



Technical Data

# FastGene™ Q-Stain (タンパク染色試薬) の評価試験

評価製品

## FastGene™ Q-Stain (NE-FG-QS1)

目的

操作・染色時間と染色像について、既存の染色試薬と比較することで、本製品の有用性を確認する。

評価方法

タンパクラダーマーカの2倍の希釈系列を作成してそれぞれ電気泳動を行った。市販の2種類のCBB染色試薬に対し、染色、脱色、操作時間を比較することで、操作の簡便性を評価した。

また、泳動の結果から、既存の製品と感度、染色像の比較を行い、本製品の性能を評価した。

使用試薬



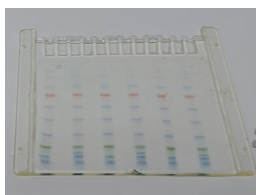
### タンパク染色試薬 FastGene™ Q-Stain (Cat.No NE-FG-QS1)

【特徴】

- 前洗浄，前固定脱色の操作が不要
- 10分以内で結果が得られる（感度を求めるなら30分以上を推奨）
- CBBと同等の検出感度
- メタノール・酢酸不使用 – 廃棄処理が簡便，MS（質量分析）に適合

検証結果は 3 ページ 結果①

検証結果は 4 ページ 結果②



### ポリアクリルアミドゲル FastGene™ PAGE Gel - 4-20% (CatNo. NE-PGS420)

【特徴】

- 最大 60 μL/well のまでローディング可能
- 幅広いミニ電気泳動チャンバーに適合するポピュラーなミニフォーマットのプレキャストゲル
- FastGene MOPS または MES バッファーに適合 **\*Tris-Glysin Buffer は使用できません**
- 泳動条件目安 140 V, 45~55 min

既存製品との仕様の比較

製品名	固定	染色	脱色	安全性
Q-Stain (FastGene™)	不要	10~60 min	不要 (必要に応じて脱色)	○
自家染色試薬 CBB (W社)	10~60 min	30~60 min以上	適宜 (120~180 min 程度)	酢酸・メタノール
市販染色試薬 CBB Kit (B社)	不要	30~60 min	適宜 (120~180 min 程度)	酢酸・メタノール

※各操作時間は、製品のプロトコルまたは、標準的な手順として記載しています。

## 染色手順の比較

Q-Stain と既存の染色試薬で「操作手順」と「操作時間」を比較した。

### 操作手順の比較

	Q-Stain (FastGene™)	既存染色試薬 CBB (W社)	既存染色試薬 CBB Kit (B社)
<b>染色</b>	1. 泳動後、ゲルを完全に覆うように染色液を入れる。 ↓ 2. ゆっくり振とうしながら室温でインキュベートする。	<b>前固定</b> 1. SDS-PAGE 後のゲルを、前固定液を入れた容器に浸す。 ↓ 2. 室温で 15 分程度振とうする。(泳動先端のプロモフェノールブルー(BPB) が青から黄色になる) ↓ <b>染色</b> 3. 前固定液を廃液ボトルに捨てて、CBB 染色液を容器に加える。 ↓ 4. 室温で 30 分以上振とうする。 ↓ 5. CBB 染色液を廃液として処理する。	<b>染色</b> 1. 泳動後、ゲルを完全に覆うように染色液を入れる。 ↓ 2. ゲル全体が十分染色されるまで 30 分～60 分振とうする。 ↓ 3. 染色液を廃液入れへ移す。 ↓ <b>脱色</b> 4. 染色後のゲルが十分浸かる量の脱色液を入れる。 ↓ 5. バックグラウンドがクリアになるまで、新しい脱色液で数回繰り返す。
<b>脱色</b>		6. 脱色液をゲルの入った容器に注ぐ。 ↓ 7. 室温で 2 時間程度振とうする。 ↓ 8. バックグラウンドが透明になったら脱色が終了。	

