

電気泳動用試薬

Electrophoresis Reagents



ゲル染色試薬

銀染色法

New Silver Stain Kit [for Electrophoresis]

1kit [I1309]

銀染色は、電気泳動後のポリアクリルアミドゲル中のタンパク質や DNA を高感度で検出する染色方法です。銀イオンがゲル中のタンパク質や DNA に結合し、還元されることで銀染色像が得られます。銀染色はクマシーブリリアントブルー（CBB）染色よりも高感度であり、数 ng のタンパク質を検出することができます。

特長

- 短時間でゲルの染色可能
- 高感度検出
- アンモニウムを含まず無臭
- 爆発性の銀アミドを生じないので安全



使用方法

1. 付属の溶液を 100 倍希釈し、固定液、染色液、現像液、停止液を調製する。
2. 固定液を入れたトレーに電気泳動後のゲルを入れ、10 分間振とうさせる。
3. 固定液を捨て、脱イオン水を加えて 10 分間振とうさせる。(3 回繰り返す)
4. 脱イオン水を捨て、染色液を加えて 5 分間振とうさせる。
5. 染色液を捨て、脱イオン水を加えて 30 秒間振とうさせる。
6. 脱イオン水を捨て、現像液を加えて 30 秒間振とうさせる。
7. 現像液を捨て、新たな現像液を加えて適切な染色像が得られるまで振とうさせる。(5 ~ 10 分程度)
8. 現像液を捨て、停止液を加えて 10 分間振とうさせる。
9. 停止液を捨て、脱イオン水を加えて 5 分間振とうさせる。(3 回繰り返す)

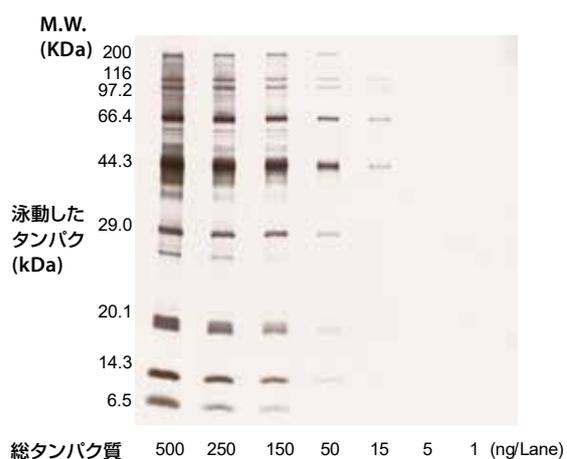


図1. タンパク質を泳動し上記方法で染色したゲル写真

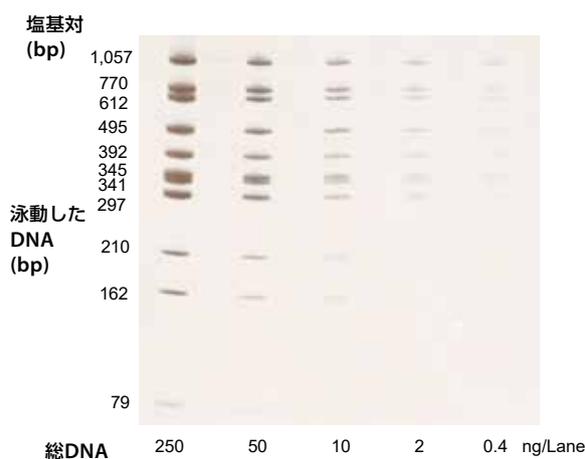


図2. DNAを泳動し上記方法で染色したゲル写真

ネガティブ染色法

Gel Negative Stain kit [for Electrophoresis]

1kit [G0615]

ネガティブ染色はSDS-PAGE後のゲルの染色方法で、タンパク質を含まないゲル領域のみを白く染色し、タンパク質を含む領域は透明のままに染色しません。

染色後のゲルは脱染液で簡単に脱染でき、メンブレンに転写することも可能です。

特長

- 短時間(約20分以内)でゲルを染色
- タンパク質の高感度検出
- 脱色後のゲルは他の実験に利用可能
- 1キットでゲル20枚を染色可能
(※90×90×1mmゲルの場合)



使用方法

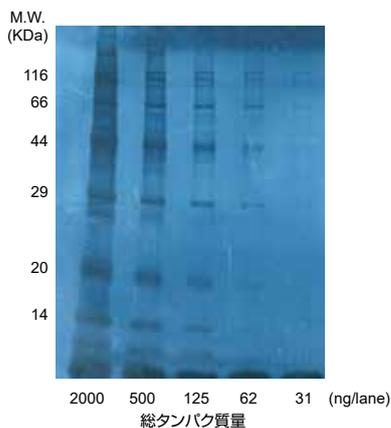
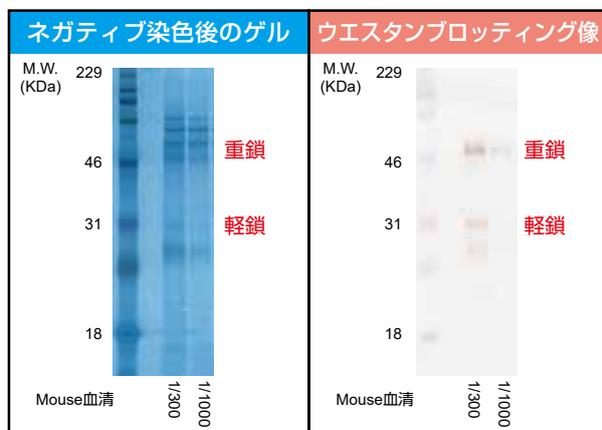


