改良型フラットベッド蛍光スキャナの性能評価

Introduction of improved model of flatbed fluorescent gel scanner

大房[1]、一ノ瀬[2]、大上[3]、山縣[1]、妙見[1]、武田[1]
(1) 東和環境科学
(2) アイメジャー
(3) 三ツワフロンテック

要旨

我々は、ゲルプロテオミクスにおける蛍光染色のコストダウンを計るため、新しいコンセプトの電気泳動ゲル用の蛍光スキャナの開発、評価を行っており、昨年の本学会において、最初のモデルの性能評価を発表した。
前回発表したモデルでは、A4サイズであったことに加えて、頻回スキャンが必要であり、対応できるゲルサイズおよび感度面において、改良の余地があることを指摘された。今回は、これらの点について、ベースとなるスキャナをA3モデルにするとともに、感度向上とパターンノイズ低減のための改良を行った新しい電気泳動ゲル用の蛍光スキャナの性能評価をSyproRuby (Invitrogen)およびFlamingo (Bio-Rad)蛍光染色剤を用いて実施したので報告する。

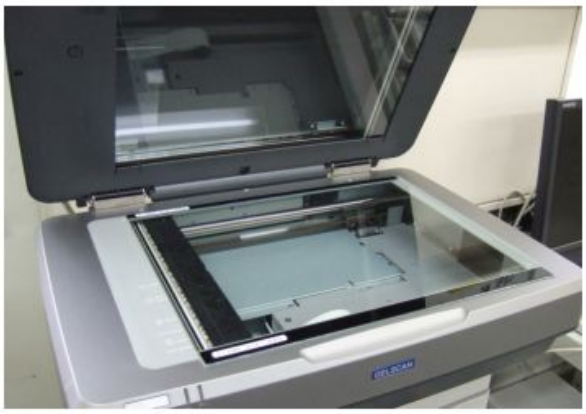
近年登場した蛍光染色剤は感度及びダイナミックレンジの問題を解決し、ゲルプロテオミクスの解析力を大きく改善したが、専用のスキャナは高額かつ大型であり、蛍光染色の普及はプロテオミクスを主たる解析方法として採用しているラボに限定的されている。我々の蛍光スキャナは、汎用カラーフラットベッドスキャナを蛍光用に改造して作成されており、PCへの接続性や設置の容易さなど価格面以外のメリットも大きいことが期待される。

KEYWORDS

ゲル染色、蛍光スキャナ、A3、サイプロルビー、フラミンゴ

 iMeasure Inc. All rights reserved.

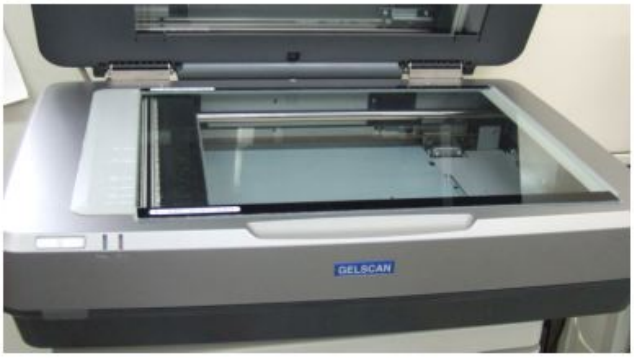
新型スキャナ外観



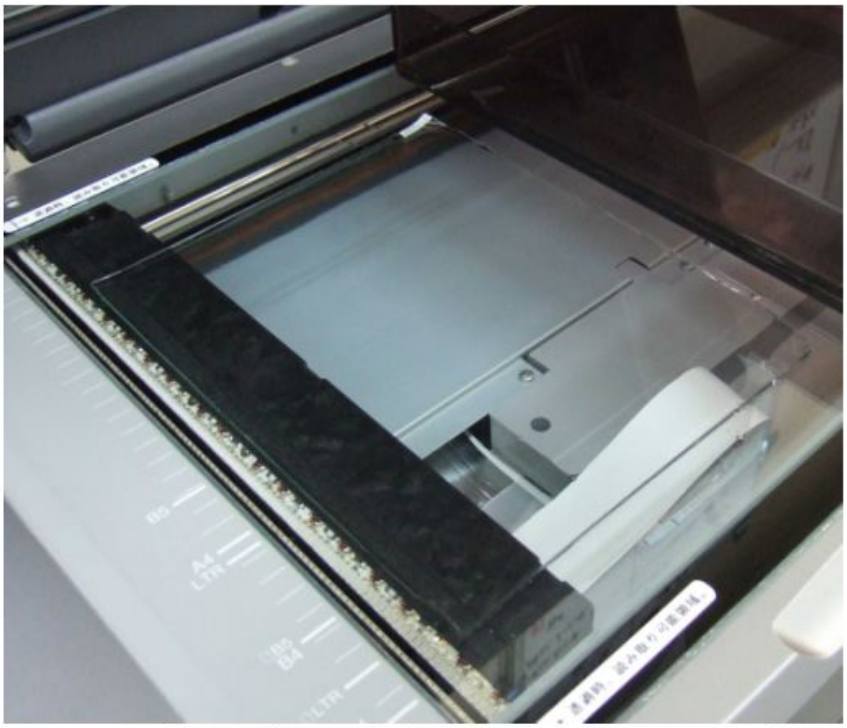
新型スキャナ（GELSCAN)の外観は、市販の大判フラットヘッドスキャナそのものであり、Windows98, 2000, XP, Vistaが動作しているPCにUSBなどのI/Fを用いて簡単に接続できる。

