

# 電気泳動装置

STCシリーズ

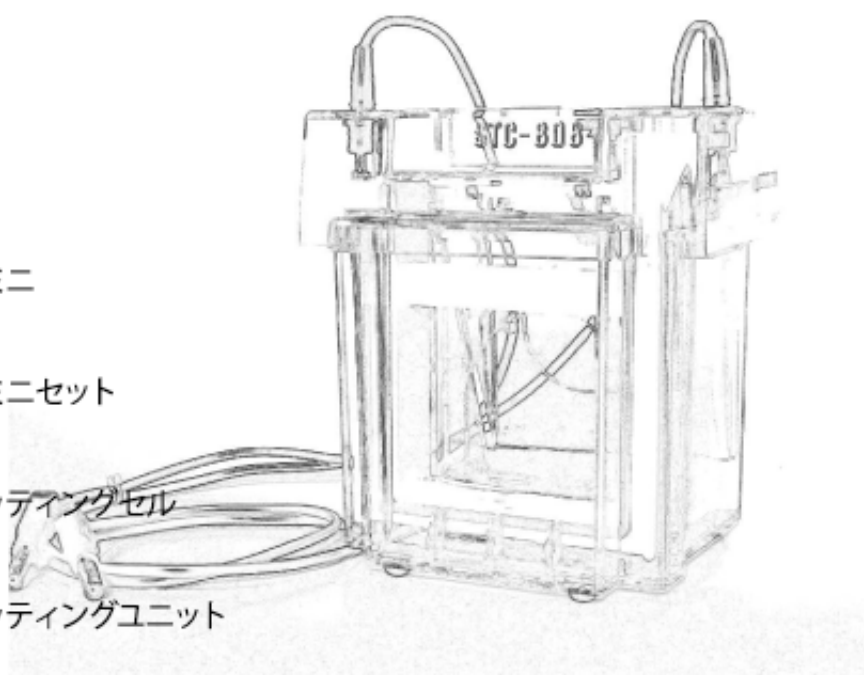
## 総合取扱説明書

セイフティーセルミニ  
Model STC-808

セイフティーセルミニセット  
Model STC-888

セイフティープロテイングセル  
Model STB-8

セイフティープロテイングユニット  
Model STB-88

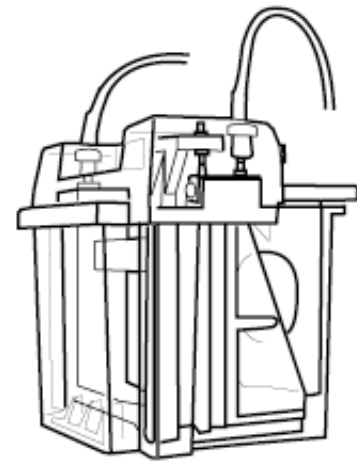
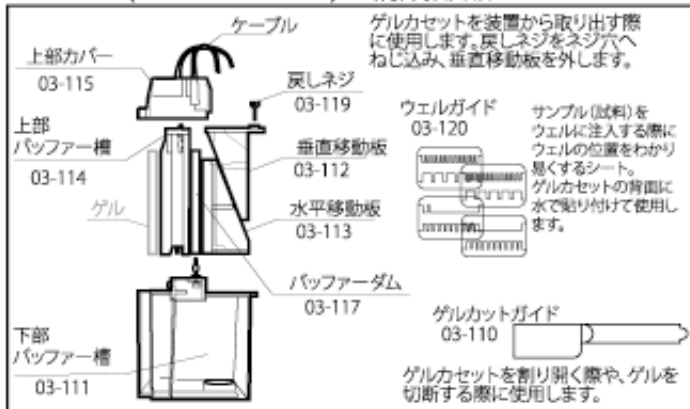


## もくじ

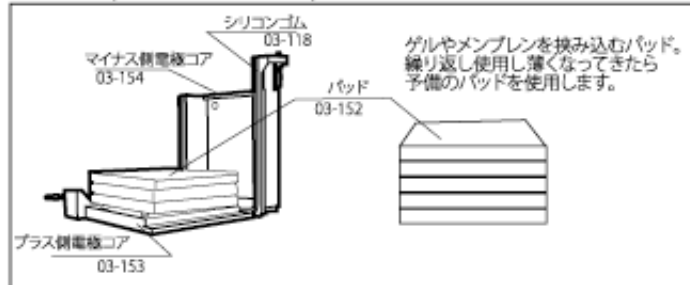
<b>1</b>	泳動槽の構成部品と組み立て.....	p 2
<b>2 A</b>	電気泳動の方法 (PAGE mini) .....	p 3
<b>A1</b>	プリキャストゲルの選択 .....	p 3
	カセットとコームの仕様	
	各種ゲルの特長	
	ゲルの種類と分画範囲	
<b>A2</b>	試薬の準備 .....	p 5
	試薬の調整と泳動条件	
<b>A3</b>	電気泳動の手順.....	p 7
	準備する装置	
	操作手順	
<b>3</b>	標準的な染色方法.....	p 9
	準備する試薬	
	操作手順	
<b>4</b>	コロイドCBB染色法.....	p 10
	コロイドCBB染色キットについて	
	特長	
	使用方法1.タンパク質分析用ゲルを使用した場合	
	操作手順	
	使用方法2.等電点分析用ゲルを使用した場合	
	操作手順	
	染色操作に便利なゲルスコーパー	
<b>5</b>	ゲルの乾燥と保存.....	p 12
	準備する器具と試薬(ミニゲルを乾燥する場合)	
	操作手順	
	乾燥中のゲルのひび割れや白濁の原因	
	乾燥後のゲルの保存	
<b>6</b>	二次元電気泳動法.....	p 14
	準備する器具と試薬	
	一次元目の泳動	
	二次元目の泳動	
<b>7</b>	ミニトランスファーブロットティングの方法.....	p 16
	準備する装置	
	準備する試薬とブロットティング条件	
	操作手順	
<b>8</b>	Non Alcohol ブロットティングの方法.....	p 18
	準備する試薬	
	操作手順	

# 1 泳動槽の構成部品と組み立て

## STC-808(Cat No.03-101)の構成部品



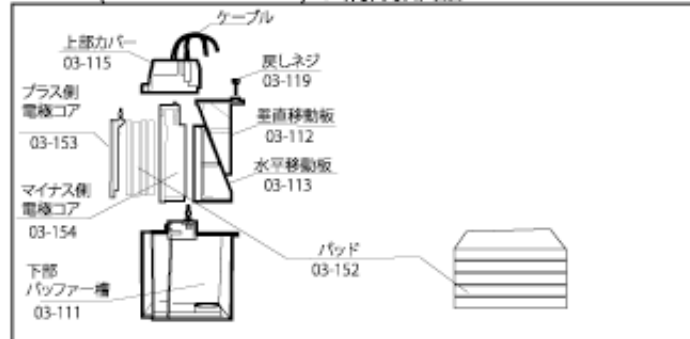
## STB-88(Cat No.03-151)の構成部品



カタログ番号 03-101  
セイフティーセル・ミニ  
[STC-808]