### 操作時間の比較

	Q-Stain	既存染色試薬 CBB	既存染色試薬 CBB Kit
前固定	-	15 min	-
染色	10 min ~ 60 min	30 min	30 min
脱色	-	10 min	10 min
脱色液交換		5 min	5 min
脱色		10 min	10 min
脱色液交換		5 min	5 min
脱色		10 min	10 min
脱色液交換		5 min	5 min
脱色		30 min	30 min
脱色液交換		5 min	5 min
脱色		30 min	30 min
脱色液交換		5 min	5 min
脱色		30 min	30 min
トータル時間		10 min ~ 60 min	190 min

※CBB 染色の場合、短時間で効率的に脱色するため、脱色液を適宜交換する必要があった。

Q-Stain は、操作手順と、操作時間において既存の製品よりも簡便であるといえる。脱色ステップが不要なため、通常の染色時間と比べて、約 1/3 の時間で作業を終えることができる。

⇒実験方法と、染色結果は次のページから

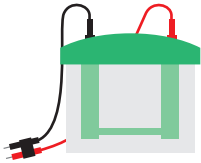
## 実験

### タンパク電気泳動

タンパク分子量マーカの希釈系列を作成した。

■ 希釈溶液：Laemmli サンプルバッファー (BioRad) #1610737

■ タンパク分子量マーカー：プレジジョン Plus プロテイン™ 未着色スタンダード (BioRad) #1610363



	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
希釈倍率	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
バンドAのタンパク量	750.0 ng	375.0 ng	187.5 ng	93.8 ng	46.9 ng	23.5 ng	11.7 ng	5.9 ng
バンドBのタンパク量	150.0 ng	75.0 ng	37.5 ng	18.8 ng	9.4 ng	4.7 ng	2.3 ng	1.2 ng

サンプルをそれぞれ、下記の通りアプライを行った。

アプライ量：20  $\mu$ L/well

{ Laemmli サンプルバッファー 10  $\mu$ L  
+ 各希釈系列 ①~⑧ 10  $\mu$ L }

ポリアクリルアミドゲル  
FastGene™ PAGE Gel - 4-20%  
(CatNo. NE-PGS420)

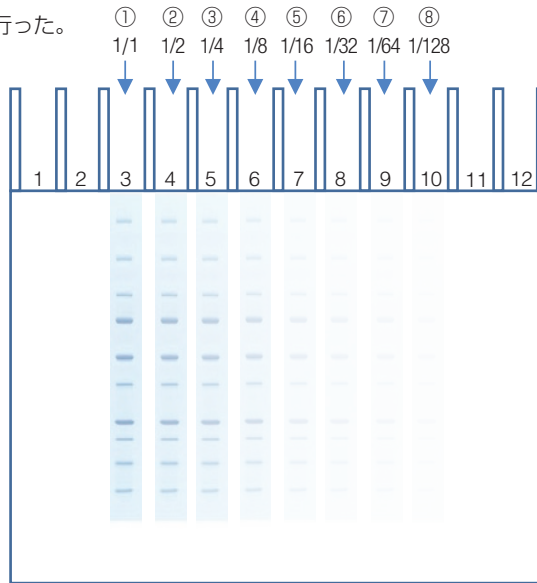
#### ■ 泳動条件

電圧：140 V

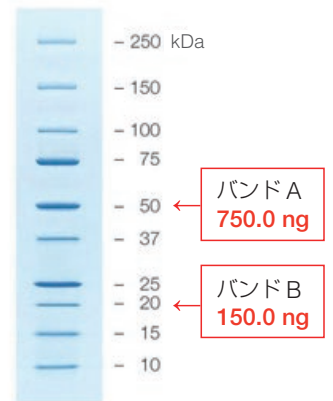
時間：55 min

Buffer：MOPS Buffer

前頁の推奨染色手順に従い、それぞれのタンパク染色試薬で比較検討を行った。



タンパク分子量マーカのバンド分布



## 結果

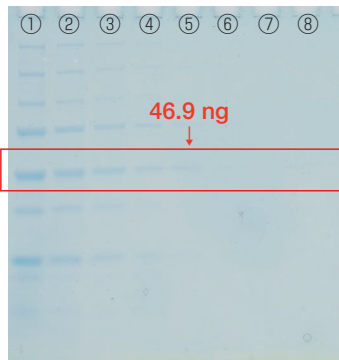
### ① 推奨条件での比較

染色試薬

Q-Stain (FastGene™)

