

Title	QTAP法とpatch clamp法の融合によるトランスポーター絶対発現量算出の新規補正法開発
Sub Title	Development of novel methodology for quantification of absolute expression level using QTAP and patch clamp method
Author	秋好, 健志(Akiyoshi, Takeshi)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2021
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2020.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>本研究において、これまでに OATP1A2 および OATP2B1 発現 HEK293 細胞株を樹立し、その細胞膜上に発現する当該蛋白質を LC-MS/MS により定量することに成功した。OATP1A2 および OATP2B1 蛋白質発現量は、約 10~30 fmol 程度であった。これらと同時に内在性コントロール蛋白質として Na/K ATPase の発現量も測定した結果、既報と同等の発現量 (約 50 fmol/mg protein) を確認することができた。一方、現在までにトランスポーターの絶対発現量を補正するためのマーカータンパク質発現細胞株の樹立に成功した。すなわち、当該マーカー蛋白質発現遺伝子を安定発現する細胞株を作成し、当該マーカータンパク質を蛍光標識することで、安定発現細胞株が樹立されたことが確認された。今後、当該発現細胞株を用いて Patch-clamp 法により、電流測定を行い、最終的に細胞膜上のトランスポーター発現量の補正法を構築する。</p> <p>We are currently developing the novel methodology of quantification of absolute expression level of Transporter(s) such as OATP1A2 and OATP2B1, using QTAP and Patch-clamp method. For QTAP, we quantitatively analyzed the expression level of OATP1A2 and OATP2B1 on the plasma membrane using LC-MS/MS. The expression level of those transporters on the HEK293 cells were 10~30 fmol/mg protein. For Patch-clamp method, we now established the cell line which expressed Marker protein to adjust the expression level of OATPs.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2020000008-20200111

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	薬学部	職名	専任講師	補助額	500（特B）千円
	氏名	秋好 健志	氏名（英語）	Takeshi Akiyoshi		
研究課題（日本語）						
QTAP 法と patch clamp 法の融合によるトランスポーター絶対発現量算出の新規補正法開発						
研究課題（英訳）						
Development of novel methodology for quantification of absolute expression level using QTAP and patch clamp method						
1. 研究成果実績の概要						
<p>本研究において、これまでに OATP1A2 および OATP2B1 発現 HEK293 細胞株を樹立し、その細胞膜上に発現する当該蛋白質を LC-MS/MS により定量することに成功した。OATP1A2 および OATP2B1 蛋白質発現量は、約 10~30 fmol 程度であった。これらと同時に内在性コントロール蛋白質として Na/K ATPase の発現量も測定した結果、既報と同等の発現量（約 50 fmol/mg protein）を確認することができた。一方、現在までにトランスポーターの絶対発現量を補正するためのマーカータンパク質発現細胞株の樹立に成功した。すなわち、当該マーカー蛋白質発現遺伝子を安定発現する細胞株を作成し、当該マーカータンパク質を蛍光標識することで、安定発現細胞株が樹立されたことが確認された。今後、当該発現細胞株を用いて Patch-clamp 法により、電流測定を行い、最終的に細胞膜上のトランスポーター発現量の補正法を構築する。</p>						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
<p>We are currently developing the novel methodology of quantification of absolute expression level of Transporter(s) such as OATP1A2 and OATP2B1, using QTAP and Patch-clamp method. For QTAP, we quantitatively analyzed the expression level of OATP1A2 and OATP2B1 on the plasma membrane using LC-MS/MS. The expression level of those transporters on the HEK293 cells were 10~30 fmol/mg protein. For Patch-clamp method, we now established the cell line which expressed Marker protein to adjust the expression level of OATPs.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			