## STB-8(Cat No.03-150)の構成部品



カタログ番号 03-151  
セイフティープロットング  
ユニット[STB-88]

構成部品一覧	電気泳動槽 STC-808 03-101	プロットングユニット STB-88 03-151	プロットング装置 STB-8 03-150	電気泳動装置一式 STC-888 03-102
ゲルカットナイフ 03-110	●			●
下部バッファ槽 03-111	●		●	●
垂直移動板 03-112	●		●	●
水平移動板 03-113	●		●	●
上部バッファ槽 03-114	●			●
上部カバー 03-115	●		●	●
バッファードラム 03-117	●			●
戻しネジ 03-119	●		●	●
ウェルガイド 03-120	●			●
パッド 03-152		●	●	●
プラス側電極コア 03-153		●	●	●
マイナス側電極コア 03-154		●	●	●

消耗品 上部バッファ槽用シリコンゴム 2mm幅 (2本) Cat No.03-121  
3mm幅 (2本) Cat No.03-116  
マイナス側電極コア用シリコンゴム 3mm幅 (1本) Cat No.03-118

1

2

3

4

5

6

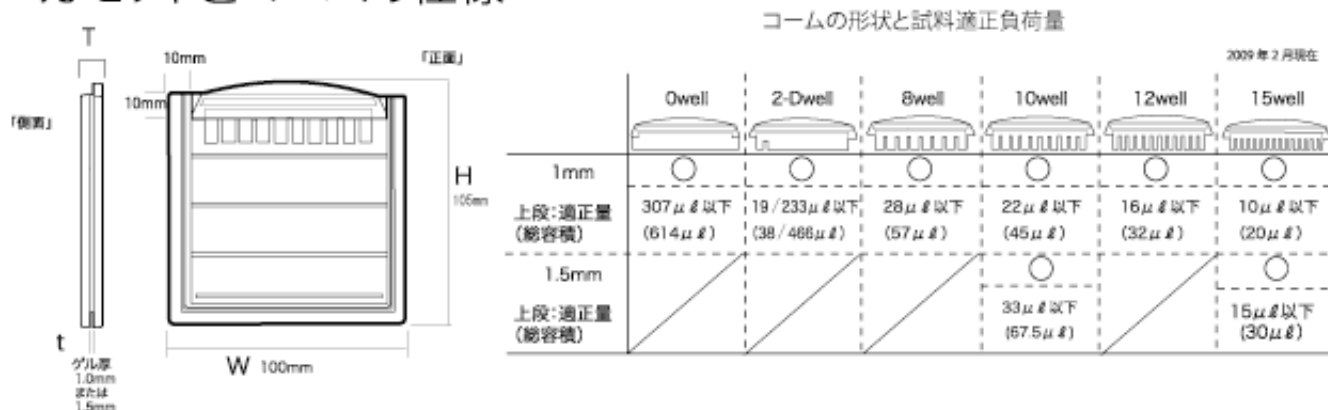
7

8

## 2 A 電気泳動の方法(PAGE mini)

### 2 A1 プレキャストゲルの選択

#### カセットとコームの仕様



#### 各種ゲルの特徴

##### タンパク分析用

- SDS-PAGE mini (トリス-塩酸バッファー系)  
Laemmliの系 \*1 に準じて調整した ポリアクリルアミドゲルです。  
SDSの存在により、タンパク質が分子量に基づいて分離されます。
- NON-SDS-PAGE mini (トリス-塩酸バッファー系)  
Laemmliの系よりSDSを除いて 調整した ポリアクリルアミドゲルです。  
Nativeなタンパク質の泳動に適しています。
- Peptide-PAGE mini (トリス-塩酸バッファー系)  
Schagger and von Jagowの方法 \*2 に準じ、ペプチドや低タンパク  
質の分離に適する様に調整されたSDS-ポリアクリルアミドゲルです。  
ゲル濃度16%の場合の最適分画範囲は分子量3,000~100,000です。
- IEF-PAGE mini  
非変性系の等電点電気泳動用ポリアクリルアミドゲルです。
- Zymogram-PAGE mini (トリス-塩酸バッファー系)  
0.1%のゼラチンを加えて製造した10%SDS-PAGEです。  
コラーゲナーゼ等のプロテアーゼの検出に使用することができます。

##### 核酸分析用

- TBE-PAGE mini (トリス-ホウ酸-EDTA/バッファー系)  
DNA泳動用のポリアクリルアミドゲルです。

\*1 Laemmli,UK.,Nature 227:680(1970)

\*2 Schagger,H.,& von Jagow,G.,Anal.Biochem.166:368-379(1987)

## ゲルの種類と分画範囲

### SDS-PAGE mini (タンパク質分析用)

[カタログNo.]

ゲル濃度 (T%)	ゲル厚 (mm)	1mm				1.5mm	
	検体数(Well) 最適分画範囲(Da)	10well	12well	15well	2-D	10well	15well
4%	150,000 - 350,000	01-055-10	01-050K-10	01-052-10	01-056-10	01-058-10	01-053-10
6%	60,000 - 250,000	01-065-10	01-060K-10	01-062-10	01-066-10	01-068-10	01-063-10
8%	40,000 - 180,000	01-015-10	01-010K-10	01-012-10	01-016-10	01-018-10	01-013-10
10%	30,000 - 130,000	01-075-10	01-070K-10	01-072-10	01-076-10	01-078-10	01-073-10
12%	23,000 - 100,000	01-005-10	01-000K-10	01-002-10	01-006-10	01-008-10	01-003-10
14%	18,000 - 80,000	01-085-10	01-080K-10	01-082-10	01-086-10	01-088-10	01-083-10
16%	14,000 - 60,000	01-095-10	01-090K-10	01-092-10	01-096-10	01-098-10	01-093-10
18%	11,000 - 50,000	01-105-10	01-100K-10	01-102-10	01-106-10	01-108-10	01-103-10
20%	8,000 - 40,000	01-115-10	01-110K-10	01-112-10	01-116-10	01-118-10	01-113-10
4-12%	35,000 - 300,000	01-035-10	01-030K-10	01-032-10	01-036-10	01-038-10	01-033-10
4-20%	5,000 - 300,000	01-025-10	01-020K-10	01-022-10	01-026-10	01-028-10	01-023-10
8-16%	10,000 - 250,000	01-045-10	01-040K-10	01-042-10	01-046-10	01-048-10	01-043-10
10-25%	5,000 - 200,000	01-125-10	01-120K-10	01-122-10	01-126-10	01-128-10	01-123-10
15%	16,000 - 70,000		01-130K-10				

### NON-SDS-PAGE mini

(タンパク質分析用)

[カタログNo.]

