

29-0177 W53-4

プロモピロガロールレッド α モリブデン(VI)錯体を用いるタンパク質の吸光度定量法について

○天野 絵美¹, 山口 敬子¹, 梅原 聡子¹, 藤田 芳一¹ (¹大阪薬大)

【目的】当研究室では、色素と金属イオン並びにタンパク質の三者間での三元錯体生成反応を利用する簡便、高感度なタンパク質の吸光度定量法を種々開発している。そのうち、ピロガロールレッド α モリブデン(VI)錯体法(PR法)は、本邦において尿タンパク定量用試薬として汎用されている。今回、PR法に優るタンパク質の高感度吸光度定量法の開発を目的として、本色素-金属錯体生成利用法について精査した。

【実験】色素、金属イオンの組み合わせの予備的検討により、色素として、ピロガロールレッドの臭素置換体のプロモピロガロールレッド(BPR)を、モリブデン(VI)と併用するとき、最も呈色差が著しいことを認めた。従って以下、その基礎的定量条件を系統的に検討した。

【結果と考察】設定した定量操作法は次の通りである。すなわち、10 ml のメスフラスコに、 5.0×10^{-4} M モリブデン(VI)溶液 1.0 ml, 1.0 % トリトン X-305 溶液を 1.0 ml, 1.0 M 塩酸-酢酸ナトリウム緩衝液(pH 2.0) 2.0 ml, 5.0×10^{-4} M BPR 溶液 1.0 ml, 更に HSA を含有した溶液を加えた後、水を加え全量 10 ml とし、試験管に移す。本溶液を室温で 20 分放置後、同様に処理して得た試薬ブランク液を対照に波長 615 nm の吸光度を測定する。本操作により、HSA を $1 \sim 15 \mu\text{g ml}^{-1}$ の濃度範囲において、原点を通る良好な直線が得られた。今後、より詳細な検討が必要であるが、本法は、実試料中のタンパク質の定量に適用できることが示唆される。