

IEF バッファースキット

プロトコール

1. 試料溶液

試料と IEF サンプルバッファース (2X) を等量 (1:1) 混合します。

2. 上部泳動バッファース液

IEF CATHODE (上部) バッファース (10X) を蒸留水で 10 倍に希釈し、使用直前に 10 分間減圧脱気または不活性ガス (窒素またはアルゴン) で約 1 分間のガス置換 (バブリング) を行い、上部バッファース槽に適量を注入します^{注-1}。

注-1: テフコ泳動槽 STC-808 の場合、上部バッファース液はゲルカセットの切れ込みの 2-3mm 上の位置まで (約 180ml) 注入します。

3. 下部泳動バッファース液

IEF ANODE (下部) バッファース (50X) を蒸留水で 50 倍に希釈し、下部バッファース槽に適量を注入します^{注-2}。

注-2: テフコ泳動槽 STC-808 の場合、下部バッファース液は約 500ml 注入します。

4. ウェルに試料溶液を添加します。

5. 下記の条件に従って泳動を行います。

泳動条件

| | | | |
|------|---|----------|----------------------|
| 電圧 | : | 100V 定電圧 | 60分 |
| | | 200V 定電圧 | 60分 |
| | | 500V 定電圧 | 30分 |
| 予想電流 | : | 開始時 | 6 mA / 1.0mm 厚ゲル、1 枚 |
| | | 終了時 | 2 mA / 1.0mm 厚ゲル、1 枚 |
| 泳動時間 | : | | 150分 |

6. 泳動が終了したら、ゲルをカセットから取り出し、30 60分間固定^{注-3}を行います。この操作はタンパク質の固定と同時にゲル中のアンフォライトを除去する操作を兼ねています、この操作が不十分であると、クマシー染色のバックグラウンドが高い結果となります。

7. ゲルを染色液^{注-4}に浸して5分間振とうします。脱色液^{注-5}に移して振とうし、バックグラウンドの脱色を行います。

注-3 固定液: スルホサリチル酸 17.3g, TCA 57.3g を 500ml の蒸留水に溶解します。

注-4 染色液: 0.1% クマシーブルー-G250 (または R250), 30% エタノール, 10% 酢酸

注-5 脱色液: 10% エタノール, 7.5% 酢酸

用途 IEF-PAGE の泳動**品名**

| | | <u>Cat.No.</u> |
|--|------|----------------|
| IEF PH3-10 バッファー キット(06-333,334,335 各1本) | | 06-331 |
| IEF PH3-10 サンプル バッファー(2X),25ml 2本 | 4 保存 | 06-333 |
| IEF PH3-10 CATHODE バッファー(10X), 200ml | 4 保存 | 06-334 |
| IEF ANODE バッファー(50X), 100ml | 室温保存 | 06-335 |
| | | |
| IEF PH3-7 バッファー キット(06-343,344,335 各1本) | | 06-341 |
| IEF PH3-7 サンプル バッファー(2X),25ml | 4 保存 | 06-343 |
| IEF PH3-7 CATHODE バッファー(10X), 200ml | 4 保存 | 06-344 |
| IEF ANODE バッファー(50X), 100ml | 室温保存 | 06-335 |

組成

| | |
|---|--|
| IEF PH3-10 SAMPLE BUFFER (1X) Arginine(free base) 20mM Lysine(free base) 20mM Glycerol 15% | IEF PH3-7 SAMPLE BUFFER (1X) Lysine(free base) 40mM Glycerol 15% |
| IEF PH3-10 CATHODE BUFFER (1X) Arginine(free base) 20mM Lysine(free base) 20mM | IEF PH3-7 CATHODE BUFFER (1X) Lysine(free base) 40mM |
| IEF PH3-10 ANODE BUFFER (1X) Phosphoric acid 7mM | IEF PH3-7 ANODE BUFFER (1X) Same as pH3-10 ANODE BUFFER |

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/>