ゲル濃度 (T%)	ゲル厚 (mm)	1mm				1.5mm	
	検体数(Well)	10well	12well	15well	2-D	10well	15well
4%		04-055-10	04-050K-10	04-052-10	04-056-10	04-058-10	04-053-10
6%		04-065-10	04-060K-10	04-062-10	04-066-10	04-068-10	04-063-10
8%		04-015-10	04-010K-10	04-012-10	04-016-10	04-018-10	04-013-10
10%		04-075-10	04-070K-10	04-072-10	04-076-10	04-078-10	04-073-10
12%		04-005-10	04-000K-10	04-002-10	04-006-10	04-008-10	04-003-10
14%		04-085-10	04-080K-10	04-082-10	04-086-10	04-088-10	04-083-10
16%		04-095-10	04-090K-10	04-092-10	04-096-10	04-098-10	04-093-10
18%		04-105-10	04-100K-10	04-102-10	04-106-10	04-108-10	04-103-10
20%		04-115-10	04-110K-10	04-112-10	04-116-10	04-118-10	04-113-10
4-12%		04-035-10	04-030K-10	04-032-10	04-036-10	04-038-10	04-033-10
4-20%		04-025-10	04-020K-10	04-022-10	04-026-10	04-028-10	04-023-10
8-16%		04-045-10	04-040K-10	04-042-10	04-046-10	04-048-10	04-043-10
10-25%		04-125-10	04-120K-10	04-122-10	04-126-10	04-128-10	04-123-10

### TBE-PAGE mini

(核酸泳動用)

[カタログNo.]

ゲル濃度(T%)	ゲル厚 (mm)	1mm
	検体数(Well) 最適分画範囲(bp)	12well
6%	80-700	BB-060K
12%	40-200	BB-120K
4-20%	30-1,000	BB-200K

### Peptide-PAGE mini

(ペプチド分析用)

[カタログNo.]

ゲル濃度(T%)	ゲル厚 (mm)	1mm
	検体数(Well) 最適分画範囲(Da)	12well
10%	5,000-80,000	TB-100K
16%	2,500-50,000	TB-160K

### IEF-PAGE mini

(等電点電気泳動用)

[カタログNo.]

pH Range	ゲル厚 (mm)	1mm
	検体数(Well) 最適分画範囲(pI)	10well
pH3-10	3.5-8.5	04-655A
pH3-7	3.5-7.0	04-655B

### Zymogram-PAGE mini

(プロテアーゼ分析用)

[カタログNo.]

ゲル濃度(T%)	ゲル厚 (mm)	1mm
	検体数(Well) 最適分画範囲(Da)	10well
10%	30,000-130,000	01-775

## 2 A2 試薬の準備 (PAGE mini)

### 2 A2 1 試薬の調製と泳動条件

一般的なバッファー組成

泳動を定電流で行う場合、1.5mm厚ゲルは1mm厚ゲルの1.5倍の電流値に設定します。同様に、ゲル2枚を泳動する場合は、1枚の場合の2倍に設定します。定電圧で泳動する場合はゲル厚、枚数が変化しても電圧は一定にします。(電流はゲル厚、枚数に応じて変化します)

#### [A] SDS-PAGE mini (Laemmli系)

サンプルバッファー	泳動バッファー	泳動条件 -1 (ミニゲル)
0.5M Tris-HCl (pH6.8) 1.25 ml グリセロール 1.0 ml 10%SDS 2.0 ml 2-メルカプトエタノール 0.5 ml 0.1%BPB 0.25 ml 蒸留水で10mlにする。 *サンプルをサンプルバッファーで5倍以上に希釈後、沸騰水中で約5分加熱。*非還元状態で泳動する場合は2-MEを除く。	トリス 3.0 g グリシン 14.4 g SDS 1.0 g 蒸留水で1,000mlにする。	1.0mm厚1枚 -18mA定電流 1.5mm厚1枚 -27mA定電流 泳動時間:70-120分 予想電圧: Start 70-100 V End 160-210 V
		泳動条件 -2 (ミニゲル)
		125V 定電圧 泳動時間:70-120分 予想電流(1mm厚1枚) Start 30-40 mA End 8-12 mA

#### [B] NON-SDS-PAGE mini (Native系)

サンプルバッファー	泳動バッファー	泳動条件 -1 (ミニゲル)
グリセロール 1.0 ml 0.1%BPB 0.25 ml 蒸留水で10mlにする。 *サンプルをサンプルバッファーで5倍以上に希釈する。	トリス 3.0 g グリシン 14.4 g 蒸留水で1,000mlにする。	1.0mm厚1枚 -18mA定電流 1.5mm厚1枚 -27mA定電流 泳動時間:約70-120分 予想電圧: Start 70-100 V End 160-210 V
		泳動条件 -2 (ミニゲル)
		125V 定電圧 泳動時間:90-120分 予想電流(1mm厚1枚) Start 30-40 mA End 8-12 mA

#### [C] Peptide-PAGE mini (Tricine系)

サンプルバッファー	泳動バッファー	泳動条件 (ミニゲル)
SDS 0.4 g 0.5M Tris-HCl (pH6.8) 1.0 ml グリセロール 1.2 ml 2-メルカプトエタノール 0.2 ml 0.05%BPB 0.3 ml 蒸留水で10mlにする。 *サンプルをサンプルバッファーで5倍以上に希釈後、沸騰水中で約5分加熱。	上部バッファー (陰極側) トリス 12.1 g トリシン 17.9 g SDS 1.0 g 蒸留水で1,000mlにする。 下部バッファー (陽極側) トリス 24.2 g 蒸留水で500mlにし溶解後、HClでpH8.9に合わせる。 次に蒸留水で1,000mlにする。	1.0mm厚-125V定電圧 90mAリミッター 泳動時間:50-60分 予想電流(1mm厚1枚) Start 80-90 mA End 50-70 mA

トリス :2-Amino-2hydroxymethyl-1,3-propanediol

トリシン:N-[Tris(hydroxymethyl)methyl]-glycine

[D] IEF-PAGE mini (pH3-10の場合)

サンプルバッファー		泳動バッファー	泳動条件(ミニゲル)
Servalyt pH3-10 グリセロール	0.2 ml 3.0 ml	上部バッファー(陰極側) 0.05 M NaOH 下部バッファー(陽極側) 0.01 M リン酸	予想電流(1mm厚1枚): 100V-30分 Start 6 mA End 3 mA 200V-30分 Start 4 mA End 2 mA 500V-60分 Start 4 mA End 2 mA 泳動時間:120分
蒸留水で10 mlにする。 *pH3-7のゲルを使用する場合は ServalytのレンジをpH3-7にする。  *サンプルをサンプルバッファー で5倍以上に希釈する。		*1% CAPSをサンプルウェル中 に満たした後、サンプルアプライ。 次に泳動バッファーを注ぐ。	

