

ノート

ポリアクリルアミドゲル電気泳動によるたんぱく質の分析

井上昭朗*

1. 緒 言

関税率表第 35 類たんぱく系物質及び膠着剤に分類されるたんぱく質は税番 35・01 にカゼイン及びその誘導体, 税番 35・02 にアルブミン及びその誘導体, 税番 35・03 にゼラチン等, 税番 35・04 にペプトン等が分類され, 税率もかなり異なっており, 次のようである。

税番	品 名	税率
35.01	カゼイン, カゼイナート及びその他のカゼイン誘導体, 並びにカゼインゲル	
	1. カゼイン	無税
	2. その他のもの	10%
35.02	アルブミン, アルブミナート及びその他のアルブミン誘導体	
	1. 卵白	20%
	2. その他のもの	10.5% (9%)
35.03	ゼラチン, ゼラチン誘導体並びにかわ, 魚膠及びアイシングラス	
	1. ゼラチル及びにかわ	
	写真用ゼラチン	8.5% (8%)
	その他のゼラチン	22% (21%)
	にかわ	22% (21%)
	2. 魚膠, アイシングラス	7% (6%)
	3. その他のもの	14% (12%)
35.04	ペプトン及びその他のたんぱく質物質並びにこれらの誘導体並びに皮粉	
	1. ペプトン及びその誘導体	10.5% (9%)
	2. 皮粉	7% (6%)

3. その他のもの 20%

() は昭和 47 年 1 月よりの税率

フィッシュグルーとアニマルグルーについては, 本誌第 9 号に発表したが, 今回ポリアクリルアミドゲル電気泳動法により各種たんぱく質を充分区別し得ることがわかったので, この結果について報告する。

2. ポリアクリルアミドゲル

ゲルによる電気泳動法は種々のものが使われているが, ポリアクリルゲルは簡単に短時間に製作でき, 相当の強度と弾力を有し, 取扱が容易であり, 水にも有機溶剤にも溶けず, 各種緩衝液にも安定である。無色透明でデンストメーターに容易にかけられ, 品質も均一である。又たんぱく質の分離分析には特にすぐれている等の特長を持っている。

3. ポリアクリルゲル板の作製

3・1 ゲル作製貯蔵液の調製

ゲルを何時でも作製できるように貯蔵液を作っておくと便利である。

Acrylamide	70g
N,N'-Methylene bisacrylamide	1.4g
Urea	270g
β-Dimethylaminopropionitrile	1 ml

