

Tris-Glycine SDS バッファーキット

プロトコール

注意：LS-PAGE をご使用の場合は LS-PAGE に添付の説明書 (I-320, LS-PAGE System) のプロトコールに従って操作してください。

1. Tris-Glycine SDS サンプルバッファーには還元剤が含まれていません。還元条件で泳動する場合は、5 ml の Tris-Glycine SDS サンプルバッファー (2X)、に対して 0.25 ml の 2-メルカプトエタノール、または 0.1 g のジチオトレイトールを加えてから次の試料溶液を調製してください。還元剤入りサンプルバッファーは使用時に新しく調製してください。
2. 試料と Tris-Glycine SDS サンプルバッファー (2x) を (1:1) の割合で混合し、95°C で5分間加熱します。
3. Tris-Glycine SDS 泳動バッファー (10x) を蒸留水で10倍に希釈し、Tris-Glycine SDS 泳動バッファー (1x) を調製します。泳動装置の上部および下部バッファー槽にそれぞれ適量の Tris-Glycine SDS 泳動バッファー (1x) を注入します。上部バッファー液はゲルカセットのウエル上端より3-4mm上の位置まで注入します。TEFCO セイフティーセルミニ, S T C -808の場合、上部バッファー槽に約 200 ml、下部バッファー槽に約 300 ml を使用します。
4. ウェルに試料溶液を添加します。タンパク質の負荷量はクマシーブルー染色を行う場合、通常 1バンド当たり 0.1 - 0.5 μ g が適量です。
5. 下記の泳動条件に従って泳動を行います。

泳動条件-1 (定電流で泳動する場合)

| | | |
|------|---|---------------------------------|
| 電 流 | : | 18mA 定電流 |
| 予想電圧 | : | 開始時 : 70-100V 終了時 : 160-210V |
| 泳動時間 | : | 70-120 分 |

注意：定電流で泳動する場合、1.5mm厚のゲルは1mm厚の場合の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。予想電流と電圧、泳動時間は泳動バッファーの温度により変化します。

泳動条件-2 (定電圧で泳動する場合)

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

注意: 定電圧で泳動する場合はゲル厚、枚数に関係なく電圧は一定に設定します。予想電流と電圧、泳動時間は泳動バッファーの温度により変化します。

ブROMOFENOL BLUE (BPB) がゲル下端付近まで移動したら電源を切り、泳動を終了します。

6. 泳動終了後、ゲルをカセットから取り出し、必要に応じて、固定、染色、ブロットニング等の操作を行います。

品名

Cat. No.

| | | |
|---|------|--------|
| Tris-Glycine SDS バッファー キット(06-363, 364 各1本) | 4℃保存 | 06-361 |
| Tris-Glycine SDS サンプルバッファー(2X), 20ml 2本 | 4℃保存 | 06-363 |
| Tris-Glycine SDS 泳動バッファー(10X), 500ml | 室温保存 | 06-364 |

用途 SDS-PAGE の泳動

組成

| Tris-Glycine SDS サンプルバッファー (1X) | | Tris-Glycine SDS 泳動バッファー (1X) | |
|---------------------------------|---------|-------------------------------|-------|
| Tris-HCl, pH6.8 | 63mM | Tris base | 25mM |
| Glycerol | 10% | Glycine | 192mM |
| SDS | 2% | SDS | 0.1% |
| Bromophenol blue | 0.0025% | | |

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>

2015/1/22