[E] TBE-PAGE mini (TBE系)

サンプルバッファー		泳動バッファー	泳動条件-1(ミニゲル)
0.1%BPB 0.5%キシレンシアノール グリセロール	2.0 ml 2.0 ml 5.0 ml	トリス 10.78 g ホウ酸 5.5 g EDTA 0.74 g	1mm厚1枚-20mA定電流 泳動時間:40-50分 予想電圧: Start 160-200 V End 200-260 V
蒸留水で10mlにする。  *サンプルに1/10量のサンプル バッファーを加える。		蒸留水で1,000mlにする。	
		泳動条件-2(ミニゲル)	
		180V 定電圧 泳動時間:30-50分 予想電流(1mm厚1枚): Start 18-25 mA End 14-18 mA	

**濃縮タイプのTEFCOバッファーを使用する場合**

バッファーキット商品に添付されている取扱説明書をご参照ください。  
または、TEFCOホームページより「バッファー組成と泳動条件」をご参照ください。  
<http://www.tef.co.jp/>

Tris-Glycine SDS Buffer Kit Cat No.06-361  
(SDS-PAGE mini, Laemmli SDS-PAGE mini)

Tris-BES Buffer Kit Cat No. 06-381 (Q-PAGE mini)

Tricine Buffer Kit Cat No.06-321 (Peptide-PAGE mini)

Zymogram Buffer Kit Cat No.06-351(Zymogram-PAGE mini)

IEF pH3-10(pH3-7) Buffer Kit Cat No. 06-331, 06-341 (IEF-PAGE mini)

TBE Buffer Kit Cat No.06-311 (TBE-PAGE mini)

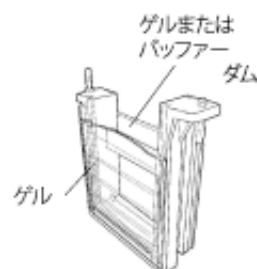
## 2 A3 電気泳動の手順 (PAGE mini)

### 2 A3 1 準備する装置

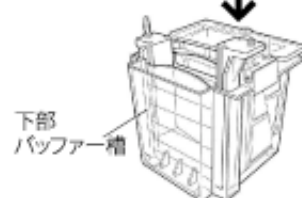
- 1.電気泳動槽 セイフティーセルミニSTC-808(カタログNo.03-101)
- 2.電源 DC500V 200mA以上の性能を持つ電源を用意して下さい。

### 2 A3 2 操作手順

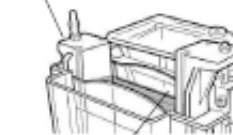
- 1.プリキャストゲルを包装袋から取り出し、カセット外側のビニールテープを剥ぎ取ります。
- 2.コームを静かに押し上げて抜き取ります。ウェルが乱れた場合は、マイクロシリンジやサンプルロード用チップの先等で整えて下さい。
- 3.プリキャストゲルとバッファードラムで上部バッファーク槽を挟み、電気泳動槽の下部バッファーク槽内にセットします。この時プリキャストゲルはコームを抜いた側が内側を向くようにセットして下さい。  
また、2枚同時泳動の場合はバッファードラムを使用せず、2枚のプリキャストゲルで上部バッファーク槽を挟みます。あらかじめプリキャストゲルの外側に水でウェルガイドを貼っておくとウェルの位置の目安となり、試料注入時に役立ちます。
- 4.水平移動板と垂直移動板でゲルとバッファーク槽を固定します。垂直移動板をしっかりと押し込んで下さい。このとき、垂直移動板の戻しネジが締まっていると正しくセットする事ができませんので注意して下さい。
- 5.上部バッファーク槽内に上部用に調製した泳動バッファーク液(2 A2 1参照)を注入します。この時、泳動バッファーク液はプリキャストゲルのウェルの上端より3~4mm上まで(約180ml)注入して下さい。  
同様に、下部バッファーク槽内には下部用に調整した泳動バッファーク液(2 A2 1参照) 200ml以上を注ぎ入れます。ウェルに気泡が入った場合には、マイクロシリンジなどで取り除いて下さい。又上部バッファーク槽と下部バッファーク槽の間に気泡が入るとプラス側白金線からの電流が偏り、泳動結果に歪みを生じます、泳動槽全体をゆすり気泡を除去して下さい。(特に等電点電気泳動の場合に注意)



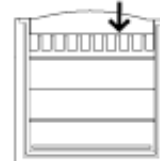
垂直移動板を押し込み  
ゲルを固定する



上部/バッファーク槽



泳動バッファーク液はウェルの  
上端より3~4mm上まで  
注入します。





6.ゲルのウェルの中にサンプル( **2** **A** **2** **1**参照)をマイクロピペットまたはマイクロシリンジで注入します。

7.泳動槽に上部カバーをします。カバーが正しく取り付けられているか確認して下さい。

8.上部カバーに取り付けられているケーブル(赤がプラス側、黒がマイナス側)を電源に接続します。

名称	コーム形状	サンプル運正負荷量 (1ウェル当)		ウェルの総容量 (1ウェル当)	
		1.0mm	1.5mm	1.0mm	1.5mm
2-Dwell		233μℓ以下 マーカー-19μℓ	-	466μℓ マーカー-38μℓ	-
10well		22μℓ以下	33μℓ以下	45μℓ	67μℓ
12well		16μℓ以下	-	32μℓ	-
15well		10μℓ以下	15μℓ以下	20μℓ	30μℓ

2009/3改訂

9.電源のスイッチを入れ、所定の電氣的条件( **2** **A** **2** **1** 参照)にセットし、泳動を開始します。

10.泳動が終了(SDS-PAGEの場合、BPB色素がゲル下端付近まで移動)したら電源のスイッチを切り上部カバーを外します。

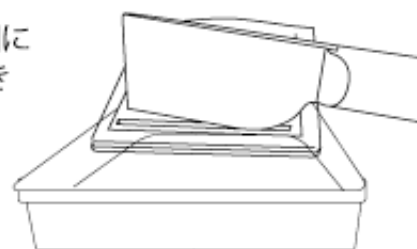
11.戻しネジを垂直移動板のネジ穴へ差し込み、時計方向に回し垂直移動板を泳動槽から取り外します。または、垂直移動板を横方向へスライドさせるように力を加えることによって取り外す事もできます。

12.プリキャストゲルを泳動槽から取り出し、ゲルのウェル内を水で軽く洗浄しておきます。ゲルカットガイドをゲルカセット側部の溝に差し込み、ねじ開けるように左右下部3辺の溶着部を剥がします。カセットのプラスチックプレートを丁寧に開きます。



