220. C R を用いたオートラジオグラフィによるペプチド

ホルモン分子形態の解析

Heterogeneity of molecular size of peptide hormone
by autoradiography with the CR System

産業医科大学病院

○ 榮 文 也

大 浪 俊 平

(Fumiya Sakae) (Shumpei Ohnami)

小 川 治 久

小 田 紋 弘

(Haruhisa Ogawa) (Nobuhiro Oda)

(目的)

電気泳動法とオートラジオグラフィを用いたペプチドホルモンの分子形態の解析は、分子レベルでの生成機序の解明に極めて重要である。しかしながら、従来のX線フィルムによるオートラジオグラフィの画像は、RIによるバックグラウンドが大きく影響し、分子バンドの局在を明瞭に観察することが困難であった。今回我々は、X線フィルムの代わりにCRのイメージングプレートを用いて、蛋白分子形態のオートラジオグラムを解析した。

(方法)

術中に得られたプロラクチノーマ2例、クッシング病1例の下垂体腫瘍および剖検により得られた正常下垂体2例の組織抽出物中の蛋白をSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動法により分離し、さらにブロッティング法を用いてこの蛋白をナイロンメンブレンに転写し、これを ^{125}I で標識した抗PRLモノクローナル抗体と4℃で3日間インキュベートした。その後、トリス塩酸緩衝液を用いて可能な限り洗浄した後、乾燥させオートラジオグラフィを行った。このナイロンメンブレンとイメージングプレートを3~6時間カセット内で密着させCRにより画像処理を行いオートラジオグラムを得た。(図1) また、同じナイロンメンブレンを従来の増感紙を用いたX線フィルムで3日間露光後、現像定着してオートラジオグラムを得、両者を比較検討した。

(結果)

イメージングプレートを用いたCRによるオートラジオグラム像では、正常下垂体のPRLイムノラジオアクティビティの主なバンドを23Kと25Kに認め、弱いバンドを46Kに、さらに弱いバンドを50Kに認めた。プロラクチノーマでは、正常下垂体で認められたバンドの他に、37K付近にPRLイムノラジオアクティビティを認め、クッシング病では、23Kと25Kのみに認めた。一方、従来のX線フィルムによるオートラジオグラム像では、全体的にRIによるバックグラウンドの影響が大きく、各分子バンドの局在を明瞭に観察することは困難であった。

(結語)

- (1) SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動法および標識モノクローナル抗体を用いて分離したPRL分子形態のオートラジオグラムをCRシステムにより解析した。
- (2) 本法は、従来のX線フィルムによるオートラジオグラム像と比較して露光時間の短縮及び画像の改善が認められPRL分子形態の解析も容易であった。

図 1 システムの基本構成