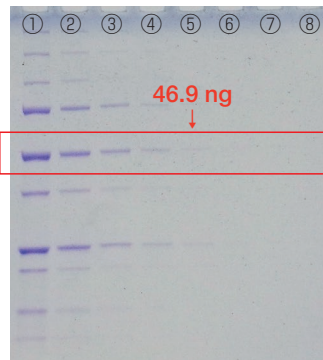
既存染色試薬 CBB

既存染色試薬 CBB Kit

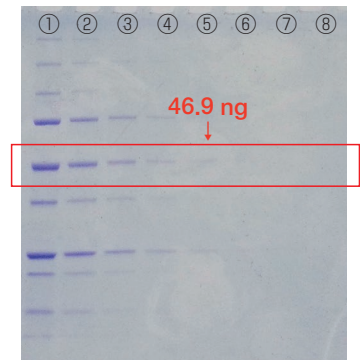


時間

前固定なし  
染色 30 min  
脱色なし



前固定 15 min  
+ 染色 30 min  
+ 脱色 120 min



前固定なし  
染色 30 min  
+ 脱色 120 min

今回の実験においてQ-Stainの検出限界量は、46.9 ngであった。

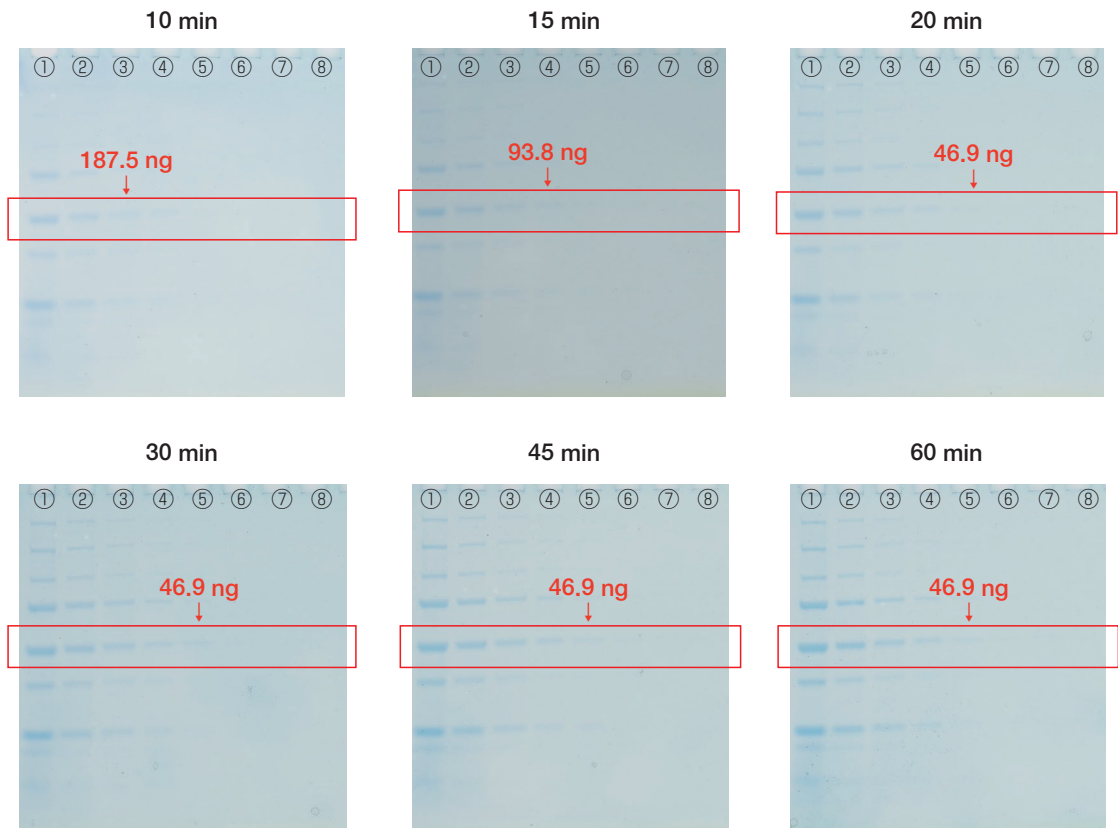
既存のCBB染色と比較すると、コントラストは従来のCBB染色の方がはっきりしていたが、検出限界量においては同等であった。