以上の物質を次の緩衝溶液に溶かして 1l とする。

Tris(hydroxymethyl)aminomethane	15.2g
Na ₂ EDTA	2.0g
H ₃ BO ₃	1.2g

水を加えて 1l とする。

3・2 ゲル作製用アクリル樹脂板の作製

ゲルを一定の大きさ, 厚さに作るため, アクリル樹脂の容器を作製した。その概要は Fig.1 のとおりである。

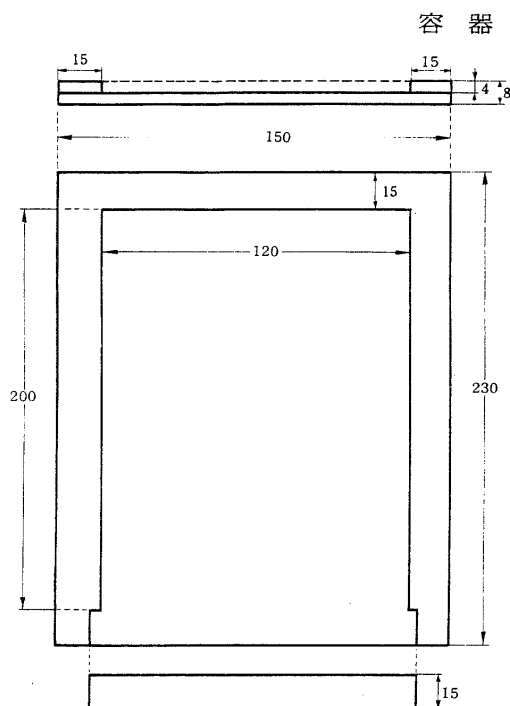


Fig.1-1 Acryl-resin plate for gel preparation

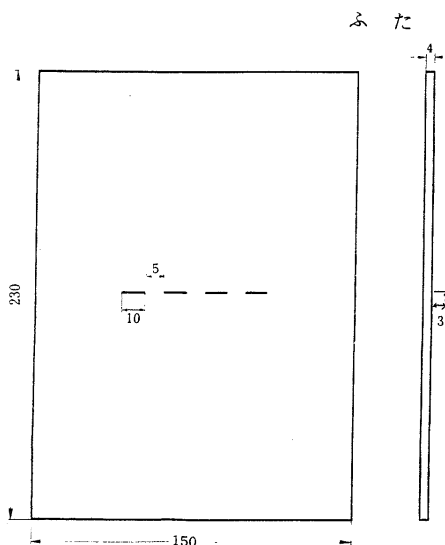


Fig.1-2 Acryl-resin plate cover for gel preparation

3・3 ポリアクリルゲルの作製

ゲル貯蔵液 150ml を採取し、過硫酸アンモニウム 0.3g

を加え良く攪拌し、ゲル作製用アクリル樹脂板に注入する。ふたを水でぬらした後、泡の入らない様注意してかぶせ、ゲルが硬化するまで放置する。20℃の室温で約 30 分でゲルは硬化する。ゲル作製用アクリル樹脂板のふたを取り去り、アクリル樹脂容器につけたまま泳動用ゲル板とする。

4. 泳動条件及び泳動

4・1 試料の調製

前述の緩衝溶液を 1.5 倍に稀釈し、試料を 0.1～0.2% の濃度に溶解したものを試料溶液とする。

4・2 電気泳動装置及び泳動条件

東洋科学産業製 PE-2 型を使用した。

ゲルの孔(slot)に注射器で試料溶液を注入し、泳動を行なった。ポリアクリルゲルと電極液との間には紙で bridge を作り電流を流す。泳動条件は 110～180V, 40mA, 6 時間泳動を行なった。電極液は 4%KCl, 0.3M Boric-NaOH buffer pH 9.1 を使用した。泳動後、ゲル作製用アクリル樹脂容器よりゲル板を取り出し、メタノール：水：酢酸(5：5：1)に amido black 10'B を飽和させたもので染色(約 15 分間浸けておく)後、7%酢酸水溶液でバックグラウンドが透明になるまで浸漬、洗滌し、観察する。

5. 結 果

5・1 カゼイン

次の 7 種類のサンプルを使用した。

1. Edible lactic casein (Fernleaf Brand)
2. Sodium caseinate (Fernleaf Brand)
3. French lactic casein hydrochloric
4. Lactic casein (Fernleaf Brand)
5. Casein MBK YHAMA
6. Anchor rennet casein
7. Edible rennet casein NSK Y-HAMA

以上 7 種類とも同一泳動パターンを示し、酸カゼイン、レンネットカゼイン、カゼイナート等の区別を示さなかった。文献による酸カゼイン特有な K-カゼインが明瞭でなく、又 α -カゼイン、 β -カゼインのレンネットカゼインでの各々 2 成分の分離が明瞭ではなかった。泳動距離の関係もあるかと考えられる。しかし、 α -カゼイン、 β -カゼインは明瞭に現われ、他のものとの区別ができる。

5・2 アルブミン

次のサンプルで泳動を行なった。

- 1.ラクトアルブミン (東京化成)
- 2.クリスタルアルブミン
- 3.Powder albumin
- 4.アルブミン (卵製) (東京化成)