13.ゲルはカセットのプレート面に付着してきます。内側のプレートについている場合には、ゲルカットガイドをカセットとゲルの隙間に差し込み、裂けないように注意してはがします。(ゲルとプレート面の隙間に水分を流し入れるとゲルが破れるのを防ぐことができます)ゲルが外側のプレートについている場合にはゲルカットガイドを右図のように用いてゲルをはがします。染色または、固定する場合は、この操作を染色液または固定液を入れた容器の上で行うと、ゲルを直接液中に移す事ができます。

ゲルカットガイドを押し込み  
ゲルをはがす



取り出したゲルの厚い部分(下部/バッファ接触口)は切り落とします。

\*操作上の注意\*

- 1.操作中のゲルの取り扱いには保護手袋を着用し、直接手を触れないよう注意して下さい。
- 2.泳動終了まで戻しネジは外しておいて下さい。
- 3.電源は泳動槽を確実に接続してからスイッチを入れて下さい。
- 4.バッファ液がもれる場合はシリコンゴムを点検してください。シリコンゴムが古く、磨耗していたり、均一に取り付けられていない場合、液漏れの原因になります。

取り替え用(消耗品)	2mm幅	シリコンゴム 2本	Cat.No.03-121
	3mm幅	シリコンゴム 1本	Cat.No.03-118
		2本	Cat.No.03-116

### 3 染色方法

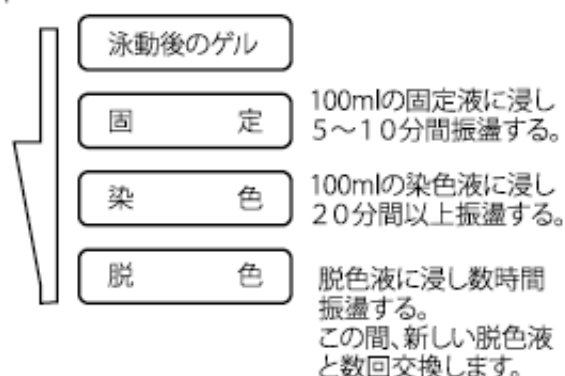
#### 3-1 準備する試薬

	固定液	染色液	脱色液
SDS-PAGE NON-SDS-PAGE Peptide-PAGE	酢酸 80 ml 蒸留水で200 mlにする	クマシーブルー-G250 0.2 g エタノール 60 ml 酢酸 20 ml 蒸留水で200 mlにする	エタノール 50 ml 酢酸 37.5 ml 蒸留水で500 mlにする
IEF-PAGE	トリクロロ酢酸 23 g スルホサリチル酸 7.0 g 蒸留水で200mlにする	蒸留水で200 mlにする	蒸留水で500 mlにする
TBE-PAGE		臭化エチジウム 0.1g 蒸留水で100mlにする (2,000倍に希釈して使用)	

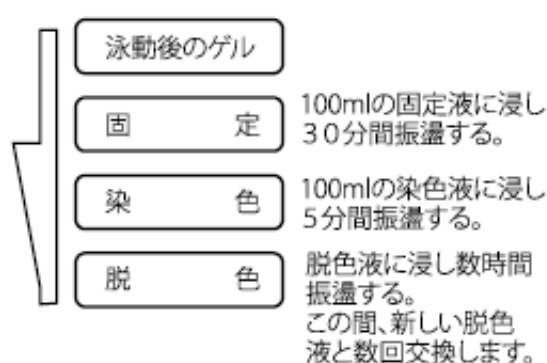
#### 3-2 操作手順

次の操作中の液量はミニゲル1枚を染色する場合の目安です、ゲルの大きさや枚数に応じて適当に加減して下さい。

SDS-PAGE / NON-SDS-PAGE /  
Peptide-PAGE / LS-PAGE の染色

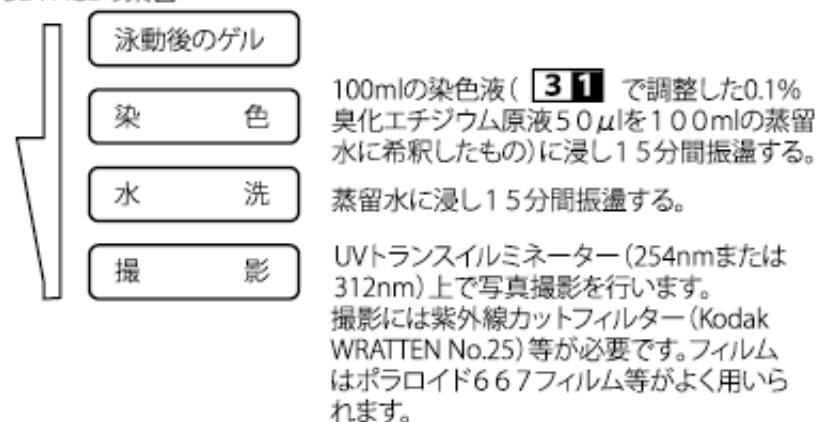


IEF-PAGEの染色



注意:脱色にはアルコールを含んだ脱色液( **3-1** 参照)をご使用下さい。

TBE-PAGEの染色



注意:UVは目や皮膚に有害です。使用する場合は必ずプラスチック製保護マスク等を着用して下さい。

臭化エチジウムは発癌性です。使用後の染色液は活性炭で吸着除去してから廃棄して下さい。

## 4 コロイドCBB染色法

### 4 1 コロイドCBB 染色キットについて カタログ No.06-401

コロイド状のクマシーブリリアントブルーG250 を使用して染色を行います。バックグラウンドが染まりにくい為、染色操作の直後にバンドの確認ができ、通常160分でSDS-PAGEの染色、脱色操作が完了します。さらに水で一晩脱色すればバックグラウンドをほとんど完全に透明にすることができます。また、染色時間を延長すれば、高感度(BSA 20 ng)の検出も可能となります。トリス-グリシン系、トリス-トリシン系のゲルはもちろん、等電点ゲルの染色にも最適です。

### 4 2 特長

1. バックグラウンドが透明で非常にクリアな染色結果が得られます。
2. 脱色は水のみで行うことができます。
3. 通常のカマシー染色法より高感度, 20 ng のBSAを検出することができます。

### 仕様

構成: A液(クマシーブリリアントブルーG250を含有) 250ml  
B液(リン酸を含有) 250ml  
(染色液2.5リットル相当  
ミニゲル25回分)

使用ゲル: ポリアクリルアミドゲル  
(SDS-PAGE, NON-SDS-PAGE, Peptide-PAGE, IEF-PAGE, LS-PAGE)  
保 存: 室温、6ヶ月

### 4 3 使用方法

Q-PAGE, SDS-PAGE, NON-SDS-PAGE, Peptide-PAGEの場合

試薬の調製(ミニゲル1枚分)(注-1)

固定液	メタノール	100 ml	染色液A液(注-2)	10 ml
	酢酸	20 ml	B液	10 ml
	脱イオン水	80 ml	メタノール	20 ml
			脱イオン水	60 ml
		200 ml		100 ml(注-3)

