

Tris-Glycine プロテイングバッファー (10X)

1) Tris-Glycine プロテイングバッファー(1X)の準備

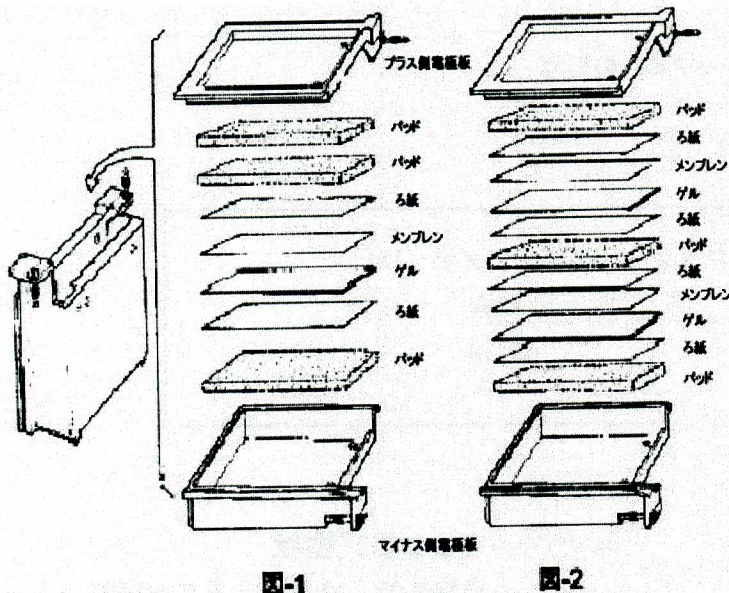
Tris-Glycine プロテイングバッファー(10X) 50ml に脱イオン水350ml とメタノール100mlを加えて混合します。

2) トランスファーメンブレン、パッド、ろ紙の準備

ニトロセルロースメンブレンキット(カタログNo.03-055) または PVDFメンブレンキット(カタログNo.03-056) を準備します。メンブレン、パッド、ろ紙を15分以上、プロテイングバッファーに浸しておきます。パッドはバッファー中で圧迫を繰り返して、空気を完全に押し出しておきます。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テイングバッファーに浸して下さい。

3) プロトコール

1. 電気泳動を終了し、ゲルをカセットから取り出します。
2. アイソクラティックゲルの場合はスタッキング(濃縮ゲル)とゲル下部のバッファー接触口を切り離します。グラジエントゲルの場合はコームの部分とゲル下部のバッファー接触口を切り離します。
3. ゲルをプロテイングバッファーに5~10分間浸します。
4. マイナス側電極板(大きい方)の上に図-1に示す様にパッド、ろ紙、メンブレンを順次重ねます。2枚同時にプロットする場合は図-2のように重ねます。
5. プラス側電極板を重ね、指で挟みながら泳動槽の中に入れます。プラス極側が手前になるようにセットします。
6. 水平移動板と垂直移動板で固定します(図-3)



7. プラス極とマイナス極板の間にプロテ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。
8. 下部バッファー槽に冷水を上端より2cmのところまで注入します。

9. 上部カバーをかぶせ、下記の条件で通電し転写を開始します。

タンパク質の分子量	プロットング条件	
MW10,000-150,000	定電流180mA	60分
MW150,000 以上	定電流180mA	90分

10. プロットングが終了したら電源を切り、上部カバーを外して、戻しネジを時計方向にまわして移動板を外し、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。

* 操作上の注意

1. ゲルとメンブレン、ろ紙の間に空気が入らないようによく密着させてください。
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、枚数を加減して下さい。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。古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冷水を入れて下さい、冷水の代わりにプロットングバッファーを使用すると泳動槽が変性する可能性がありますので注意して下さい。
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下さい。
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ことができます。

品名

Tris-Glycine プロットングバッファー (10X)、500ml

Cat. No.

室温保存 特注

用途 SDS-PAGE, Peptide-PAGE, Q-PAGE の転写

組成

Tris-Glycine プロットングバッファー (1X)

Tris base 25mM

Glycine 192mM

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>

2008/7/30