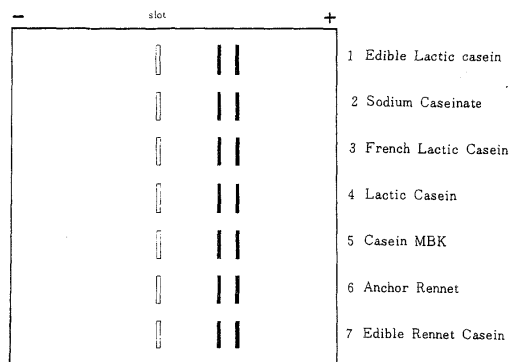


Fig.2 Electrophoresis pattern of casein

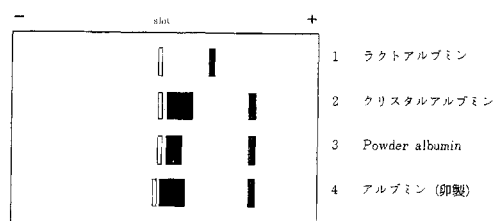


Fig.3 Electrophoresis pattern of albumin

図に示すような泳動パターンを示し、ラクトアルブミン、オボアルブミン (卵) は泳動パターンが明らかに異なる。Powder albumin はオボアルブミンの泳動パターンを示した。

5・3 ゼラチン

ゼラチンは次の二種類の試料を使用した。ほとんど泳動されなかった。アニマルグルー、フィッシュグルーも区別できなかった。泳動条件を適当に選ぶ必要がある。

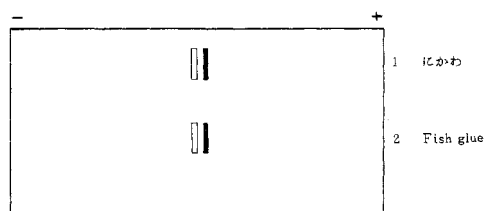


Fig.4 Electrophoresis pattern of glue

1. 市販ゼラチン
2. 魚膠

5・4 たんぱく質

次の試料を使用した。

1. Soy protein G500J
2. NVprotein Gunther
3. Vegetable protein D100WA
4. 極東ペプトン
5. Soy protein G600J

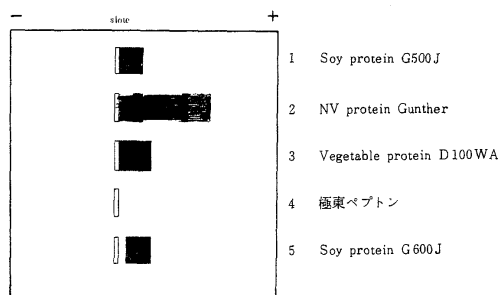


Fig.5 Electrophoresis pattern of protein

ペプトンは泳動パターンが現われないが、他のものはそれぞれ、図に示されるようなパターンを示した。

6. 考察

ポリアクリルゲル電気泳動はたんぱく質の分離にすぐれた特性をもち、従来、水分、灰分、窒素含有量等の数値及び化学薬品による沈澱反応の差による区別等で各たんぱく質を区別していたが、本法はたんぱく質

の定性及びその相互の定量が行なえるすぐれた分析手段であることが確認された。今後もこれを使用して、種々実験を行なっていきたい。

最後に本実験を行なうに際し、何かとご教示をいた

だいた雪印乳業(株)技術研究所第三研究室の近藤敏氏及び同研究室の方々、並びに横浜税関、蔵重統括審査官、小林、新井両分析官はじめ、分析室の方々、並びに東京税関分析室の方々に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 森五彦：“泳紙ゾーン電気泳動法の実際”.
- 2) 坂岸良克：分析化学, **19**, 305 (1970).
- 3) 西川勲, 阿部宣明, 斉藤健輔：農化誌, **41**, 675 (1967).
- 4) 西川勲, 村田信子, 吉田晴彦, 斉藤健輔：農化誌, **43**, 51 (1969).
- 5) 出来三男：税関分析月報, No.73, 42 (1970).

Analysis of Protein by Electrophoresis Method Using Polyacrylamide Gel

Teruo INOUE

Tokyo Customs Laboratory

30-5-5, Konan, Minato-ku, Tokyo.

— Received Dec.10, 1970 —