

電気泳動用ゲルプレート

マルチゲルⅡミッド

【はじめに】

マルチゲルⅡミッドは、不連続緩衝液系のポリアクリルアミドゲル電気泳動法に準拠して調製したゲルプレートです。

ゲルは、サンプル処理方法及び泳動用バッファの選択により、Davisにより考案された Native PAGE によるタンパク質の分析、Laemmli により考案された SDS-PAGE による分析及び不連続電気泳動法による DNA の分析のいずれにも使用することができます。

【使用上の注意】

- ゲルプレートは冷蔵保存して下さい。**凍結するとゲルが破損しますので絶対に凍結させないで下さい。**
- プレートはガラス製です。取扱の際は手などを切らぬよう、十分ご注意ください。特に破損すると危険ですのでプレート上に物を置いたり、落としたりしないよう願います。
- 包装は泳動直前に開封して下さい。
- コームが抜きにくい時は、コーム周辺に泳動用バッファまたは精製水をかけてから少しずつコームをずらすようにして抜いて下さい。
- コームを抜き取った際にウェルがゆがんだ場合は、マイクロシリンジの先等で矯正して下さい。また、ウェルにゲルの薄膜ができていた場合は、口紙等で薄膜を取り除いて下さい。
- ゲルプレートが泳動槽に正しくセットされていないと、液もれやガラス板の破損を生ずる場合がありますので、正しくセットされているかチェックして下さい。
- ゲルをガラス板からはがす時、ゲルを傷つけたり破いたりしないように注意して下さい。
- サンプル中の塩濃度が極端に高い場合は泳動像に乱れを生ずることがありますので、透析等の処理をしてから電気泳動して下さい。

【特徴】

- レディメイドゲルですのでゲル作製の煩雑さから開放され、手間がかかりません。
- 分離の良いタンパク質、DNAの電気泳動像が得られます。
- 再現性の良いデータが得られます。
- Native PAGE, SDS-PAGE, DNA の分離分析いずれにも使用できます。

【適応】

スラブ型ポリアクリルアミドゲル電気泳動によるタンパク質及びDNAの分離・分析用。

【内容】

ゲルプレート:5枚入 (1プレート:17ウェル, 1ウェル (2D用))

ゲルサイズ:144(W)×145(L)×0.9(T)mm

プレートサイズ:160(W)×160(L)×5.1(T)mm

【使用法】

I. 使用器具

- メスシリンダー
- 泳動槽
- スタビライザー
- マイクロシリンジ
- ミクロスパーテル
- 染色用バット

注) 泳動槽は、別売りの専用水冷式電気泳動槽(カセット電気泳動槽「第一DPE-1616 (ミッド2連式)」が便利です。

II. 電気泳動条件

1. Native PAGE (Davis 法)

- ① サンプル処理液 (別売)
Davis 法^{*a}及びその変法
^{*a} 0.125 M トリス-塩酸 (PH 6.8), 30% グリセロール, 0.01% BPB
- ② 泳動バッファ (PH 8.4) (別売)
0.025 M トリス, 0.192 M グリシン
- ③ 泳動条件
15 mA 定電流 (約5時間)

2. SDS-PAGE (Laemmli 法)

- ① サンプル処理液 (別売)
Laemmli 法^{*b}及びその変法
^{*b} 0.125 M トリス-塩酸 (PH 6.8), 30% グリセロール, 4.3% SDS, 10% 2-メルカプトエタノール, 0.01% BPB
- ② 泳動用バッファ (PH 8.4) (別売)
0.025 M トリス, 0.192 M グリシン, 0.1% SDS
- ③ 泳動条件
30 mA 定電流 (約3時間)

3. DNA

- ① サンプル処理液
DNA 用^{*c}
^{*c} 20% グリセロール, 0.25% BPB, 0.25% キシレンシアノール FF, 分析目的によりバッファ, EDTA, ホルムアミド等を添加する。
- ② 泳動用バッファ (PH 8.4) (別売)
0.025 M トリス, 0.192 M グリシン
- ③ 泳動条件
15 mA 定電流 (約5時間)

III. 操作法

- ゲルプレートを袋から取り出し、コームを静かに抜き取ります。
- 泳動槽に泳動用バッファを注ぎ入れ、ゲルプレートを泳動槽にセットします。
- 陰極バッファ槽に泳動用バッファを満たします。(この時バッファのものがないことを確認して下さい。)
- ゲルプレートのウェルにマイクロシリンジでサンプルをアプライします。(最大アプライ量は、40 μ L ですが、30 μ L 以下のご使用をお勧めします。また、ゲル右端のウェルはマーカー用として少し狭くなっており最大 30 μ L アプライできますが 20 μ L 以下のご使用をお勧めします。)

- ゲル1枚当たり、Native PAGE の場合 15 mA, SDS-PAGE の場合 30 mA, DNA の場合 15 mA 定電流で泳動します。BPB がゲルプレートの下端から 0.5 cm 程度まで移動したとき、泳動を終了して下さい。
- バッファを捨ててから、ゲルプレートを泳動槽から取りはずします。
- スパーテルなどでガラス板対をはずしてゲルを取り出します。目的に応じて色素染色・銀染色やブロッティングを行って下さい。

【参考】

1. トラブルシューティング

トラブル	チェックポイント
1) 泳動中にガラスが割れる。	a) 電流が流れすぎていないか。 b) 上部バッファ槽に液があるか。 c) ゲルプレートが泳動槽に正しくセットされているか。
2) 泳動像が乱れる。	a) バッファもれがないか。 b) サンプル中の塩濃度が高すぎないか。 c) サンプルアプライ量は多すぎないか。 d) メルカプトエタノールの影響はないか。 ^{*d}

^{*d} SDS-PAGE において、メルカプトエタノールの入ったサンプルと入らないサンプルをとなりあったレーンで同時に泳動すると、バンドのゆがみを生ずることがあります。

【貯法】

2~10℃ 凍結不可

【使用期限】

外装に記載

【参考文献】

- Davis, B. J.: Ann. N. Y. Acad. Sci., 121, 404 (1964)
- Laemmli, U. K.: Nature, 227, 680 (1970)
- 高木ら: 蛋白質核酸酵素, 21, 811 (1976)
- “蛋白質・酵素の基礎実験法”, 堀尾武一, 山下仁平編, 南江堂 (1981)
- 五十嵐, 中山: 臨床検査, 26, 1508 (1982)
- “電気泳動便覧”, 電気泳動学会編 (1983)
- Linke, R. P.: Anal. Biochem., 141, 55 (1984)
- Irwin, D. et al.: Atherosclerosis, 53, 163 (1984)
- 門屋ら: 分析化学, 34, 151 (1985)
- 奥山ら: 生物物理化学, 29, 237 (1985)



コスモ・バイオ株式会社

〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル