

## Tris-BES バッファークिट

Jun 10. 2008

### プロトコール

1. 還元条件で泳動する場合は、1mlの Tris-BES サンプルバッファ (2X)、に対して0.2 mlのDTT還元剤(10X)を加えてから次の試料溶液を調製してください。DTTの代わりに0.05 mlの2-メルカプトエタノールを使用することもできます。還元剤入りTris-BESサンプルバッファ (2X)は必ず使用時に新しく調製してください。
2. 試料と還元剤入りTris-BES サンプルバッファ (2X)を(1:1)の割合で混合し、95°Cで約5分間加熱します。処理後の試料溶液は長時間保存することを避け、冷却後直ちに試験を開始するようにしてください。
3. Tris-BES 泳動バッファ (10X), 80mlに720mlの蒸留水を加えて混合し、Tris-BES 泳動バッファ (1X) 800mlを調製します。200mlのTris-BES 泳動バッファ (1X)に0.5mlの酸化防止剤(400X)を加えて混合し、適量(ゲルカセットのウェル上端より3-4mm上の位置まで)を上部(陰極)バッファ槽に注入します。酸化防止剤は泳動の直前に添加するようにしてください(非還元条件で泳動する場合は酸化防止剤は添加しないでください)。残りのTris-BES 泳動バッファ (1X), 約600 mlを下部(陽極)バッファ槽に注入します。下部バッファはゲルの温度が上昇するのを防ぐため、十分量を注入するようにしてください。
4. ウェルに試料溶液を添加します。タンパク質の負荷量は1mm 10wellのゲルを使用してクマシーブルー染色を行う場合、通常1バンド当たり0.1 - 0.5  $\mu$ gがシャープに分離できる目安です。1バンドの最大負荷量は約20  $\mu$ gです。
5. 下記の泳動条件に従って泳動を開始します。

### ゲル濃度 7.5%, 10%, 12.5%, 5-12%の場合

電 流	:	60mA 定電流 / 1mm厚ゲル-1枚
予想 電圧	:	開始時 160-220V 終了時 250-290V
泳動時間	:	約 37 分

注意 1) 予想電圧は泳動バッファの温度により変化します。上記は泳動開始時のバッファ温度が 18 - 23 °Cの場合の還元条件の電圧値です。

注意 2) 非還元条件(酸化防止剤を使用しない)の場合は 45mA 定電流 / 1mm厚ゲル-1枚で泳動を開始してください。泳動バッファに酸化防止剤が含まれていない場合、60mAで泳動すると電圧が高くなり過ぎるので、注意してください。

### ゲル濃度 14%, 5-14%, 10-16%の場合

電 流	:	40mA 定電流 / 1mm厚ゲル-1枚
予想 電圧	:	開始時 100-165V 終了時 200-260V
泳動時間	:	約 55 分

注意 1) 予想電圧は泳動バッファの温度により変化します。上記は泳動開始時のバッファ温度が 18 - 23 °C の場合の還元条件の電圧値です。

注意 2) 非還元条件 (酸化防止剤を使用しない) の場合は 30mA 定電流 / 1mm厚ゲル-1枚で泳動を開始してください。泳動バッファに酸化防止剤が含まれていない場合、40mA で泳動すると電圧が高くなり過ぎるので、注意してください。

6. ブロームフェノールブルー (BPB) がゲル下端付近まで移動したら電源を切り、泳動を終了します。使用後の泳動バッファ (上部バッファと下部バッファ) (1X) は捨てずに、混合して保存し、次の下部 (陽極) バッファ (1X) として再使用します (2回以上の再使用は避けてください)。ただし、上部 (陰極) バッファは使用のつど新しく調製することが必要です。

7. 泳動終了後、ゲルをカセットから取り出し、必要に応じて、固定、染色、ブロットニング等の操作を行います。Q-PAGE のブロットニングには一般的な Tris-Glycine 系の SDS-PAGE と同様のプロトコルを適用することができます。

## 品名

Cat.No. 06-381	Tris-BES バッファキット (次の試薬が各 1 本含まれています)	
Cat.No. 06-383	Tris-BES サンプルバッファ (2X), 20ml, 2 本	4 °C 保存
Cat.No. 06-384	Tris-BES SDS 泳動バッファ (10X), 500ml, 1 本	室温保存
Cat.No. 06-385	DTT 還元剤 (10X) 1ml	-20 °C 保存
Cat.No. 06-387	酸化防止剤 (400X) 10ml	4 °C 保存

\*注意 : DTT 還元剤 (10X) は冷蔵便で出荷されますが、到着後は冷凍 (-20 °C) で保存してください。

## 用途 Q-PAGE の電気泳動用

## 組成

Tris-BES サンプルバッファ (1X)		Tris-BES 泳動バッファ (1X)	
Tris-HCl, pH8.4	200mM	Tris base	30mM
Glycerol	12%	BES	30mM
SDS	2%	SDS	0.1%
BPB	0.005%		

  

DTT 還元剤 (1X)		酸化防止剤 (1X)	
DTT (ジチオスレイトール)	0.06M	Sodium Hydrogen Sulfite	0.05 %
		N,N-Dimethylformamide	0.025 %

注意 : 酸化防止剤に添加する N,N-Dimethylformamide は引火性、有害性物質です。取扱いには十分注意してください。

## テフコ株式会社

192-361 東京都八王子市越野 5-5  
TEL: 042-676-3513  
FAX: 042-676-9150