

等電点電気泳動(IEF-PAGE)における泳動状況の指標として

メチルレッドを使用する方法

IEF-PAGE での電気泳動において、泳動状況を把握するインジケータとしてメチルレッド(pI : 3.8)を使用する方法をご紹介します。

メチルレッドを用いることによって、SDS-PAGE で使われる BPB のように、等電点電気泳動の状況が目で見えてわかるようになりました。

< 使用方法 >

10 ウェルの場合で、一つのウェルに 10ul の量をアプライする場合、1×のサンプルバッファでメチルレッドを 0.01%の濃度で使用します。

これはあくまで目安の量になります。(増減は、お客様の好みに合わせてください。)

アプライ量を多くする場合はメチルレッドの濃度を薄く、またアプライ量を少なくする場合はメチルレッドの濃度を増やします。

メチルレッドの濃度は泳動中に見えればいいので厳密でなくてもかまいません。また、メチルレッドは、泳動後の次の操作、のバッファ置換などでバッファ中に溶出されてゲルには残りません。

< 泳動時のメチルレッドの様子 >

泳動開始時には黄色くなっており、泳動をすすめて、ゲルの真ん中付近では赤みがかつたオレンジ(広がったバンドに見えます)になります。泳動の終わり頃にはメチルレッドはだんだん赤になり自身の pI に達します。

メチルレッドの pI のところでバンドはだんだん収束してゆきます。

標準的な泳動時間は開始から終了まで合計は約 150 分(弊社バッファキット使用時)です。

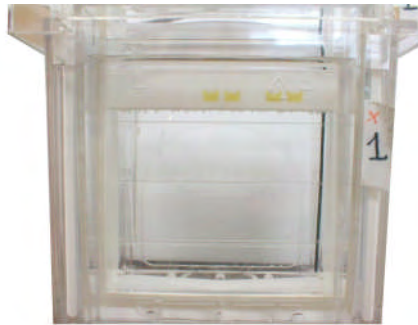
< サンプルの調整の例 > (メチルレッド、pI=3.8)

0.2%メチルレッド水溶液	25ul
サンプルバッファ(2×)	250ul
蒸留水	175ul
サンプル	50ul
トータル	500ul

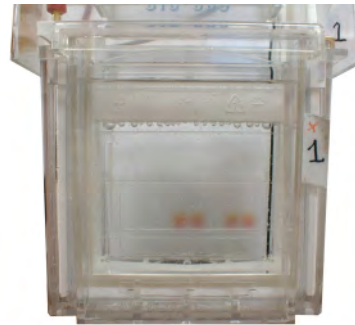
このサンプル溶液 10ul をアプライします。

サンプルの濃度はサンプルにもよりますが、一つのバンドあたり 0.5ug くらいに濃度を調整するとバンドが見やすくなります。もっと多くても泳動は可能ですがバンドあたり 1ug くらいまでがお勧めです。

< 開始から終了までのメチルレッドの様子 >



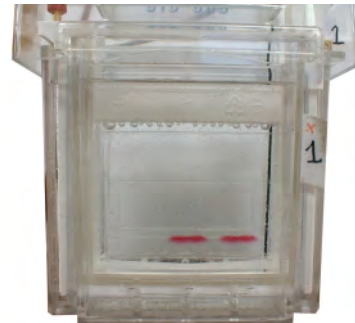
1st



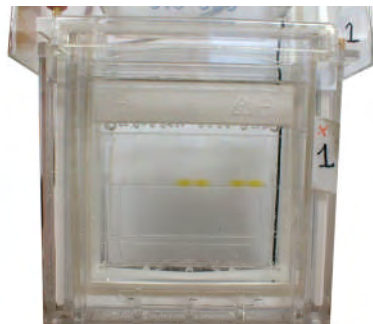
4th



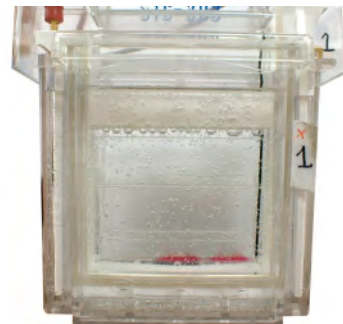
2nd



5th



3rd



End

右上の図へ

< 上記写真の泳動条件(IEF-PAGE pH3-10)>

100V-6.3mA	Start	500V-4.2mA	
↓ 60min		↓ 30min	
100V-2.1mA		500V-3.7mA	End
200V-4.2mA			
↓ 60min			
200V-1.5mA			

テフコ 株式会社

<http://www.tef.co.jp/>

TEL 042-676-3513

FAX 042-676-9150

〒192-0361

東京都八王子市越野5-5