

◆新素材・先端 迅速・高感度なタンパク質検出のための新規蛍光試薬技術◆

生命現象の解明のためにタンパク質を網羅的に解析するプロテオーム研究が盛んである。プロテオーム解析において汎用されている方法では、分離されたタンパク質を高感度に検出するために蛍光試薬が重要な役割を果たしている。本研究で開発した蛍光試薬は、既存の試薬と比較してバックグラウンドが低く、1 ng 以下のタンパク質を高感度に検出することができた。また従来一晩近くかかったタンパク質の染色時間を1時間半と大幅に短縮することができた。タンパク質の種類によって染色効率が異なるという従来法の問題点も解決され、簡便で高感度なタンパク質分析法として期待される。

【B1009】

新規タンパク質検出用蛍光分子プローブの創製と SDS-PAGE への応用

(産総研¹、関東化学²) ○鈴木祥夫¹、坂口菜央¹、平塚淳典¹、高木信幸²、千室智之²、篠原淳²、横山憲二¹ [連絡者：鈴木祥夫、電話：042-637-5980、E-mail：suzuki-yoshio@aist.go.jp]

タンパク質は、酵素反応、免疫反応さらには細胞内の種々の機能発現や制御の中心的な役割を果たすなど、生命活動を維持するための重要な働きを担っている。最近では、タンパク質を網羅的に解析するプロテオーム研究が、目覚ましい進展を見せており、ゲノム解析などでは明らかにできない生命現象を解析する方法として、極めて重要な位置を占めている。また、プロテオーム解析において重要な役割を果たすSDS-PAGEにおいて、分離されたタンパク質を検出するために、タンパク質を蛍光試薬で染色する操作が採られている。しかし既存の蛍光試薬は、1) バックグラウンドが高い、2) 染色時間が長い、3) タンパク質の種類によって染色効率が異なる、などの問題があった。

本研究では、鋭意検討の結果、スチリル基とシアノピラニル基から構成される新規蛍光分析試薬「Rapid FluoroStain KANTO」の製品化に成功した。試薬の特徴として、1) 試薬単独では蛍光を発しないが、タンパク質と反応した時のみ蛍光を発するため、バックグラウンドが低く 1ng 以下のタンパク質を高感度に検出することが出来た、2)従来、一晩近くかかっていたタンパク質の染色操作時間が、約 1.5 時間へと大幅に短縮された(特殊な操作を用いることによって、1時間に短縮することも可能)、3)タンパク質の種類が異なっても、タンパク質の染色効率に大きな違いはなかった、ことが挙げられ、上記問題点を解決することに成功した。このような試薬を用いることによって、従来よりも手軽にかつ高感度でタンパク質の分析が可能となった。

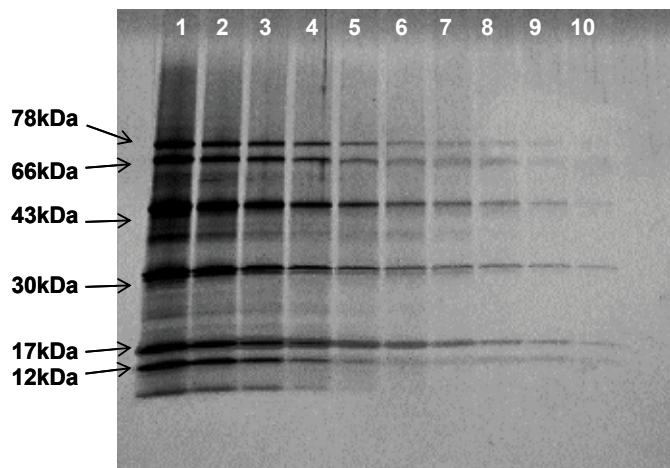


図 種々のタンパク質を電気泳動した後、Rapid FluoroStain KANTOを用いて染色した時の蛍光画像。使用したタンパク質：Ovotransferrin (78kDa), BSA (66kDa), ovalbumin (43kDa), carbonic anhydrase (30kDa), myoglobin (17kDa), cytochrome c (12kDa)。タンパク質量：レーン1が167ngであり、それ以降は2倍希釈した量である。レーン10では、0.4ngとなる。