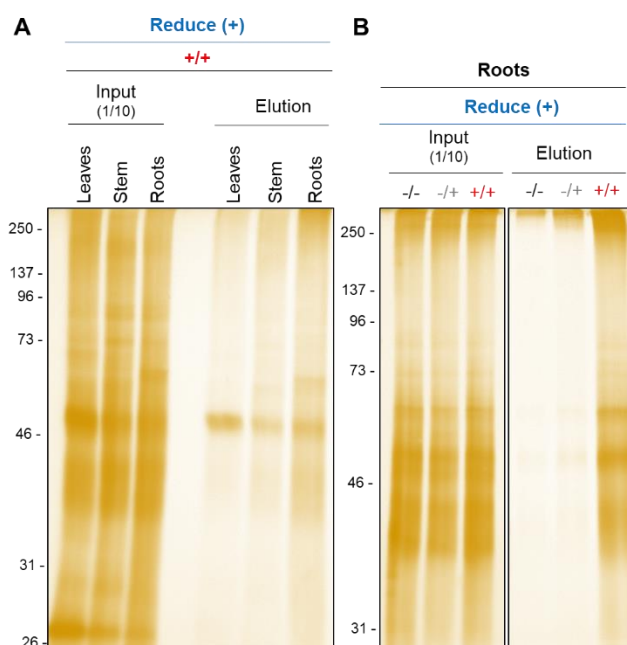
ライセート調製方法: トータル組織ライセートより不溶性残渣を取り除いたもの

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  $\mu$ g/1 処理 総タンパク質量

精製カラムアプライ量: 100  $\mu$ 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、3 種類のスプラウト組織の **+/+** 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。3 種類の組織では根において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、根試料の 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。Elution においていくつか **-/-** でも検出される非特異的なタンパク質が見られたが、**+/+** 特異的な精製タンパク質が多く観察された。

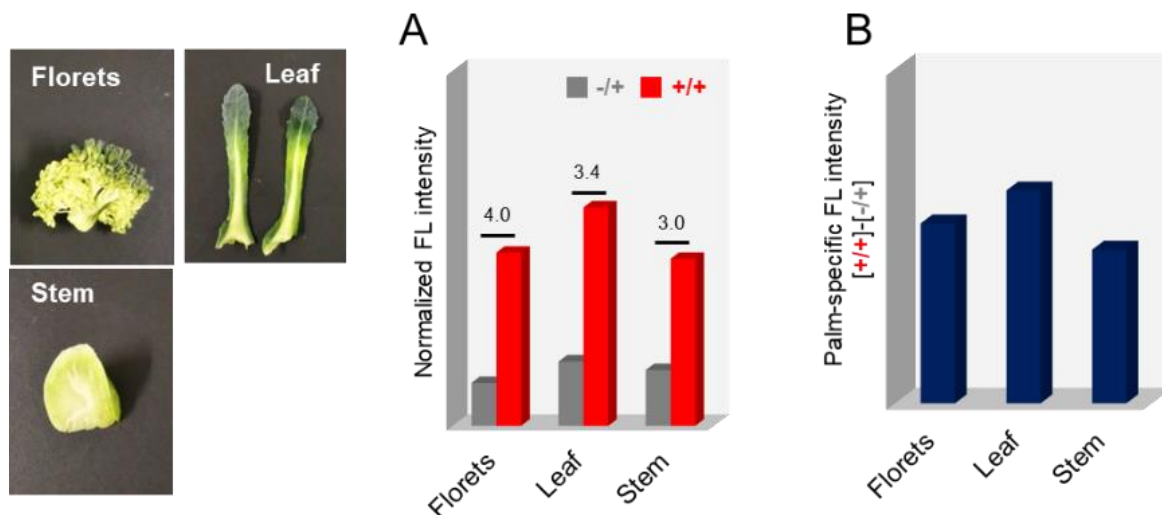
## 蛍光アッセイによるブロッコリー各部における総 S-パルミトイル化修飾総量の相対比較と特異性判定

試料:ブロッコリーのつぼみ、葉、茎

ライセート調製方法:トータル組織ライセートより不溶性残渣を取り除いたもの

スタート試料量:200  $\mu$ 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、hpHA(+)/(-) >3 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) 3 部位試料間における S-パルミトイル化修飾総量の相対比較

今回比較した3つの部位では葉、つぼみ、茎の順で S-パルミトイル化修飾総量が多いと見積もられた。

## 精製キットによるブロッコリー組織の S-パルミトイル化タンパク質の精製と特異性判定

試料: ブロッコリーのつぼみ、葉、茎

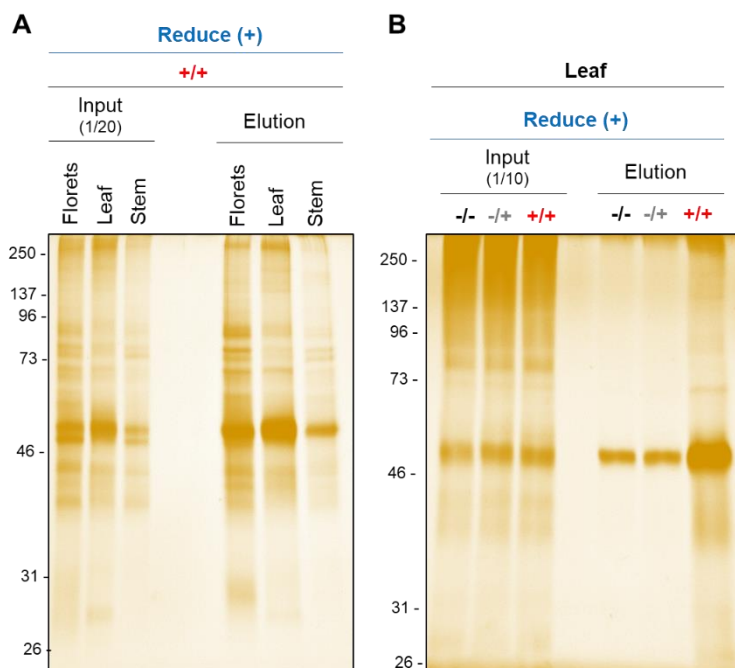
ライセート調製方法: トータル組織ライセートより不溶性残渣を取り除いたもの

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 µg/1 処理 総タンパク質量

精製カラムアプライ量: 100 µg/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、3 種類のブロッコリー組織の **+/+** 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。3 種類の組織ではつぼみと葉で同程度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、葉試料の 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。Elution において約 50 kDa 付近に **-/-** でも検出される非特異的なタンパク質が見られたが、多くが **+/+** 特異的な精製タンパク質として観察された。