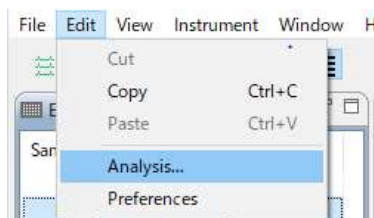


検量線を描いてタンパク質の濃度測定プロトコール

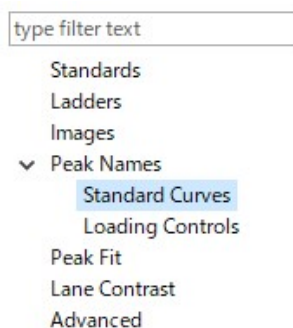
以下のように濃度の違う b-amyloid を流している template を用いて 2-9 レーンのデータを元に標準曲線を描き、他の各サンプルに含まれる b-amyloid の濃度を測定します。

1: Biot. Ladder
2: b-amyloid Aug/ml
3: b-amyloid 1.6 ug/ml
4: b-amyloid 0.64 ug/ml
5: b-amyloid 0.256 ug/ml
6: b-amyloid 0.1024 ug/ml
7: b-amyloid 0.04 ug/ml
8: b-amyloid 0.016 ug/ml
9: b-amyloid 0 ug/ml
10: b-amyloid Aug/ml
11: b-amyloid 1.6 ug/ml
12: b-amyloid 0.64 ug/ml
13: b-amyloid 0.256 ug/ml
14: b-amyloid 0.1024 ug/ml
15: b-amyloid 0.04 ug/ml
16: b-amyloid 0.016 ug/ml
17: b-amyloid 0 ug/ml
18: b-amyloid Aug/ml
19: b-amyloid 1.6 ug/ml
20: b-amyloid 0.64 ug/ml
21: b-amyloid 0.256 ug/ml
22: b-amyloid 0.1024 ug/ml
23: b-amyloid 0.04 ug/ml
24: b-amyloid 0.016 ug/ml
25: b-amyloid 0 ug/ml

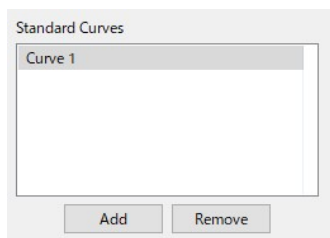
1. 通常通り、蛍光スタンダードやビオチンラダーを確認します。
2. 標準曲線を描くため標的タンパク質のピークに名前をつけます。
3. 画面左上の Edit より、Analysis...を選択します。



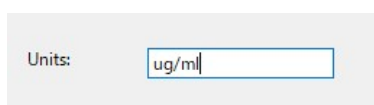
4. 現れたウィンドウ内の Standard Curves を選択します。



5. Add をクリックします。すると Curve 1 と書かれるようになります。



6. Units にタンパク質濃度の単位を入力します。今回は ug/ml と記入しました。



7. 定量するピーク名を選択します。ここで選択するピーク名は Peak Names で指定したピークから選びます。今回は Beta-amyloid というピークに関して解析します。Peak Group は Peak Names の Analysis Group と同じものにします。

Standard Curves: Curve 1

Peak Group: Protein

Peak: Beta-amyloid

Fit: Linear

8. Standard Curves:にある Add をクリックします。

Peak Group: Protein

Peak: Beta-amyloid

Fit: Linear

Capillary	Concentration

Add Remove

9. すると Capillary カラム内が編集可能になるので、検量線を描くために必要なキャピラリーを、指定したサンプル名もしくは Capillary の番号で指定します。左はサンプル名を指定した例で、右はキャピラリー番号で指定した例。

Capillary	Concentration
b-amyloid 4ug/ml	4.0

Add Remove

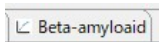
Capillary	Concentration
2	4.0

Add Remove

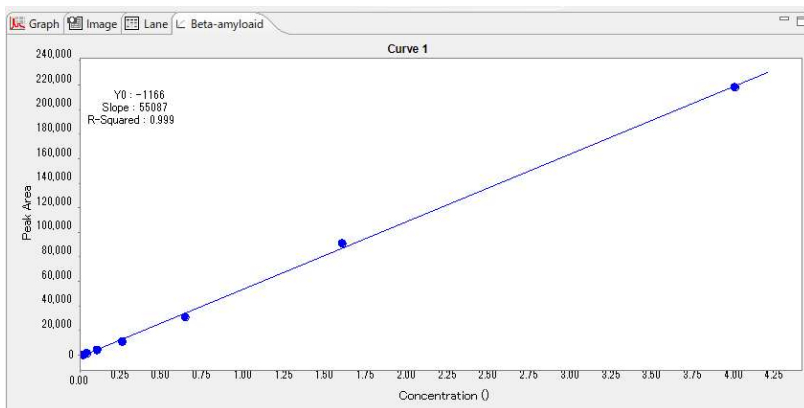
10. 今回は上右のキャピラリー番号で指定して更なる解析をします。検量線に含めるデータを入力するまで 7-8 を繰り返します。

