FROM PEPTIDOMICS TO PROTEOMICS

Exosomeのプロテオーム解析

各種培養細胞の上清中、実験動物やヒトの尿、血清、唾液中に存在するExosomeを抽出、精製して、二次元電気泳動、SDS-PAGEまたは、nanoLC-ESI-MS/MSを用いたショットガン解析で比較解析を行います。

解析イメージ

培養細胞

→ 培養上清

実験動物

ヒト

→ 血清、尿、唾液等

Exosomeの抽出

蛍光標識

酵素消化

二次元電気泳動による比較

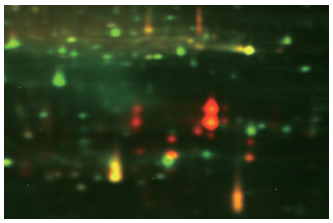
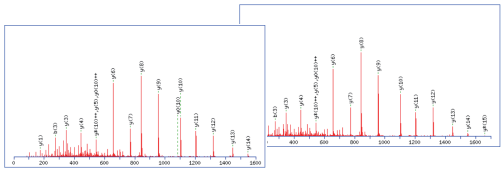


図 二次元電気泳動ゲルイメージ

緑：細胞Aの培養上清中のExosome
赤：細胞Bの倍湯上清中のExosome

ポイント
二次元電気泳動で比較することにより翻訳後修飾の変化も解析可能です。

ショットガン解析による比較



nanoUPLC-ESI-MS/MSによるタンパク質の同定

細胞Aの同定タンパク質リスト

Protein Name	Ac.No.	Score	Mw
Elongation factor 1-alpha	EF1A_HUMAN	59	50031
Endoplasmin	ENPL_HUMAN	59	92696
Epoxide hydrolase 1	HYEP_HUMAN	61	53143
Erythrocyte band 7 integral membrane protein	STOM_HUMAN	46	31682
F-actin-capping protein subunit alpha-1	CAZA1_HUMAN	76	33073
Fatty acid-binding protein, liver	FABPL_HUMAN	31	14256
Ferritin heavy chain	FRIH_HUMAN	42	21083
Ferritin light chain	FRIL_HUMAN	216	20054
Fibronectin	FINC_HUMAN	70	266052
Fructose-1,6-bisphosphatase 1	F16P1_HUMAN	66	37218
Fructose-bisphosphate aldolase B	ALDOB_HUMAN	46	39961
Glutathione S-transferase A1	GSTA1_HUMAN	46	25672
Glutathione S-transferase P	GSTP1_HUMAN	56	23569
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	G3P_HUMAN	71	35231
Guanine nucleotide-binding protein G(i) subunit alpha-2	GNAI2_HUMAN	116	40995
Guanine nucleotide-binding protein G(i)/G(s)/G(t) subunit gamma-2	GBG2_HUMAN	56	7859
Guanine nucleotide-binding protein G(i)/G(s)/G(T) subunit beta-1	GBB1_HUMAN	93	39151
Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-13	GNA13_HUMAN	78	44364
Heat shock protein HSP 90-alpha	HS90A_HUMAN	48	85590
Histone H2A type 1-B/E	H2A1B_HUMAN	36	14127
Histone H2B type 1-B	H2B1B_HUMAN	84	13942
Histone H4	H4_HUMAN	98	11360
HLA class II histocompatibility antigen, DRB1-3 chain	2B13_HUMAN	43	30443
Integrin alpha-V	ITAV_HUMAN	35	128940
Keratin, type II cytoskeletal 1	K2C1_HUMAN	52	66170
Kinetochore protein Spc25	SPC25_HUMAN	18	26194
Liver carboxylesterase 1	EST1_HUMAN	82	62786
Long-chain-fatty-acid–CoA ligase 1	ACSL1_HUMAN	75	79919
Low affinity immunoglobulin gamma Fc region receptor III-A	FCG3A_HUMAN	42	29356

細胞Bの同定タンパク質リスト

Protein Name	Ac.No.	Score	Mw
Moesin	MOES_HUMAN	145	67892
Monocyte differentiation antigen CD14	CD14_HUMAN	39	40878
Myosin-9	MYH9_HUMAN	103	227646
NADH-cytochrome oxidoreductase subunit H	NUCHM_CAMHC	22	37135
Neuroblast differentiation-associated protein AHNAK	AHNK_HUMAN	54	629213
Peroxiredoxin-1	PRDX1_HUMAN	47	22324
Phosphate carrier protein, mitochondrial	MPCP_HUMAN	44	40525
Profilin-1	PROF1_HUMAN	45	15216
Prohibitin-2	PHB2_HUMAN	33	33276
Protein disulfide-isomerase	PDIA1_HUMAN	49	57480
Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase 2	TGM2_HUMAN	119	78420
Ras GDP dissociation inhibitor alpha	GDIA_HUMAN	51	51177
Ras GTPase-activating-like protein IQGAP1	IQGA1_HUMAN	35	189781
Ras GTPase-activating-like protein IQGAP2	IQGA2_HUMAN	43	191036
Receptor-type tyrosine-protein phosphatase C	PTPRC_HUMAN	50	146844
Replication factor C small subunit	RFC5_METET	48	37613
Ribonuclease D	RND_SERPS	19	42452
Serum albumin	ALBU_HUMAN	55	71317
Succinate dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur subunit, mitochondrial	DHSB_HUMAN	49	32407
Tailin-1	TLN1_HUMAN	51	271766
Trifunctional enzyme subunit alpha, mitochondrial	ECHA_HUMAN	118	83988
Trifunctional enzyme subunit beta, mitochondrial	ECHB_HUMAN	80	51547
Troponin	TRYP_PIG	572	25678
Tubulin alpha-1A chain	TBA1A_PIG	191	50721
Tubulin beta chain	TBB5_HUMAN	199	50095
UDP-glucuronosyltransferase 1-1	UD11_HUMAN	51	60180
UDP-glucuronosyltransferase 2B4	UG2B4_HUMAN	33	60872
Up-regulated during skeletal muscle growth protein 5	USMG5_HUMAN	51	6510
Low affinity immunoglobulin gamma Fc region receptor III-A	FCG3A_HUMAN	42	29356

ポイント
ショットガン解析でExosome中に含まれる数百のタンパク質を一斉同定して比較します。

SDS-PAGEによる比較

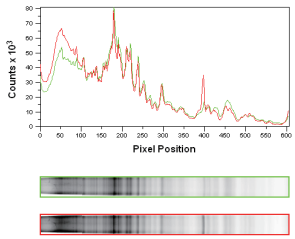


図 SDS-PAGEゲルイメージ

緑：細胞Aの培養上清中のExosome
赤：細胞Bの倍湯上清中のExosome

ポイント
SDS-PAGEで簡便にExosomeを構成するタンパク質の差を解析します。

注目!

Exosomeの抽出、精製から可能です。
Exosome表面の膜タンパク質に特化した解析も可能です。ご相談ください。

CERI 一般財団法人 化学物質評価研究機構
Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan

東京事業所 / 環境技術部
〒345-0043 埼玉県北葛飾郡杉戸町下高野1600番地
tel: 0480(37)2601 fax: 0480(37)2521

2019.04