

# 27Q-am004

CBB 試薬を用いたタンパク質定量法の再現性向上について

○佐野 明<sup>1</sup>(<sup>1</sup>東京理大薬)

**【目的】**クーマシーブリリアントブルー G 250 (CBB)を用いた Bradford 法によるタンパク質定量法について、定量下限並びにその濃度付近における再現性の向上を検討した。

**【実験】**CBB 試薬の調製：CBB 15 mg をエタノール 5 mL 及びリン酸 10 mL に溶解し、水で 100 mL とした。1 夜放置後ろ過し、ろ液を CBB 試薬溶液とした。検討には、Serva 社の SERVA blue G 及び A 社～D 社の CBB 計 5 種を用いた。発色操作：タンパク質溶液 100  $\mu$ L に CBB 試薬溶液 1 mL を加え、混和後 595 nm の吸光度を測定した。なお、タンパク質としては、ヒト血清アルブミン (HSA)、ウシ乳  $\beta$ -カゼイン ( $\beta$ -C)、ウシ血清  $\alpha_1$ -酸性糖たんぱく (AGP) 及び卵白リゾチーム (Lyz) を用いた。

**【結果・考察】**5 社 5 種の CBB を比較した結果、SERVA blue G 以外の CBB を用いた場合には、タンパク質濃度 0.5  $\mu$ g 以下の時の吸光度の再現性が低かった。一方、TLC による分離を試みた結果、A 社～D 社の CBB には青色不純物が多く含まれていることがわかった。発色操作に用いた試験管の内壁には青色色素が吸着されやすかったことから、低濃度タンパク質における吸光度の大きなバラツキの原因は、これら不純物が試験管内壁に非再現的に吸着するためであると推察された。この吸着は試験管の素材 (ガラス、ポリプロピレン) に関係なく生じた。種々検討した結果、この現象を防ぐには、CBB 試薬溶液に 0.001～0.002% 程度の Brij-35 や Triton X-100 などの非イオン性界面活性剤を添加することが有効であることがわかった。この濃度はこれら界面活性剤の CMC の約 1/10 程度である。現在、詳細について検討中である。