図. 右記の方法で染色したゲル写真

1. ゲルが浸る程度の脱イオン水を入れたトレーに SDS-PAGE 後のゲルを入れ、10分間振とうさせる。
2. 脱イオン水を捨て、脱イオン水で10倍希釈した A液をゲルが浸る程度に加え、5分間振とうさせる。
3. A液を捨て、ゲルが浸る程度の脱イオン水を加えて 10秒間洗浄する。この操作を3回繰り返す。
4. ゲルを新しいトレーに移し、脱イオン水で10倍希釈したB液をゲルが浸る程度に加え1分間振とうさせ、発色させる。

使用方法(ウエスタンブロッティングへの応用)



1. 脱イオン水で10倍希釈したC液が入ったトレーに染色・撮影後のゲルを入れる。
2. ゲルの色が抜けるまで振とうさせる。
3. C液を捨て、ゲルが浸る程度の脱イオン水を加えて30秒間洗浄する。この操作を3回繰り返す。
4. 洗浄後のゲルをメンブレン(PVDF)に転写する。

一次抗体: Goat Anti-Mouse IgG Biotin [G0387]

二次抗体: Streptavidin HRP Conjugate [S0972]

発色基質: 3,3'-Diaminobenzidine (DAB)

CBB 染色法

Coomassie Brilliant Blue G-250 (Ready-to-use solution) [for Electrophoresis]

500mL [C3488]

使用方法

1. 電気泳動後のゲルを脱イオン水で5分間洗浄、これを3回繰り返す。
2. 洗浄した水を捨て、**C3488**をゲルが浸る程度加え、60分間室温で振とうさせる。
3. 染色液を捨て、脱イオン水で60分間洗浄後、観察する。
4. バックグラウンドが高い場合、脱イオン水で一晩洗浄する。

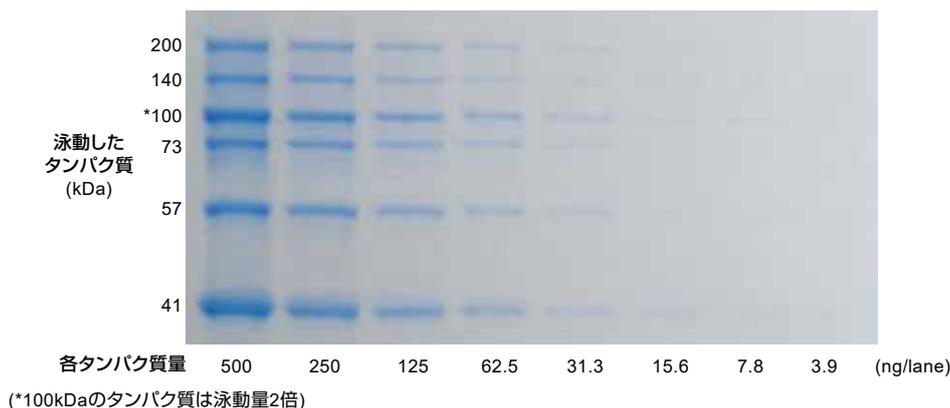


図. 上記の方法でタンパク質を電気泳動後に染色した写真(一晩洗浄後)

銀染色、ネガティブ染色、CBB染色の比較

	時間	検出感度	特長
銀染色 [I1309]	約1時間	数ng	高感度検出法として古くから利用され実績豊富。 タンパク質とDNAどちらも検出可能。
ネガティブ染色 [G0615]	15~30分間	数ng	短時間で染色可能。 染色後のゲルはウエスタンブロットなどに利用可能。
CBB染色 [C3488]	2時間~1晩	数μg	操作が簡単。 定量性あり。

その他タンパク質染色試薬

Acid Black 1 (= Amido Black 10B)

5g [A2097]

Acid Red 112 (= Ponceau S)

1g / 5g [A2256]

Coomassie Brilliant Blue G-250

5g [B3193]

Coomassie Brilliant Blue R-250

5g [B3194]

Fast Green FCF

5g [F0718]

抗体剥離液

New Western Blot Stripping Buffer [for Biochemical Research]

250mL [W0024]

Western Blot Stripping Buffer [W0024] は化学発光の検出を行ったメンブレンから抗体を剥離する際に使用します。温和な条件で行うことから抗原はメンブレン上に保持されます。これによって異なる抗体を用いて再度化学発光の検出を行うことが可能となります。