負荷が小さいため、PentiumIIクラスの古いPCでも十分に使用できる。

レーザーを用いないため、電源投入して使用し、使用後はそのまま電源を切ることが出来る。



18cm x 20 cmの2DEゲルを新型スキャナにセット



大判ゲルを2枚まで同時にセット可能

 iMeasure Inc. All rights reserved.

染色方法

Flamingoゲルステイン

固定　10%　酢酸
　　40%　エタノール

染色　1×Flamingoゲルステイン

脱色　0.1%(w/v)Tween20

検出　・Molecular Imager FX Pro
（BIO-RAD社）
・新型スキャナ：GELSCAN

SYPRO ルビー

固定　5% 酢酸
　　30% メタノール

染色　SYPRO Ruby

脱色　7% 酢酸
　　10% メタノール

検出　・Molecular Imager FX Pro
（BIO-RAD社）
・新型スキャナ：GELSCAN

いずれもメーカー指定条件による

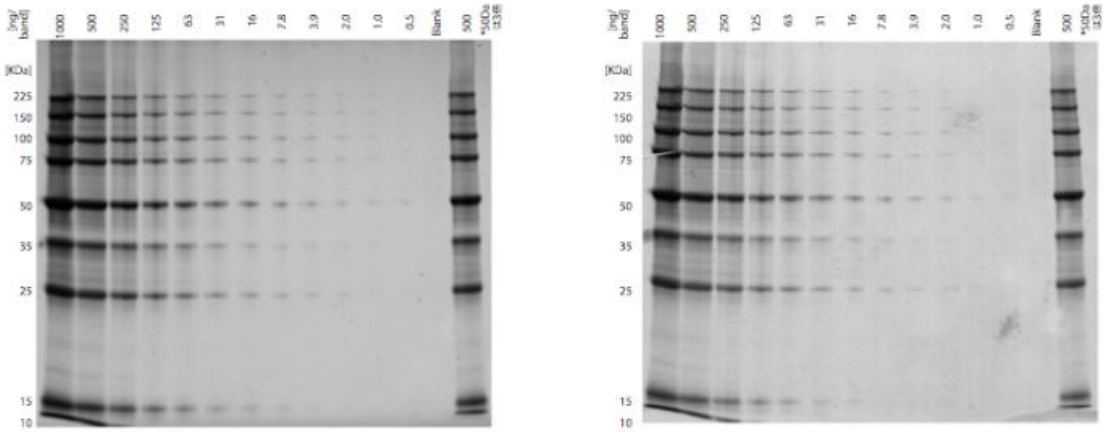
新型スキャナとMolecular ImagerFXの比較

	GELSCAN		Molecular ImagerFX	
テストPC	OS CPU RAM 接続	Windows98 PenII-266 MHz 320 MB USB	OS CPU RAM 接続	WindowsNT4 Pen4-1.6 GHz 256 MB SCSI
スキャン時間	秒	条件	秒	条件
全体プレビュー	71	(50 dpi/508μm)	168	(800μm/32 dpi)
ミニゲル1回	70	(300 dpi/85μm)	133	(100μm/254 dp
18 cmゲル1回	205	(300 dpi/85μm)	414	(100μm/254 dp
スキャンサイズ	31 cm x 42.5 cm		35.5 cm x 43.5 cm	

 iMeasure Inc. All rights reserved.

