

【方法】

サンプル : 人血清のアセトン沈殿産物

血清溶解条件

右溶解液にて血清のアセトン沈殿産物を融解した。

濃度は 20mg/ml 程度とすると後の操作が行いやすくなる。

溶解液

Urea 0.30 g
thiourea 0.15 g
20%(w/v) CHAPS 0.10 ml
20%(w/v) SB3-10 0.10 ml
DTT 0.01 g
Pharmalyte 3-10 0.02 ml
Milli-Q water up to 1.00 ml

等電点電気泳道方法 (一次元目電気泳道)

右膨潤液と上記血清溶液を混合して 250 μ l とし、一次元電気泳動装置にて泳道する。

泳道条件は以下のとおり

1. 500V 1 時間
2. 1000V 1 時間
3. 8000V 2 時間 30 分
4. 8000V 55 分
終了

膨潤液組成

urea 14.4 g
thiourea 6.1 g
dithiothreitol 0.08 g
Pharmalyte 3-10 0.4 ml
0.1 M acetic acid 1.0 ml
0.1%(w/v) Orange G 1.0 ml
20%(v/v) Triton X-100 4.0 ml
Milli-Q water up to 40 ml 8 本分

SDS-PAGE 電気泳道方法 (二次元目電気泳道)

還元化、アルキル化を行った後 10%アクリルアミドゲルにより泳道を行う。

なお、紹介した 2 次元電気泳動については東京都老人総合研究所 戸田年総先生の Web サイトを参考にとすると良い。

http://www.proteome.jp/2D/J_2DEmethod.html