以上の結果から、Q-Stainは脱色操作を行わなくとも、CBBと同等の結果を得られることが確認できた。

## ② 染色時間による染色度合の推移

※脱色は実施していません。

## Q-Stain



タンパク量が多い場合では 10 min でも十分な検出を行うことができた。

染色時間 10 min ~ 30 min において徐々に検出限界量の改善がみられた。ただし、この試験条件では 30 min 以上染色しても、検出限界量は上がらなかった。

## まとめ

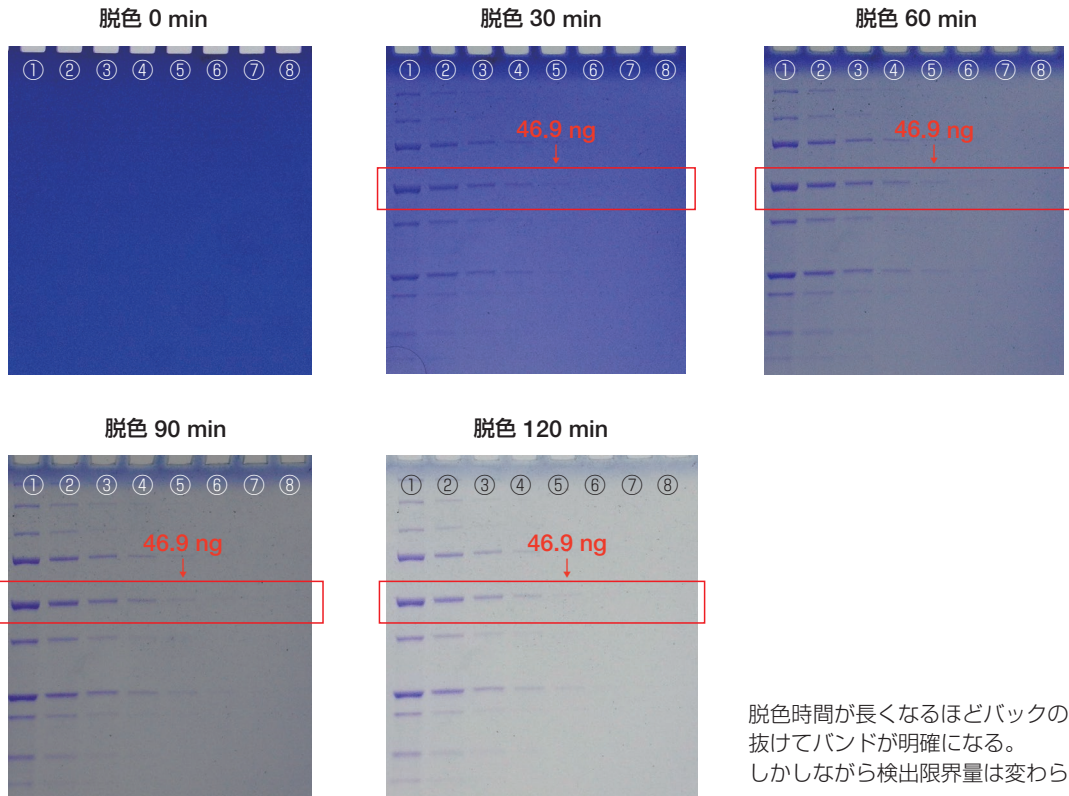
製品名	検出限界量	メリット	デメリット
Q-Stain (FastGene™)	46.9 ng	<ul style="list-style-type: none"> <li>バックグラウンドが低いいため、脱色を行う必要がない。</li> <li>染色の程度を確認しながら染色を行える。</li> <li>劇物が入っていないので、廃液の処理が簡単。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>CBB 染色と比較して全体的にバンドが薄くみえる。</li> </ul>
既存染色試薬 CBB (W 社)	46.9 ng	<ul style="list-style-type: none"> <li>濃淡がしっかりとしているのでタンパク量が確認しやすい。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>随時調製ではないが、あらかじめ試薬を準備する必要がある。</li> <li>前固定の工程が必要。</li> <li>脱色液を随時交換が必要。</li> <li>廃液処理 (劇物)</li> </ul>
既存染色試薬 CBB Kit (B 社)	46.9 ng	<ul style="list-style-type: none"> <li>濃淡がしっかりとしているのでタンパク量が確認しやすい。</li> <li>試薬が調製されている。</li> <li>前固定の工程がない。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>脱色液を随時調製が必要。</li> <li>染色にムラが出やすい。</li> <li>廃液処理 (劇物)</li> </ul>

