

ZYMOGRAM バッファー キット

プロトコール (ミニゲル)

1. 試料溶液
試料と ZYMOGRAM サンプルバッファー(2X)を等量(1:1)混合し、10分間室温で放置します。
加熱しないでください。
2. 泳動バッファー
ZYMOGRAM 泳動バッファー(10X)を蒸留水で10倍に希釈し、泳動槽の上部及び下部バッファー槽にそれぞれ適量を注入します^{注-1}。

注-1：テフコ泳動槽STC-808の場合、上部バッファー槽に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、下部バッファー槽には200-300ml注入します。

3. ウェルに試料溶液を添加します。
4. 下記の条件に従って泳動を行います。

泳動条件

電 圧：125V 定電圧
予想電流：開始時 30-40mA/1.0mm 厚ゲル1枚
 終了時 8-12mA/1.0mm 厚ゲル 1枚
泳動時間：70 - 120分

プロモフェノールブルーがゲルの下端まで移動したら泳動終了です。

5. 泳動が終了したら、100mlのZYMOGRAM RENATURING バッファー(1X)にゲルを浸し、室温で30分間静かに振とうします。
6. 液を捨て、100mlのZYMOGRAM DEVELOPING バッファー(1X)に交換します。
30分間静かに振とう平衡化した後、新しい100mlのZYMOGRAM DEVELOPING バッファー(1X)と交換し、37℃で通常4時間以上インキュベーションします(試料の濃度により、処理時間を調整(1時間～1晩)します、最適の処理時間を調べるためには試料の添加量やインキュベーション時間を变化させた予備試験を行う必要があります)。
7. 0.5%(W/V)のクーマシーブルーR250による染色法で 1×10^{-6} unit以下のコラーゲナーゼを検出することができます。プロテアーゼ活性部分が透明なバンドとなって検出されます。

用途 ZYMOGRAM GEL (ゼラチン入りSDS PAGE GEL) 用

品名

		<u>Cat.NO.</u>
ZYMOGRAM バッファー キット (06-353,354,355,356各1本)		06-351
ZYMOGRAM サンプルバッファー(2X),20ml 2本	4 保存	06-353
ZYMOGRAM 泳動バッファー(10X), 500ml	室温保存	06-354
ZYMOGRAM RENATURING バッファー(10X),500ml	室温保存	06-355
ZYMOGRAM DEVELOPING バッファー(10X),500ml	室温保存	06-356

組成

ZYMOGRAM SAMPLE BUFFER (1X) Tris-HCl,pH6.8 63mM Glycerol 10% SDS 2% Bromophenol blue 0.0025%	ZYMOGRAM RUNNING BUFFER(1X) Tris base 25mM Glycine 192mM SDS 0.1%
ZYMOGRAM RENATURING BUFFER (1X) Triton X-100 2.5%	ZYMOGRAM DEVELOPING BUFFER(1X) Tris base 10mM Tris HCl 40mM NaCl 200mM CaCl ₂ 5mM Brij35 0.02%

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/>