### 操作手順

泳動後のゲルを100mlの固定液に移し15分間振とうします。この操作を2回くり返します。固定液を捨て、ゲルを100mlの染色液に移し、60分間(注-4)振とうします。ゲルを100mlの脱イオン水に移し、約60分間振とうします。(注-5)通常はこれで十分にバンドの確認ができますが、さらにバックグラウンドを減少させるには水で一晩振とうします。

注-1 試薬は毎回新しく調製して下さい。試薬中のメタノールをエタノール等で代用することはできません、必ずメタノールを使用して下さい。

注-2,3 使用前によく攪拌して下さい。

注-4 高感度の検出をする場合は4-12時間振とうします。BSA 20 ngを検出することができます。

注-5 この間、脱イオン水は新しいものと数回交換して下さい。

注意 染色後のゲルは高濃度のアルコールに長時間浸すと蛋白質バンドまで脱色することがあります、テフコ製ゲルドライソリュション(20%エタノールを含有)を使用する場合は30分以内として下さい。

## IEF-PAGE の場合

1	試薬の調製(ミニゲル1枚分)(注-1)		染色液A液(注-2)	5ml
	固定液 トリクロロ酢酸	12g	B液	10ml
	スルホサリチル酸	3.5g	メタノール	20ml
	脱イオン水	100ml	脱イオン水	65ml
2		100ml		100ml(注-3)

### 操作手順

泳動後のゲルを100mlの固定液に移し60分間振とうします。固定液を捨て、ゲルを100mlの染色液に移し、30分間振とうします。

ゲルを100mlの脱イオン水に移し、約1時間振とうします。(注-4) 通常はこれで十分にバンドの確認ができますが、さらにバックグラウンドを減少させるには水で一晩振とうします。

注-1 試薬は毎回新しく調製して下さい。試薬中のメタノールをエタノール等で代用することはできません、必ずメタノールを使用して下さい。

注-2,3 使用前によく攪拌して下さい。

注-4 この間、脱イオン水は新しいものと数回交換して下さい。

注意 本製品はテフコ製のIEF-PAGEの染色には良好な結果が得られますが、他社製品をご使用になる場合、組成の違いにより性能を発揮できない場合があります。染色後のゲルは高濃度のアルコールに長時間浸すと蛋白質バンドまで脱色することがあります、テフコ製ゲルドライソリューション(20%エタノールを含有)を使用する場合は30分以内として下さい。

### 染色操作に便利なゲルスクーパー

- 液中のゲルをすくって別の液に移す。
- ゲルを押さえてバット(容器)の液を捨てる。
- ゲルを切る。

染脱色やゲルの乾燥の操作にとっても便利です。



カタログNo. 03-085 ゲルスクーパー

## 5 ゲルの乾燥と保存方法

### 5.1 準備する器具と試薬(ミニゲルを乾燥する場合)

- A. Quick Dry システム デスクファンセット (カタログNo.03-276)  
構成:ベース/フレーム/クリップ
- B. Clear Dry Kit(S) (カタログNo.03-142)  
構成:セロファンメンブレンミニ 200枚  
クリアードライソリューション 500ml×2本
- C. 簡易ラミネータ(カタログNo.03-078) 50枚入り  
(カタログNo.03-079) 100枚入り



### 5.2 操作手順

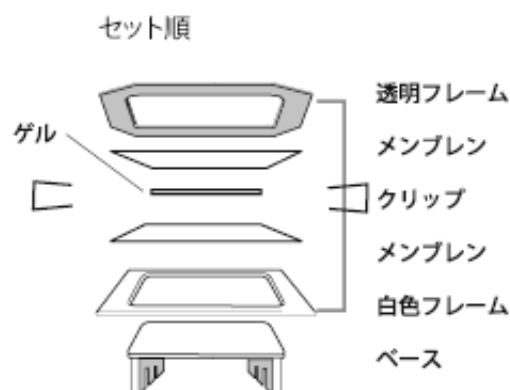
固定、染色脱色後のゲルを容器(約13 x 13cm位)に移し、ミニゲル(1mm)1枚あたり40ml, ミニゲル(1.5mm)1枚あたり45mlのClear Dry Solution を加え、約15 分間浸とうします。

セロハンメンブレンを2枚用意し、Clear Dry Solution に約1分間浸します。

ゲルの下部バッファ液接触口部分を裂け目が入らないように注意しながら切り離します。

図のように Quick Dry システムのベース+フレーム(白)の上にセロハンメンブレン、ゲル、セロハンメンブレン、フレーム(透明)と順に重ねます。ゲルとセロハンメンブレンの間に気泡が残らないように注意してください。ゲルを重ねる前と後に少量の Clear Dry Solution を滴下して、端のほうからゆっくりと重ねていくと気泡を防ぐことができます。

フレーム(白+透明)の1箇所を残して7個のクリップを留め、フレームの角を下に向け、わずかに隙間を空けて、残った液を除去します。残りのクリップを留め、フレーム(白+透明)をベースから外します。裏返したベースに立てかけて、5~10cm 離したところからデスクファン(または20Wくらいの小型扇風機など)で風を当てて乾燥させます。約 2~3 時間で乾燥することができます。



また、本製品は温風乾燥機またはヘアドライヤーなどで40~50℃の温風を当てて乾燥(約1~2時間)させること、乾燥機など使用せず、自然乾燥することもできます(乾燥時間:約24時間)。

乾燥後はフレームを外してゲルの周りの余分なセロハンをハサミで切って、簡易ラミネータ(またはOPP袋など)に入れて保管します。フレームから外したゲルの乾燥が不十分だった場合には、直ちに厚手の書物などに挟んで、一晩置いてゲルの歪みを防止します。



万一、ゲルドライソリューションが目に入った場合は、ただちに多量の水で洗い流して下さい。

## 5 3 乾燥中のゲルのひび割れや白濁の原因

<ひび割れ>

原因	対処法
脱色液が充分除かれていない	脱色後の水洗いを充分に行ってください。
ドライソリューションに浸す時間が短い	新しいゲルドライソリューションに15分間浸します。
ゲルに裂け目がある	下部バッファー接触口を切り離すときは、良く切れる長めのカッターナイフなどで、1度垂直に切るようにし切り口に亀裂が生じないように注意して下さい。
ゲル上または周辺に泡が残っている	泡が残っていると、その部分から割れる事があります。操作中に泡を除去しておいて下さい。
部屋の著しい乾燥状態またはエアコンなどの影響	エアコンの風などを避け、湿度の低すぎない場所に移して乾燥して下さい。

<ゲルの白濁>

原因	対処法
ゲルドライソリューションに浸す時間が長過ぎる。	ゲルドライソリューションに浸す時間を少し短くします。
部屋の著しい乾燥状態またはエアコンなどの影響	エアコンの風などを避け、湿度の低すぎない場所に移して乾燥して下さい。

