

1. RFHR 法の特徴

1. 0次元泳動を行い、蛋白質を高度に濃縮する。

1次元泳動の前に、短い0次元ゲルに蛋白質を高度に濃縮泳動させる。そのゲルから蛋白バンドを含むゲル片を切り出し、1次元ゲルの中間地点に挿入する。

2. 1次元は等pH電気泳動であり、等電点泳動を行わない。

1次元は7%ゲル、pH 8.6の等pH電気泳動であり、各蛋白質のネットチャージによる泳動速度の違いによって分離する。

3. 塩基性蛋白質の分離に優れる。

等電点電気泳動を採用しないため、等電点の如何にかかわらず蛋白質を分離できる。したがってとくに等電点法の不得手な塩基性蛋白質の分離に優れている。逆に等電点への濃縮効果を持たないため、中性～酸性領域のスポットは1次元方向のシャープさに劣る。

4. 2次元も等pH電気泳動であるが、SDSを使用しない。

2次元は16%ゲルの分子篩とpH 3.6におけるネットチャージによる泳動速度の違いによって蛋白分子を分離するが、SDSを使用しないため激しい変性を免れており、その後の機能解析に適する。

5. 泳動の前にゲル中のフリーラジカルを一掃し、蛋白修飾を阻止する。

全てのゲルに対して電荷をもったラジカル・スカベンジャーをプレランし、あらかじめフリーラジカルを除去することによって泳動中の蛋白分子がフリーラジカルに修飾されるのを防ぐ。

6. ゲル中の環境を還元的に保ち、システイン-システイン架橋を阻止する。

酸化的环境下で蛋白分子に発生するシステイン-システイン架橋を阻止するため、蛋白質を泳動させる際、電荷をもった還元剤を同時に泳動させ、ゲル中を高い還元的環境に保つ。

7. 複数のスポットに分裂しにくいいため、単一スポットから蛋白量を定量できる。

等電点法では複数の等電点にスポットが分裂するが、RFHR法ではこの分裂が起こりにくい。したがって、単一のスポットのデンストメトリーによって細胞中の各蛋白質の分子数を定量することが可能である。