

No-01-017

《題目》苦勞した Western Blotting の転写効率の均一化

今回のテーマは、Western Blotting というタンパク質や DNA などの分析法です。バイオテクノロジーでは、基本の方法ですが、知らない方の為に、簡単に説明します。ポリアクリルアミドゲル（あんみつに入っている寒天のようなもの）に、タンパク質を含む試料を乗せ、電気を掛けると、分子量の違いにより分離されます。分子量の違いにより分離されたタンパク質を、ニトロセルロースなどの膜に、電気的に写し取る方法（転写）を Western Blotting (WB、ウェスタンブロッティング) と言います。

通常の研究では問題にはなりません、この方法を製造に使用する上での最大の問題点は、転写を行う作業では、毎回転写効率が異なることです。更に、長方形の薄い膜（ニトロセルロースなど）に転写する際に、周辺部分と中心部分で、電気による発熱の影響により、辺縁部に比べ、中心部がより高温になることです。高温の部分ほど、ゲルから膜へ、より多くのタンパク質が写し取られる。つまり、製品にバラツキがでることです。

転写作業を行う際には、電気条件を同じにしても、使用する全ての溶液の温度・装置の温度その他で、転写効率に差が出てしまいます。製品である以上、常に一定量のタンパク質が、膜上に固定化する必要があります。

また、辺縁部と中心部の温度差では、特殊な温度計で測定したところ、電気条件その他により差があり、高電圧—短時間の条件下では、温度差=転写効率の差が大となり、低電圧—長時間の条件では、温度差は小さくなりますが、製造効率が低下します。つまり、高電圧—短時間の条件下で、転写効率に差が出ない工夫を必要としました。

バッファの温度は転写効率に大きな影響を与えます。中心部と辺縁部の温度差は、装置や電気条件により異なりますが、最大で 10℃前後の差が出ることがあります。このような場合、中心部と辺縁部の転写効率は大きくことなり、同一試料を用いても、中心部で確認できたバンド（タンパク質）が、辺縁部では検出できないという結果になってしまいます。これでは、一定の品質の製品を製造することは不可能です。様々な検討工夫を行うことにより、中心部と辺縁部の温度差を、±1.5℃以内に抑えることを達成し、製品化させたことは、その後の大きな自信になりました。