

## SDS ポリアクリルアミドゲルの作製方法

( Laemmli 法 )

### 保存溶液の調製

1. アクリルアミド溶液、30 %T, 2.67%C.  
アクリルアミド 29.2 g  
BIS(注-1) 0.8 g  
蒸留水に溶解し、全量 100 ml とします。
2. 分離ゲル用緩衝液、1.5M トリス-塩酸、PH8.8  
トリス(注-2) 18.15 g  
約80mlの蒸留水に溶解し、塩酸でPHを8.8 に調整し、蒸留水で全量100 ml とします。
3. SDS 溶液、10 %  
SDS 10.0 g  
蒸留水に溶解し、全量 100 ml とします。
4. 濃縮ゲル用緩衝液、0.5 M トリス-塩酸、PH6.8  
トリス 6.06 g  
約80mlの蒸留水に溶解し、塩酸でPHを6.8 に調整し、蒸留水で全量100 ml とします。
5. 過硫酸アンモニウム溶液、10 %  
過硫酸アンモニウム 1.0 g  
10 ml の蒸留水に溶解します ( 用時調製 )

調製溶液は4 で保存します。アクリルアミド溶液は褐色ガラス瓶中で数カ月 保存することができます。その他の溶液 ( 過硫酸アンモニウム溶液を除く ) も浮遊物や微生物等の発生がない限りは保存しておいたものを使用することが可能です。

注-1 : N,Nメチレン-ビスアクリルアミド

注-2 : トリス ( ヒドロキシ ) メチルアミノメタン

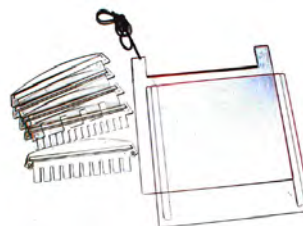
### ゲルカセットの準備 ( T E F C O エンプティー カセット又はガラスプレート セット )

1. T E F C O プラスチックカセットを御使用の場合、  
ゲル溶液が漏れないようにカセットの下部バッファー接触口にビニールテープ ( 電気絶縁用 ) を貼り付け、実験台の上に垂直に立てます。
2. T E F C O ガラスプレート セットを御使用の場合、  
スペーサー付ガラス板、シリコンゴムガスケット、耳付ガラス板を組み立て ( 注-3 ) 四隅をクランプ等でしっかりと止め、実験台の上に垂直に立てます。

注-3 : 耳付ガラス板は上部バッファー接触口切込みの深い方が内側になるように組み合わせます。



TEFCOプラスチックカセット



TEFCOガラスプレートセット

### 分離ゲルの調製

1. 分離ゲル溶液を調製します ( 表-1 は1mm厚ミニゲルを4枚作製する場合の調製例 )

表-1

組成	10%分離ゲル	12%分離ゲル	16%分離ゲル
30%アクリルアミド <sup>®</sup> 溶液	8.4 ml	10.0 ml	13.4 ml
分離ゲル用緩衝液	6.25 ml	6.25 ml	6.25 ml
SDS溶液	0.25 ml	0.25 ml	0.25 ml
蒸留水	9.97 ml	8.37 ml	4.97 ml
過硫酸アンモニウム(注-4)	125 µl	125 µl	125 µl
TEMED(注-4)	13 µl	13 µl	13 µl

注-4：30%アクリルアミド溶液、分離ゲル用緩衝液、SDS溶液、及び蒸留水を混合しTEFCOガラスプレートセット後、減圧脱気を行います。過硫酸アンモニウム及びTEMED（N,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミン）を添加し、よく攪拌して速やかにゲルセットに注入します。ゲルの重合速度は過硫酸アンモニウムとTEMEDの濃度、室温により影響を受けます。室温が低く（20℃以下）、重合速度が遅い場合は過硫酸アンモニウムとTEMEDの量を増して重合速度を調節します。

2. 調製した分離ゲル溶液をゲルカセットの上端から約2cmのところまで注入したら、次に上端まで蒸留水を注入します。このとき分離ゲル溶液と蒸留水が混合しないよう静かに重層します。
3. 約15分間放置して分離ゲルを重合させます。分離ゲル溶液と蒸留水の間に顕かな境界面が見えてきたら重合は完了です（ビーカー等に残った未使用のゲルによっても重合の進行を知ることができます）。

## 濃縮ゲルの調製

1. 表-2に従って濃縮ゲル溶液を調製します。

表-2

組成	4%濃縮ゲル溶液
30%アクリルアミド <sup>®</sup> 溶液	1.7 ml
濃縮ゲル用緩衝液	3.1 ml
SDS溶液	0.13 ml
蒸留水	7.7 ml
過硫酸アンモニウム(注-4)	63 µl
TEMED(注-4)	13 µl

2. 分離ゲルの調製-2で重層した蒸留水を捨て、少量の濃縮ゲル溶液を注入して捨て、残った蒸留水を除去します。
3. ゲルカセットの上端まで濃縮ゲル溶液を注入した後、気泡を封じ込めないよう注意しながらコームを挿入します。
4. 約15分間放置して濃縮ゲルを重合させます。ゲルカセットを少し傾けてみることで濃縮ゲル溶液の重合状態を知ることができます。

## 泳動

TEFCO泳動槽取扱説明書に従って泳動を行います。カセットを泳動槽にセットする前に、プラスチックカセットの場合はコームを抜いてビニールテープを剥がします。ガラスプレートの場合はコーム、クランプ及びシリコンゴムガasketを取り外し、ガラスプレート底部の下部バッファer接触部にシリンジ等で下部バッファer液を満たしておき、気泡が入るのを防止してください。

## テフコ株式会社

〒192-03 東京都八王子市越野 5-5  
 TEL 0426-76-3513  
 FAX 0426-76-9150  
<http://www.tef.co.jp/>