Capillary	Concentration
2	4.0
3	1.6
4	0.64
5	0.256
6	0.102
7	0.04
8	0.016
9	0.0

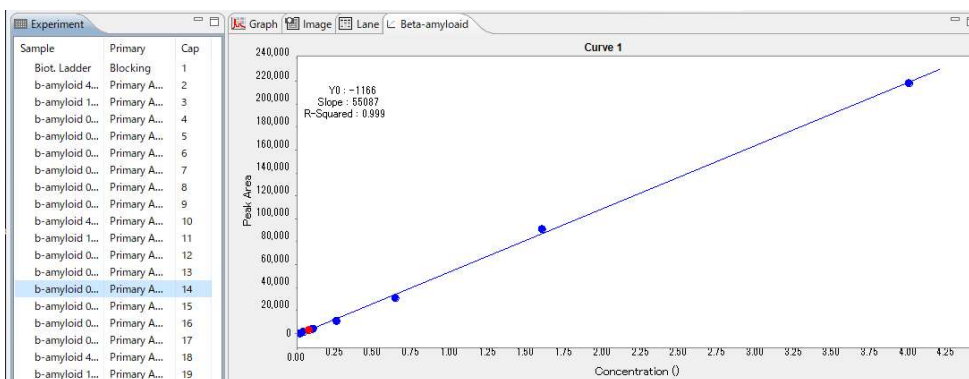
- Apply をクリックし OK を選択します。
- 新たにでてきたタブをクリックします。タブ名はピークの名前と同じになります。



- すると、標準曲線とキャリブレーションのデータが青い点で表示されます。



- Experiment ウィンドウをクリックするとそのデータが標準曲線上に赤い点で表示されます。



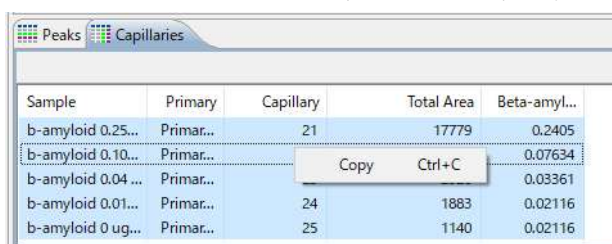
- 下の方にある Capillaries タブをクリックすると各レーンのピーク面積が表示されます。

Sample	Primary	Capillary	Total Area	Beta-amyloid
b-amyloid 0.64...	Primar...	12	31859	27408
b-amyloid 0.25...	Primar...	13	10440	9467
b-amyloid 0.10...	Primar...	14	5886	2997
b-amyloid 0.04...	Primar...	15	2672	1019
b-amyloid 0.01...	Primar...	16	2352	463

- 下の方の右下にある conc を押すと算出した濃度が表示されます。

Sample	Primary	Capillary	Total Area	Beta-amyloid	Conc
b-amyloid 0.64...	Primar...	12	31859	27408	0.5187
b-amyloid 0.25...	Primar...	13	10440	9467	0.1930
b-amyloid 0.10...	Primar...	14	5886	2997	0.07557
b-amyloid 0.04...	Primar...	15	2672	1019	0.03967
b-amyloid 0.01...	Primar...	16	2352	463	0.02957

17. Capillaries テーブルを選んで右クリックを押して Copy を押すとクリップボードにテーブルがコピーされ、Excel 等のソフトを使い更なる解析を行えます。



Sample	Primary	Capillary	Total Area	Beta-amyl...
b-amyloid 0.25...	Primar...	21	17779	0.2405
b-amyloid 0.10...	Primar...			0.07634
b-amyloid 0.04 ...	Primar...			0.03361
b-amyloid 0.01...	Primar...	24	1883	0.02116
b-amyloid 0 ug...	Primar...	25	1140	0.02116