SDS-PAGE/分子量マーカーを用いた検出下限比較

Bio-Rad Molecular Imager FX　　新型スキャナ（GELSCAN）



Bio-Rad Molecular Imager FX　　Flatbed Scanner

条件

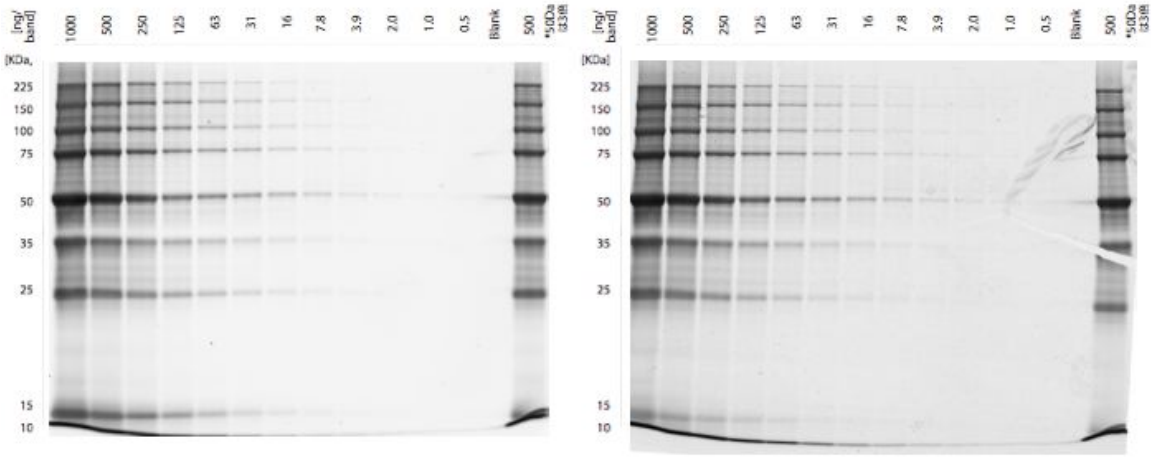
・12.5 %アクリルアミドプレキャストゲル

・Broad Range Protein Molecular Weight Markers (V8491, PROMEGA)

・SYPRO Ruby (Invitorogen)

SDS-PAGE/分子量マーカーを用いた検出下限比較

Bio-Rad Molecular Imager FX　　新型スキャナ（GELSCAN）



条件

・12.5 %アクリルアミドプレキャストゲル

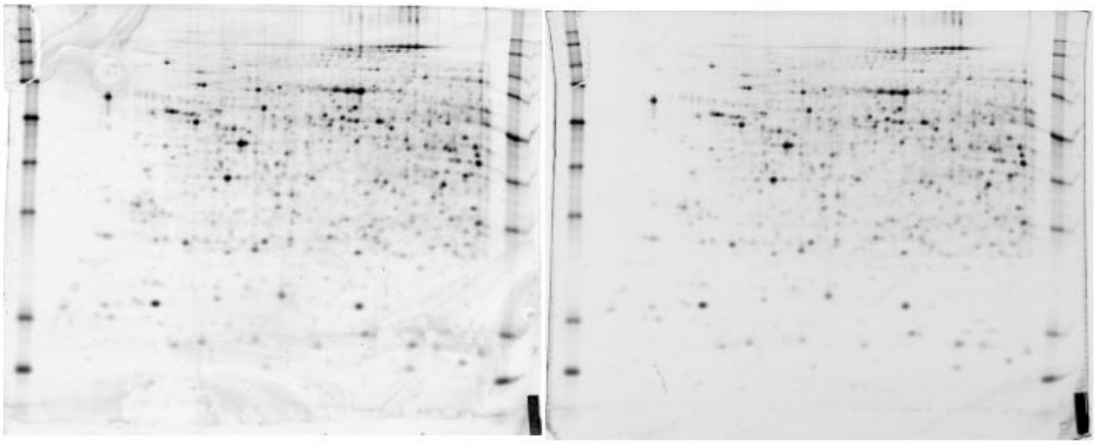
・Broad Range Protein Molecular Weight Markers (V8491, PROMEGA)

・Flamingo Gel Stain (Bio-Rad)

 iMeasure Inc. All rights reserved.