※ ゲルが白濁してしまったときは、ドライフレームに付けたまま水を含んだ脱脂綿などで白濁部分を湿らせて再び自然乾燥を行います。

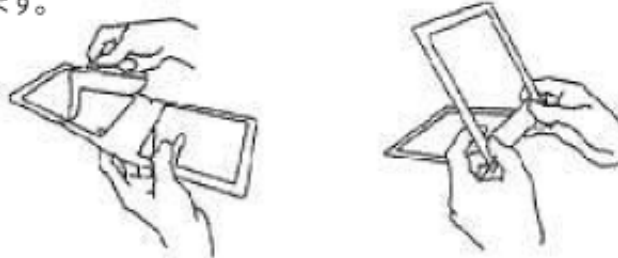
## 5 4 乾燥後のゲルの保存

乾燥後のゲルの保存に最適な簡易ラミネータ。

ゲルをフィルムシートでラミネートし再吸湿による乾燥ゲルの変形を防ぎます。フィルムシートの裏面シールの剥離紙を剥がしシートを折り曲げゲルを挟み込み貼り合わせるだけの簡単なラミネータです。

大切なゲルの部分には糊付けされませんのでいつでも取り出すことができます。

ゲルの周りの余分なセロハンを切り取り、簡易ラミネータのハクリ紙を剥がし、ゲルを挟み込んで圧着します。



## 6 二次元電気泳動法

### 6 1 準備する器具と試薬

- ◇ 電気泳動槽セイフティーセルミニ (カタログNo.03-101)
- ◇ 電源 DC500V,100mA以上の電源
- ◇ 染色脱色液 ( **3 1** 参照) または、別売りのコロイドCBB染色キット (カタログNo.06-401)

<1次元目>

- ・プリキャストゲル IEF-PAGE pH3-10 (カタログNo.04-655A) または IEF-PAGE pH3-7 (カタログNo.04-655B)
- ・等電点泳動用バッファー ( **2 A2 1** [D] 参照) または別売の濃縮タイプ「IEFバッファーキット pH3-10」または、「pH3-7」を使用。

<2次元目>

- ・プリキャストゲル SDS-PAGE 1.0mm厚 2-Dwell
- ・SDS-PAGE用バッファー ( **2 A2 1** [A] 参照) または別売のTris-Glycine SDS バッファーキット (カタログNo.06-361)

カタログNo.

06-361	Tris-Glycine SDS バッファーキット
06-401	コロイドCBB染色キット
06-331	IEFバッファーキットpH3-10
06-341	IEFバッファーキットpH3-7

### 6 2 一次元目の泳動

1. IEF-PAGEのゲルカセット背面下部のテープを剥がし、コームを抜いて泳動槽にセットします。
2. ウェルに1%CAPSを満たします。  
(但し、カタログNo.06-331または06-341のバッファーキットを使用の場合は1%CAPSの代わりに上部バッファー液を満たします)
3. 試料溶液をマイクロピペット等でウェルに添加します。
4. 上部バッファー槽にIEF上部バッファー液、下部バッファー槽にIEF下部バッファー液を注入します。
5. 泳動槽にカバーを取り付け、電源に接続して100Vで30分間泳動した後、200Vで30分、さらに500Vで60分間泳動します (但し、カタログNo.06-331または06-341のバッファーキットを使用の場合100V60分 200V60分、500V30分)
6. 泳動後ゲルを取り出し、固定30分、染色5分、次いで脱色を行い、バンドを確認します。
7. 200mlの蒸留水で約30分間振盪して酢酸を十分に除去します。この間蒸留水を2~3回交換してください。また、操作を中断してゲルを保存する場合は脱色液に浸しておき、操作7. から再開して下さい。
8. ゲルを1レーン分、ゲルカットガイドなどを用いて切り出します。  
残りのゲルは脱色液に浸して保存して下さい。

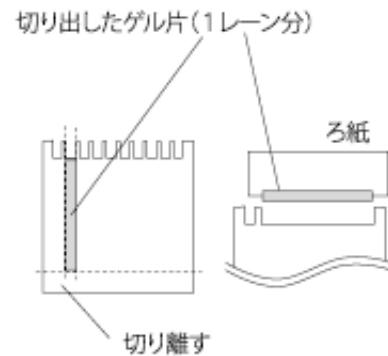
## 6 3 2次元目の泳動

9. 切り出したゲル片をSDS-PAGE用サンプルバッファーに10～20分間浸し、平衡化させます。この間に2次元目のSDS-PAGEのウェル中にSDS-PAGE泳動バッファーを満たしておきます。

10. ゲル片を厚手のろ紙に付着させ、2次元目のSDS-PAGEのウェルに気泡が入らないように注意しながら移します。(図)

11. 2次元目のSDS-PAGEを泳動槽にセットしSDS-PAGE泳動バッファーを注入し、上部カバーを取り付け電源に接続して泳動を開始します。(操作手順 **2A3 2** 参照) プロモフェノールブルーがゲル下端まで移動したら泳動を停止します。

12. ゲルカセットからゲルを取り出し、CBB染色、銀染色等目的に応じた染色を行ってください。



1

2

3

4

5

6

7

8



## 7 ミニトランスファープロットィングの方法

### 7-1 準備する装置

- セイフティープロットィングセルSTB-8(カタログNo.03-150)  
または、泳動槽セイフティーセルミニSTC-808(カタログNo.03-101)  
の上部バッファー槽を外し、代わりにセイフティープロットィング  
ユニットSTB-88(カタログNo.03-151)をセットして使用します。
- 電源 200mA以上直流電源を用意します。

### 7-2 準備する試薬とプロットィング条件

#### 1.プロットィング バッファーの準備

トリス	3.02g (25mM)
グリシン	14.40g (192mM)
メタノール	200ml (20%)

蒸留水で1,000mlにする

0.1%SDSの添加も可  
\*pHは調整しないで下さい

#### 2.トランスファー メンブレンの準備

- ・ニトロセルロースまたはPVDFメンブレン(7~7.5×8~8.5cm)1枚
- ・ろ紙(7~7.5×8~8.5cm)2枚

※プリカットされたメンブレンとろ紙のキットもご用意しております。

- ニトロセルロースメンブレンキット(カタログNo.03-055)20組入り
- PVDFメンブレンキット (カタログNo.03-056)20組入り

#### 3.プロットィング条件

##### 定電流法

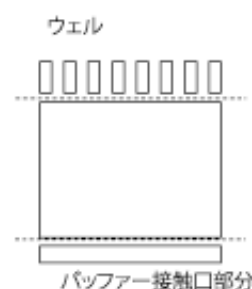
タンパク質の分子量	プロットィング条件
MW 10,000-150,000	定電流 180mA 60分
MW 150,000以上	定電流 180mA 90分