## まとめ

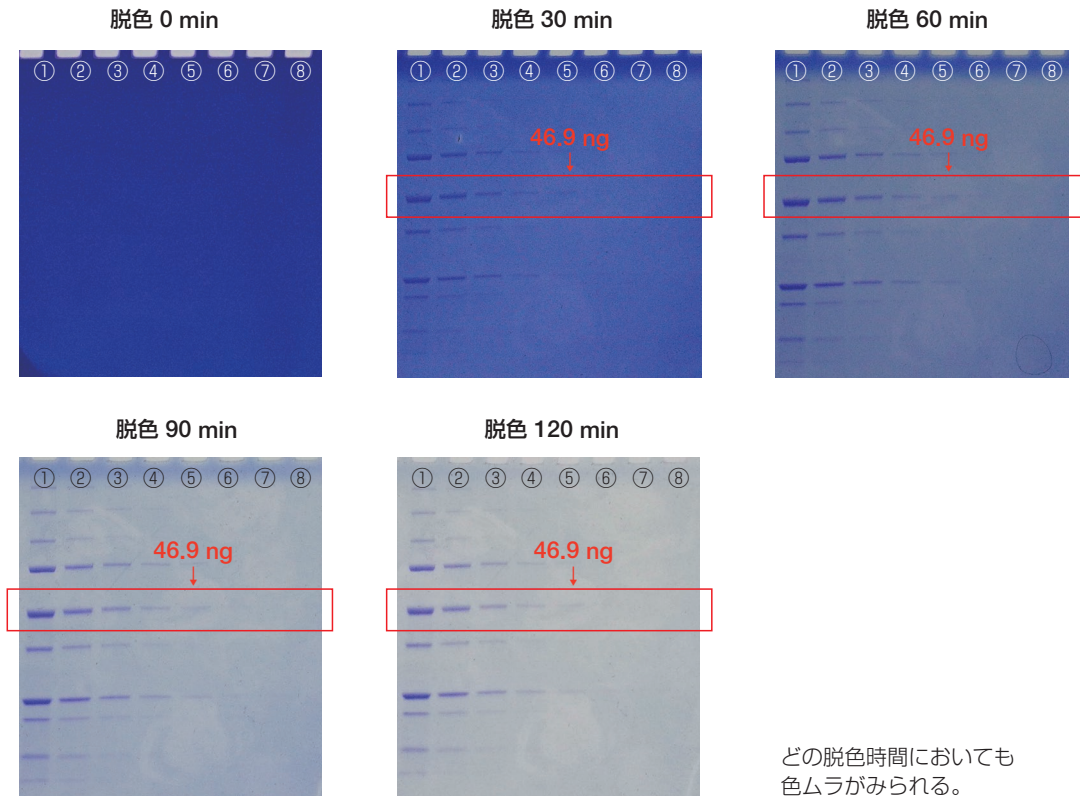
タンパクの検出確認を短い時間で簡単に行う方法として、FastGene™ Q-Stainは有用と考えられる。

**【補足1】 CBB染色後の脱色時間による染色像の推移**
**CBB 染色**

染色時間：30 min


**CBB Kit 染色**

染色時間：30 min



既存のCBB染色方法では、脱色は必須であった。

脱色前に染色度合を確認することが難しいため、FastGene™ Q-Stain よりも染色時間がコントロールし難い。

**【補足2】 Q-Stain の脱色**

Q-Stain にて 60 min 染色を行った。

脱イオン水で 20 min の脱色をすると感度が上がるか検証した。



脱色によりコントラストが若干上がるためバンドはシャープになる印象を受けるが、検出限界量は変わらなかった。