〔テクニカルノート〕

両面接着テープによる PAGE 泳動像の歪みの防止について

吉田 宏*・小野政孝**

はじめに

ポリアクリルアミドゲル (PAG) を支持体としたスラブ電気泳動は、医学や生物学など多くの分野で、蛋白質の精密分析法として広く用いられている¹⁻⁴⁾。

このスラブ電気泳動の初期の装置は、泳動プレートの中央部が外気にさらされており、泳動時に発生するジュール熱により泳動像に乱れが生じやすい欠点をもっていた。最近、泳動槽の改良が行われ、市販のほとんどの装置が泳動プレートのほぼ全体を緩衝液中に浸すことにより泳動中の発熱による影響を最小限に抑えることが可能となった。しかし、いずれの装置もゲルを自作し泳動を行うと、しばしば泳動プレート横側からの電流の漏れにより泳動レーンが横に広がる傾向がみられた。

今回、著者らは泳動プレートからの電流の漏れを防ぐ試みとして、プレートを絶縁性の高い両面テープで接着させてから、ゲルを作製し泳動を行ってみた。

材料ならびに実験法

1. 両面テープ

今回、使用した両面テープは著者らが考案し、倉本産業が試作したものをを用いた。この両面テープの接着剤には、電気絶縁性が高く、しかも、接着力も適当な強さを有するゴム系の糊剤を使用した。試作した両面テープの構造および接着剤の粘着物性の JIS 規定 (JIS-Z-0237 および JIS-K-6911) による試験結果については、次のとおりである。

a. 両面テープの構造

両面テープの構造は、剥離紙-ゴム系接着剤 (20 μm)-

プラスチック基材 (25 μm)-ゴム系接着剤 (20 μm)-剥離紙から構成される長さ 300 mm、幅 130 mm のものを試作した。

b. 粘着物性の JIS 規定による試験結果

この両面テープの粘着力は 1,500 kg/25 mm、保持力は 0.3 mm、ボールタックは No. 10、直流電圧 500 V を負荷させた時の表面抵抗値は $1.9 \times 10^{14} \Omega$ であった。

なお、この両面テープは、テープ面が濡れていると比較的ガラス板面から剥離しやすく、再びテープ面が乾燥すると接着力が回復して剥離しにくくなる性質を有していた。

2. ゲルの作製

ゲルは、真鍋らの二次元目のスラブゲル作製法⁵⁾ に準じて 1% SDS 加 0.18 M Tris-HC 1 で 4~20% PAG (84 mm $\times$ 74 mm $\times$ 厚さ 1 mm) を以下のようにして作製した。

a. 泳動プレート 2 枚を Fig. 1 のようにシリコンチューブ、クリップを用いて、両面テープで接着させて組み立てた。

b. 組み立てた泳動プレートにゲル溶液を注入し、上部に試料孔作製のためのコームを差し込んで 30°C の浴中に 1~2 時間静置してゲルを作製した。

c. ゲルは、作製後シリコンチューブおよびコームを取り除いて泳動時に使用した。

3. スラブ電気泳動

電気泳動装置は、バイオクラフト社のリアルスラブ電気泳動装置を用いた。試料は、血清 2 μl (蛋白量 160 μg) および精漿 10 μl (蛋白量 450 μg)、7 μl (蛋白量 315 μg) を用いた。

The reproducible PAGE pattern by preparing the mould with adhesive rubber strip.

* Hiroshi Yoshida; 帝京大学医学部法医学教室

** Masataka Ono; 新潟大学医学部法医学教室

Correspondence address: Masataka Ono, Scientific Crime Laboratory, Niigata Pref. Police Headquarters, Shinko-cho, Niigata 950, Japan.

(受付 1991 年 2 月 25 日, 受理 1991 年 4 月 1 日)

Fig. 1. Preparing the mould for PAGE.

a : glass plate, b : adhesive rubber strip,
c : silicon rubber tube, d : clamp.

泳動用の緩衝液は、1% SDS 加 0.05 M トリス-0.38 M グリシンを用いて、室温、80 mA の定電流で 45 分間の泳動を行った。泳動終了後のゲルについて、0.1% クマシーブリリアントブルー R-250・50% エタノール・8% 酢酸溶液で約 1 時間の染色を行い、脱色液でバックグラウンドが抜けるまで脱色操作を行った。

実験結果および考察

1) 今回試作した両面テープは、電気絶縁性が高く、適度の接着力をもつ糊材を使用した。この両面テープを使用して 2 枚のガラス板を密着させてから、1% SDS 加 4~20% PAG を作製して泳動を行うと、各泳動レーンがほぼ平行となる良好な泳動像が得られた (Fig. 2 A)。両面テープを使用しない方法では、泳動が陽極に向かうほどバンドが横に広がる傾向がみられた (Fig. 2B)。すなわち、両面テープの使用により泳動プレートの側面からの漏電がきわめて減少するものと考えられた。

なお、Fig. 2 において両面テープを使用した A でも、下端部のバンドが多少横へ広がっているが、濃度勾配ゲルであるため染色や脱色操作で下端部のゲルが上端部のゲルよりも膨張するためと考えられた。また、A と B は、同一蛋白量の血清および精漿を添加したが、染色や脱色条件の差によって蛋白染色性が異なる結果となった。

2) 今回、両面テープを使用して作製した連続緩衝液系のゲルは、湿潤箱中で数週間保存しておいても泳動時

Fig. 2. Comparison of PAGE patterns with two methods of preparing mould.

A4 to 20% containing 1% SDS linear gradient acrylamide slab gel was used.

A : The pattern with adhesive rubber strip, B : The pattern without adhesive rubber strip, 1, 12 : human serum, 2 μ l (160 μ g protein), 2, 3, 4 : human semen, 7 μ l (450 μ g protein), 5, 6, 7, 8 : MW marker, 9, 10, 11 : human semen 10 μ l (315 μ g protein).

にゲルが泳動プレートからはずれにくく、比較的良好な泳動像が得られた。しかし、泳動に精密さや解像力を求める場合にはゲルは保存せず、その使用は作製後速やかに行ったほうがよいと考えている。

終りに

以上紹介した両面テープを使用した PAG の作製は、どのようなサイズの泳動プレートにも応用できる。また、この両面テープを使用して PAG を作製し泳動を行うと、各試料レーンがほぼ平行となることから試料相互の比較や画像解析を行う上できわめて有用な方法と考えられた。

本実験に協力をいただいた倉本産業株式会社企画室
長、稲垣嘉則氏他技術部各位に感謝します。

文 献

- 1) Laemmli, U.K.: *Nature*, **227**: 680, 1970.
- 2) Sapiro, A.L. et al.: *Biochem. Biophys. Res.*

Commun., **28**: 815, 1967.

- 3) Weber, K. and Osborn, M.: *J. Biol. Chem.*, **244**: 4406, 1969.
- 4) O'Farrel, P.H.: *J. Biol. Chem.*, **250**: 4007, 1975.
- 5) 真鍋 敬, 他: *生物物理化学*, **22**: 171, 1978.