2次元電気泳動像の比較

Bio-Rad Molecular Imager FX　　新型スキャナ（GELSCAN）



条件

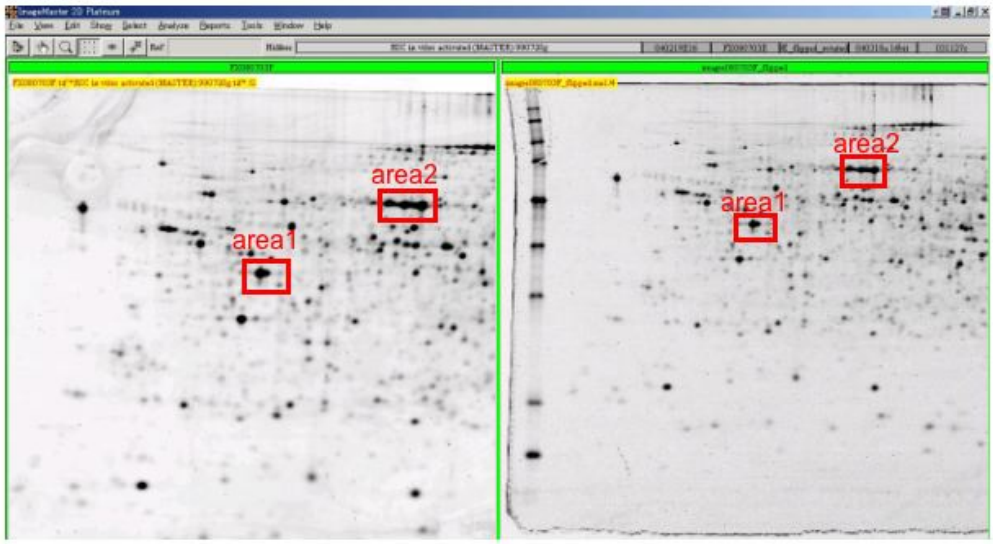
・1D:　pI3-10, 2D: 9-18% Gradientアクリルアミドゲル

・Broad Range Protein Molecular Weight Markers (V8491, PROMEGA)

・SyproRuby 染色(Invitrogen)

2次元電気泳動像とImageMaster (GE)を用いた比較

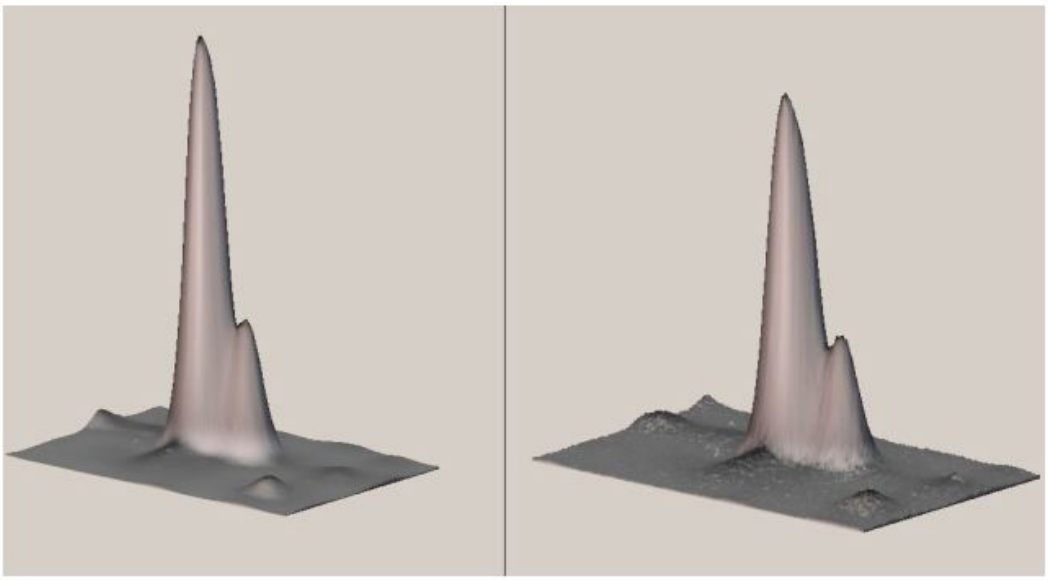
Bio-Rad Molecular Imager FX　　新型スキャナ（GELSCAN）



 iMeasure Inc. All rights reserved.

