

正確という名のスタンダード プレジジョンPlusスタンダードシリーズ

SDS-PAGEやウェスタンブロットングを行う際、既知のタンパク質（分子量スタンダード/分子量マーカー）を同時に電気泳動し、目的タンパク質と既知のタンパク質との移動度の違いより、目的タンパク質の分子量の推定や確認が一般的に行われています。近年では、論文投稿する際に目的タンパク質のバンド画像に加え、分子量スタンダードの画像の添付も求められるようになっており、分子量スタンダードの重要性は増えています。

バイオ・ラッドではSDS-PAGEに用いるための分子量スタンダードを長年にわたって販売しており、古くは天然由来の分子量の異なるタンパク質をそれぞれ精製し、混合したものを製品化しておりました。その後、組換え技術の発展に伴い、よりSDS-PAGEに最適化されたリコンビナントタンパク質を用いたプレジジョンスタンダードが製品化されました。現在ではさらに改良が加えられたプレジジョンPlusスタンダードを販売しています。



天然由来タンパク質とリコンビナント由来タンパク質のスタンダードの違い

天然由来タンパク質のスタンダードと比べ、下表に示すようにリコンビナント由来のプレジジョンPlusスタンダードは優れた利便性を持ちます。

SDS-PAGEスタンダードとプレジジョンPlusスタンダードの違い

	SDS-PAGEスタンダード (天然由来)	プレジジョンPlusスタンダード (リコンビナント)
ロット間差	着色済みタイプはロットごとに分子量が変わり、誤差が大きい	ロットが変わっても分子量は変わらない
操作性	未着色タイプは、サンプルと同様SDS-PAGE用のサンプルバッファーで加熱処理が必要	溶解後、すぐに使用可能
バンドのシャープさ	着色済みタイプはバンドがブロードになりやすい	バンドがシャープに検出される

また、プレジジョンPlusスタンダードは、含まれるタンパク質の分子量が250k、150kなどキリの良いサイズのタンパク質を使用し、75k、50k、25kのバンドが異なる色や太くなるよう調整されているため、視認性が高いのも特長です。

未着色（アンステインド）と着色済み（プレステインド）スタンダードの違い

分子量スタンダードには大きく分けて未着色タイプと着色済みタイプの2種類が存在します。未着色タイプは電気泳動終了後に染色することで初めてタンパク質のバンドを確認することができます。一方、着色済みのスタンダードは予めタンパク質が着色されているため、電気泳動中にスタンダードタンパク質は可視化され、モニタリングに有効です。またウェスタンブロットングにおいてメンブレンへタンパク質が適切に転写されたかどうかを目視で判別する場合にも有効です。

では未着色スタンダードにあまりメリットを感じないお客様もいるかもしれませんが、未着色スタンダードは着色済みスタンダードに比べシャープなバンドが得られるという利点がござります。そのため精度の求められる分子量の算出を行う場合には未着色タイプが有利となります。

分子量スタンダードを使用する際の注意点

SDS-PAGEでは常に真の分子量値を算出できる訳ではなく、使用するスタンダードによって分子量の計算値が変わることもあることに注意する必要があります。そもそもSDS-PAGEでは、タンパク質の高次構造を崩し、SDSによりタンパク質をマイナスチャージにし、ポリアクリルアミドゲルの網目構造により分子サイズごとに分離を行う手法です。しかしながらタンパク質によって高次構造を崩しにくかったり、SDSの結合量が低いなど、タンパク質ごとに様々な違いが生じます。その結果、必ずしもゲル中の移動速度がタンパク質の分子量に依存しない場合があります。

そのため、スタンダードで用いられているタンパク質の種類が異なれば、たとえ分子量が同じ値でも移動度が異なる場合があるという事に注意する必要があります。

プレジジョンPlusスタンダード

プレジジョンPlusスタンダードで用いられているタンパク質は、質量分析およびSDS-PAGEの見かけの分子量をもとにすべてのタンパク質の分子量が測定、決定されており、分子量と移動度の関係も高い直線性が得られるため、分子量の算出にも優れたスタンダードになります（裏面参照）。プレジジョンPlusスタンダードは全6種類がラインアップされており、目的や用途に合わせてフレキシブルにお選びいただけます。

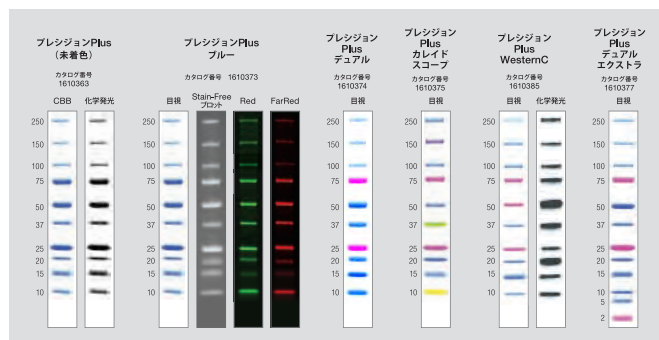


図1.プレジジョンPlusスタンダード選択ガイド

プレジジョンPlusスタンダード、各種キャンペーン実施中！ 詳細は裏面をご参照ください。

40周年記念キャンペーン開催中!!!