##### 定電圧法

プロットィング条件	電流上限 リミット
定電圧 5~10V 30分	200mA
定電圧 25~30V 60分	

### 7-3 操作法

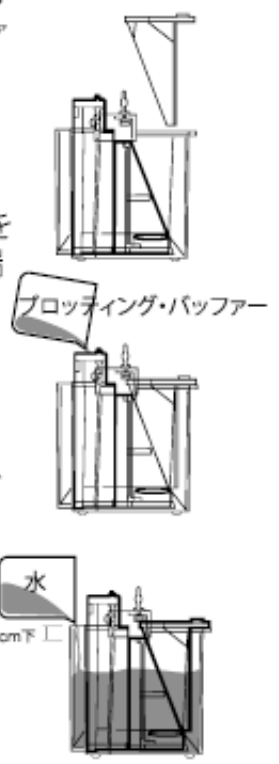
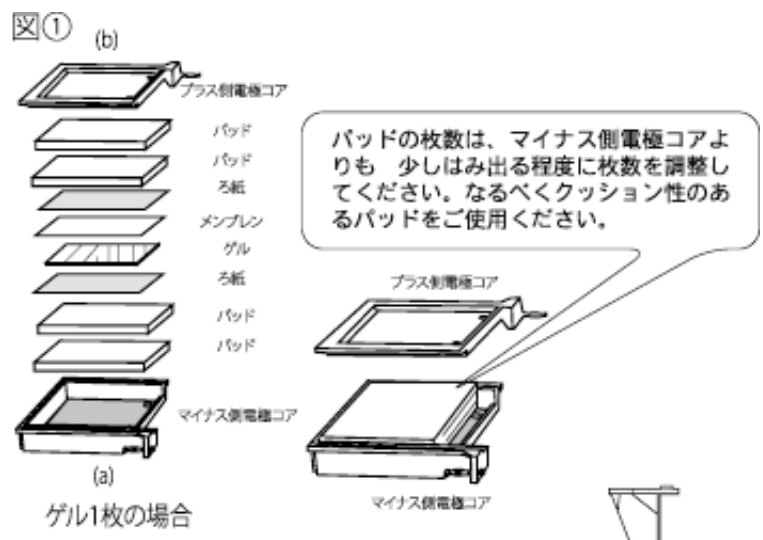
- 1.電気泳動を終了します。ゲルの取り出しは電気泳動の  
操作手順 **2 A3 2** 参照。
- 2.取り出したゲルのウェルの部分とゲル下部のバッファー  
接触部分を切り離します。



- 3.メンブレン、パッド、ろ紙を15分以上、プロットィングバッファーに浸しておきます。  
PVDFメンブレンを使用する場合はメタノール(99.5%)またはエタノール(99.5%)  
に約30秒間濡らしてからプロットィングバッファーに浸して下さい。

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8

4. ゲルをプロットングバッファーに 5～10分間浸します。
5. マイナス側電極 コア(a)の上に図に示すようにパッド、ろ紙、ゲル、メンブレンを順に重ねます。
6. プラス側電極 コア(b)を重ね、指ではさみながら下部バッファー槽の中にセットします。  
(プラス側電極コアが泳動槽の正面にくるようにセットします)
7. 垂直移動板と水平移動板をセットし、垂直移動板を押し込みプロットングユニットを固定します。
8. マイナス側電極コア(a)とプラス側電極コア(b)の間にプロットングバッファーを約100ml注入し、パッドを浸します。次いで、下部バッファー槽に冷水を上端より2cm下のところまで注入します。
9. 上部カバーをセットし電源を入れます。
10. プロットングが終了したら電源を切ります。  
上部カバーを外して戻しネジを時計周りに回して移動板を外し、プロットングユニットを取り出します。
11. メンブレン上に転写されたタンパク質を酵素抗体法や一般的な染色の方法に従って検出します。



断面図

**\*操作上の注意\***

1. ゲルとメンブレン、ろ紙の間に隙間や空気が入らないように密着させて下さい。
2. パッドはゲルとメンブレンを固定するクッションになるよう、枚数を加減してください。パッドは繰り返し使用するうちに薄くなり、次第に弾力がなくなってきます。薄くなったパッドは新しいものと交換して下さい。
3. 下部バッファー槽には必ず十分な冷却水を入れてください。冷却水の代わりにプロットング バッファーを使用することもできます。
4. 電圧はバッファー中の不純物によって変化します。初期電圧が20～30Vが正常です。
5. 電圧が30Vを超える場合は電流を下げて調節してください。
6. 柔らかくて取り扱いが難しいゲルの場合、バッファー内でろ紙を用いてすくい取ると安全にプロットングユニットに移す事ができます。

## 8 Non-Alcohol ブロットイング法

メタノールを含まないブロットイングバッファーを使用することにより、荷電量が少なくゲルから転写しにくい糖タンパク質などの転写効率を改善することができます。

### 8.1 準備する試薬

- ◇ Non-Alcohol  
ブロットイングバッファー

トリス 3.02g(25mM)  
グリシン 14.40g(192mM)

蒸留水で1,000mlにする

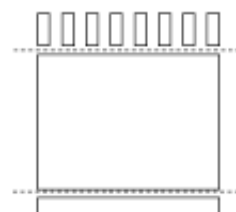
0.1%SDSの添加も可

\*pHは調整しないで下さい

- ◇ その他の器具、試薬、ブロットイング条件は **7.1** および **7.2** を参照してください。

### 8.2 操作手順

1. 電気泳動を終了します。(ゲルの取り出しは **2.A3.2** 参照)
2. 取り出したゲルのウェルの部分とゲル下部のバッファー接触部分を切り離します。
3. ニトロセルロースメンブレンを使用する場合は、パッドを15分以上(20%)メタノール含有ブロットイングバッファーに浸しておきます。  
また、PVDFメンブレンを使用する場合はメタノール(99.5%)またはエタノール(99.5%)に約30秒間濡らしてからブロットイングバッファーに浸して下さい。
4. ゲルをNon-Alcohol-ブロットイングバッファーに5~10分間浸します。
5. マイナス側電極コアにパッド、ろ紙、ゲル、メンブレンを順次重ねます。2枚同時にブロットする場合は **7.3** 5.のように重ねます。
6. 5.にプラス側電極コアを重ね、指で挟みながら泳動槽の中に入れます。(プラス側が左側になるようにセットします)
7. 水平移動板と垂直移動板で固定します。
8. 陰極と陽極板の間にNon-Alcohol-ブロットイングバッファーを約100ml注入します。バッファー液の漏れがないことを確認します。
9. 以下、**7.3** 9.以降と同様に操作します



1

2

3

4

5

6

7

8

技術的なご質問はテクニカルサービス部へ  
お問い合わせください。

**TEFCO**  
TECHNICAL FRONTIER CO.

**テフコ株式会社**

〒192-0361 東京都八王子市越野 5-5

2005.9 発行

TEL 0426-76-3513(代表) FAX 0426-76-9150

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

2005.9 発行  
2015.1 改訂