ImageMaster (GE)を用いた３D表示による比較（１）

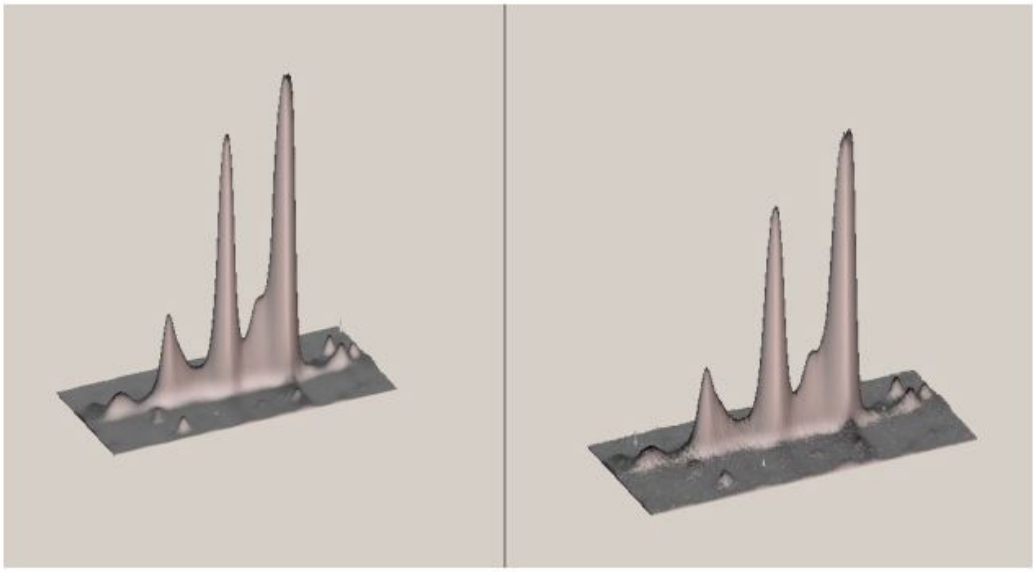
area 1



Bio-Rad Molecular Imager FX　　新型スキャナ（GELSCAN)

ImageMaster (GE)を用いた３D表示による比較（２）

area 2

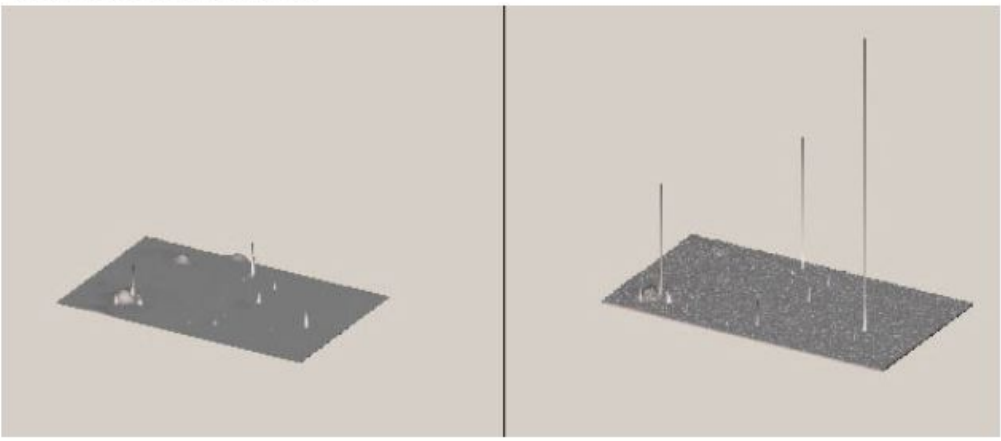


Bio-Rad Molecular Imager FX　　新型スキャナ（GELSCAN)

 iMeasure Inc. All rights reserved.

ImageMaster (GE)を用いた３D表示による比較（３）

low intensity area



Bio-Rad Molecular Imager FX　　新型スキャナ（GELSCAN)

GELSCANでは、取り込みソフトウエアがクリスタルノイズ除去を行わないため、シグナルが弱いエリアでは、クリスタルノイズが目立つが、これは、2D解析用ソフトウエアで除去可能である。

まとめ

・新型スキャナ（GELSCAN)は、昨年紹介したA4機と比較して、スキャン時間が大きく改善され、Bio-Rad Molecular Imager FXと同レベルの取り込み時間にて、Flamingo, SyproRuby染色のゲルの画像取り込みが可能であることが判明した。

・新型スキャナ（GELSCAN)は、PCへの負荷が小さく、Windows98とPentium II-266 MHz程度の約10年前のPCで十分に使用可能であり、新たなPC導入を必要としないことが判明した。

・分子量マーカーの希釈系列の泳動結果から新型スキャナ（GELSCAN)の検出感度は、 Bio-Rad Molecular Imager FXと遜色ないことが判明した。

・以上のことから、電気泳動は実施しているが、プロテオーム解析にフォーカスされておらず蛍光スキャナの導入が難しいラボにおいて、CBB染色あるいは銀染色に代わって、蛍光染色を導入するためのスキャナとして好適であると期待される。

 iMeasure Inc. All rights reserved.