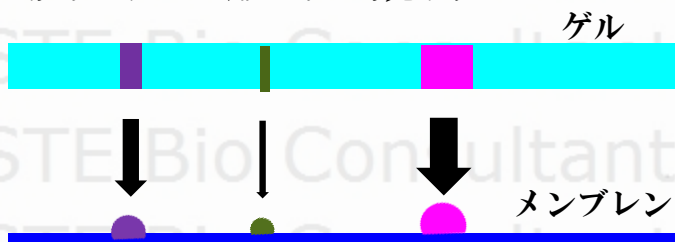


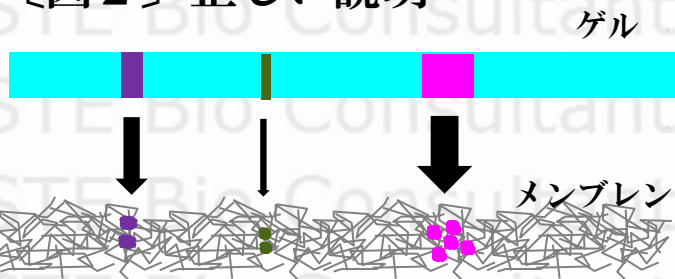
Western Blotting の原理

正しいウェスタンブロッティングの原理

〔図1〕一般的な説明



〔図2〕正しい説明



★粒状で示したタンパク質は、実際には膜のポア（空間）に比べ極めて小さいが、上図では、見易いよう大きくした

- PVDFやニトロセルロースなどの、ウェスタンブロッティングに使用される膜は、板状構造ではなく、糸状分子が絡み合った構造を取っている。
- 一般的な成書では、図1のように、板状のメンブレン上の上置されるように説明されているが、図2のように、糸状構造が複雑に絡み合った構造と考えるのが、妥当であると思われる。



- ウェスタンブロッティングでは、ゲル中のタンパク質は電氣的にメンブレン方向に引かれ、メンブレンに固定化される。
- この際、タンパク質分子は、メンブレンのポアサイズより極めて小さいため、メンブレンとタンパク質の親和性が、全く無ければ、通過してしまう。
- 電気で引かれているタンパク質が、メンブレンを通過する際に、メンブレンとの親和性が、電気で引かれる強さより大きい時、メンブレンに付着（固定化）する。
- この際のメンブレンとタンパク質の親和性は、主として疎水的であると考えられる。



- タンパク質の親水性・疎水性は、構成するアミノ酸により異なるが、強親水性のタンパク質や低分子量のタンパク質では、メンブレンに付着せず、通過してしまうことも考えられる。この現象は、使用する電気条件や転写用溶液、使用するメンブレンにより差がある。
- 強すぎる電気条件を使用した場合、ゲル中のタンパク質は全て抜け、強親水性タンパク質や低分子量のタンパク質は、メンブレンの固定化されことなく、通過してしまうことがあるので、注意が必要である。