期間 2019年6月17日(月)～9月27日(金)

バイオ・ラッドは日本法人が設立され、今年で40周年を迎えることができました。
日頃の感謝を込めて上記の期間中に特定製品を特別価格でご購入いただけます。

今回で紹介したプレジジョンPlusスタンダードも本キャンペーン対象製品となっております。今回のキャンペーンではまとめてご購入いただくほど、お安くなります。お得なキャンペーン期間に是非ご検討をよろしくお願いいたします。

価格一例

プレジジョンPlus デュアル
スタンダード

通常価格

1本入り ¥19,600
2本入り ¥37,000
5本入り ¥83,000

キャンペーン価格

¥17,000 1本あたり ¥17,000 (1610374)
¥31,000 1本あたり ¥15,500 (1610374B02)
¥68,000 1本あたり ¥13,600 (1610394)

キャンペーンの詳細はこちら → URL : <https://www.bio-rad.com/40th>



Technical Tips for Western Blotting ~ SDS-PAGEによる分子量計算のポイントとは? ~

SDS-PAGEによる分子量計算は、タンパク質の実験における基本技術の一つと言えます。しかし、分子量計算の基本原則を理解せずに、画像解析ソフトのデフォルト設定のままで行ってしまうと、誤差の多い分子量値になってしまう恐れがあります。次のような基本事項は、方眼紙にプロットして計算する場合だけでなく、ImageLabのような解析ソフトを使用した場合にも応用可能な考え方になります。

1. 移動度の算出 (図2)

分子量スタンダードの各バンド、未知サンプルバンド、先端色素について、泳動の原点(ウェルの下端、または濃縮ゲルと分離ゲルの境界)からの移動距離を測ります。「泳動の原点から各バンドまでの距離」を「先端色素までの距離」で割り算し、移動度(Rf値)を算出します。

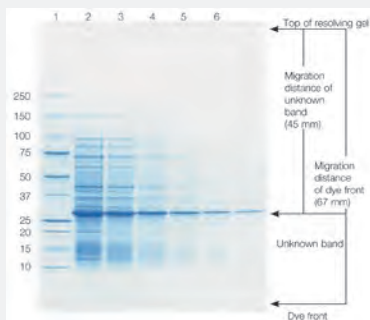


図2. Criterion 4-20%ゲルのCBB染色画像と移動度(Rf値)の算出

2. グラフの作成と近似式

分子量スタンダードの各バンドについて、分子量の対数(log MW)に対してRf値をプロットしグラフを作成します。使用したゲルや分離パターンに応じて、適切な近似式をあてはめます。多くの場合、均一ゲルでのプロットはシグモイド状になるので、一次回帰式で近似する場合は外れ値となるプロット(主に高分子量側)を計算対象から除外します。

グラジエントゲル: 一次回帰式で近似(図3)

均一ゲル: Logistic曲線回帰式、またはプロット両端側の外れ値を除外して一次回帰式で近似(図4)

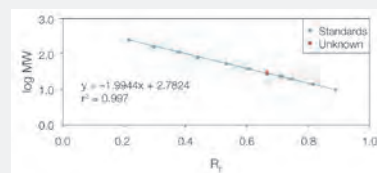


図3. グラジエントゲル(Criterion 4-20%ゲル)における近似式
プレジジョンPlusスタンダードの全てのバンドが一次回帰式にて高い相関係数で近似できています。

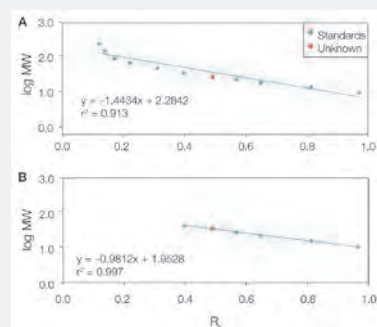


図4. 均一ゲル(Criterion 15%ゲル)における近似式
(A) 全てのバンド10点で近似。
(B) 高分子量側の外れ値を除外。一次回帰式でも高い相関係数で近似できています。

3. 移動度(Rf値)の算出

分子量スタンダードの回帰式に基づいて、未知サンプルバンドの分子量を計算します。

なお、表面の「分子量スタンダードを使用する際の注意点」にも記載しましたが、分子量から予想される移動度とは異なる挙動を示すタンパク質もありますので、そのような誤差も考慮した解釈が必要となります。

BIO-RAD

バイオ・ラッド ラボラトリーズ 株式会社

取扱店

ライフサイエンス

www.bio-rad.com

本社 〒140-0002 東京都品川区東品川 2-2-24 TEL:03-6361-7000

大阪営業所 〒532-0025 大阪市淀川区新北野 1-14-11 TEL:06-6308-6568

福岡営業所 〒812-0013 福岡市博多区博多駅東 2-5-28 TEL:092-475-4856

※学術のお問い合わせは TEL:03-6404-0331

※価格(税抜き)、仕様等は予告なく変更することがあります。

※価格は2019年9月現在のものでメーカー希望小売価格です。

※本カタログに記載されている会社名、商品名は各社の商標または登録商標です。