

非变性 PAGE 结合串联质谱研究人胰腺癌细胞胞内蛋白复合物

王新立, 陈国强, 赵志云, 李智立

(中国医学科学院基础医学研究所, 北京协和医学院基础学院, 北京 100005)

Combination of Native PAGE and Tandem Mass Spectrometry in Analysis of the Protein Complexes in Human Pancreatic Cancer Cell Line

WANG Xin-li, CHEN Guo-qiang, ZHAO Zhi-yun, LI Zhi-li

(Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academic of Medical Sciences and School of Basic Medicine, Peking Union Medical College, Beijing 100005, China)

Abstract: To develop a gel-based proteomic method to analyze the protein complexes in human pancreatic cancer cell line. Differential centrifugations and native PAGE were performed to separate the macromolecular fraction (containing protein complexes) in the whole cell lysate, followed by matrix-assisted laser desorption/ionization coupled with tandem time-of-flight mass spectrometric (MALDI-TOF/TOF MS) identifications. Two protein complexes were identified unambiguously by the combination of native PAGE and MS/MS, *i.e.*, 20S proteasome (720 kDa) and Hsp90 dimer (180 kDa). Native PAGE in conjunction with tandem mass spectrometry is simple, rapid and efficient method to study protein complexes.

Key words: native PAGE; protein complex; proteasome; pancreatic cancer

中图分类号: O 657.63; O 652.7 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997 (2008) 增刊-217-01

建立一种基于凝胶的蛋白质组学方法研究人胰腺癌细胞胞内蛋白复合物。以自行培养的人胰腺癌细胞系 SW1990 为材料, 经温和裂解后, 通过低温差速离心对细胞全裂解液进行粗分获得大分子量(蛋白复合物)组分, 采用非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳(Native PAGE)方法对蛋白复合物进行分离和制备, 经胶内酶切后进行基质辅助激光解析-飞行时间串联质谱(MALDI-TOF/TOF MS)分析, 用 GPS Explorer 软件搜索 Swiss-Prot 蛋白数据库。Native PAGE 上 2 个清晰条带经 MALDI-TOF/TOF MS 分析, 鉴定为 2 个大蛋白复合物: 20S 蛋白酶体 (720 kDa) 和 Hsp90 二聚体 (180 kDa)。这些蛋白复合物参与并调控细胞的增殖、分化、凋亡和免疫等。Native PAGE 结合串联质谱法是研究蛋白复合物的一种简便、快捷和有效的方法, 可用于研究人细胞蛋白复合物。

基金项目: 国家自然科学基金 (No.20675088) 资助

作者简介: 王新立 (1981~), 男 (汉族), 湖北武汉人, 博士研究生, 从事生物物理及结构生物学研究。E-mail: edfwang@yahoo.com.cn

通信作者: 李智立 (1962~), 男 (汉族), 山东菏泽人, 教授, 从事生物物理及结构生物学研究。E-mail: lizhili@ibms.pumc.edu.cn