利用例

1. HeLa細胞ライセートの2倍段階希釈液 (5.0 – 0.078 $\mu\text{g}/\text{lane}$) を SDS-PAGEにより分離する。
2. ウェスタンブロット後、化学発光試薬を用いて抗体を検出する。(図A)
3. メンブレンをTBS-Tに浸し、10分間振とうさせる。この操作を2回繰り返す。
4. メンブレンをW0024に浸し、30分間室温で振とうさせる。(図B)
5. メンブレンをTBS-Tに浸し、10分間振とうさせる。この操作を3回繰り返す。
6. 再度ブロッキングから始め、新しい抗体を化学発光で検出する。(図C)

HeLa cell lysate
(μg protein)

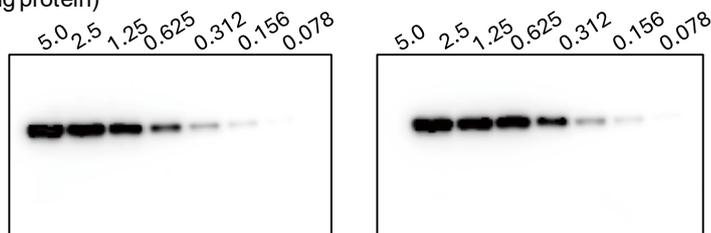


図 A. 1回目の検出。抗 α Tubulin抗体 (Rabbit IgG) を結合させて検出

メンブレン：PVDFメンブレン
ブロッキングバッファー：1% BSA/TBS-T
洗浄バッファー：TBS-T
一次抗体：Anti- α Tubulin (Rabbit IgG)
二次抗体：Goat anti-Rabbit IgG HRP
検出：CCDイメージャー
露光時間：60秒

W0024

他社品

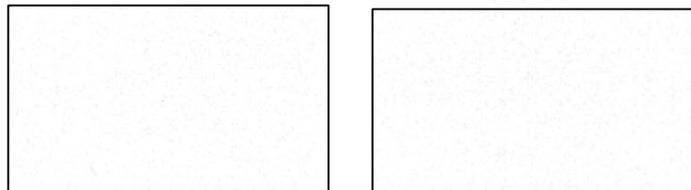


図 B. W0024 または他社のストリッピングバッファーを使用して抗体を剥離

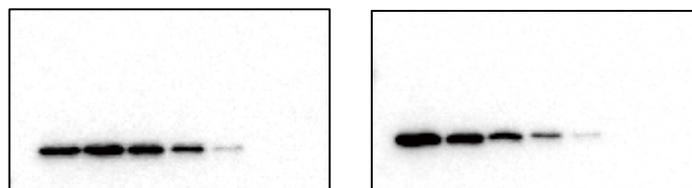


図 C. 2回目の検出。ストリッピングしたメンブレンを再度ブロッキング処理し、抗GAPDH抗体 (Mouse IgG) を結合させて検出

ブロッキングバッファー：1% BSA/TBS-T
洗浄バッファー：TBS-T
一次抗体：Anti-GAPDH (Mouse IgG)
二次抗体：Goat anti-Mouse IgG HRP
検出：CCDイメージャー
露光時間：60秒

ウエスタンブロッティング用化学発光試薬

New Chemiluminescence HRP Substrate Solution Kit [for Western Blotting]

1kit [C4087]

Chemiluminescence HRP Substrate Solution [C4087] はメンブレン上のタンパク質と結合した西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) 標識プローブを化学発光で検出する試薬です。2液タイプのため使用直前に1:1で混合して使用します。ピコグラム領域の検出が可能です。

利用例

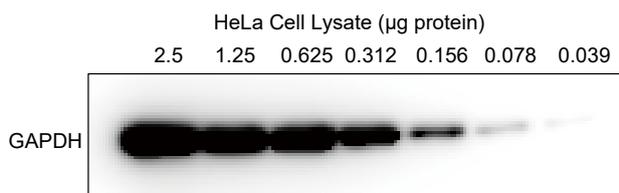


図. C4087を使用して発光させたメンブレン

HeLa Cell Lysate : 2.5 ~ 0.039 µg/lane (2倍段階希釈液)
 メンブレン : PVDF メンブレン
 ブロッキングバッファー : 1% BSA/TBS-T
 一次抗体 : Anti-GAPDH (Mouse IgG)
 二次抗体 : Goat anti-Mouse IgG HRP
 検出 : CCD イメージャー
 露光時間 : 120秒

1. C4087を室温に戻す。
2. ブロッキングしたメンブレンにHRP標識された抗体を添加し、その後に洗浄する。
3. Solution AとSolution Bを等量混合する。
*メンブレン1cm²あたり0.1mLの混合液が目安。
4. メンブレンから余分な洗浄バッファーを除く。
5. メンブレンをラップや透明なポリエチレンのシートの上に乗せる。
6. メンブレンを覆うように混合液をかける。
7. 室温で60秒間静置する。
8. 余分な混合液を除く。
9. 化学発光を検出する。

*シグナルの強さによって露光時間を調節する。

SDS-PAGE サンプルバッファー

サンプル量によって使い分けが可能な、3種類の濃度のサンプルバッファーを取り揃えています。還元剤は含まれていないため適宜添加する必要があります。赤色のサンプルバッファーもあり、サンプルによって色を使い分けることができます。

2X SDS-PAGE Sample Buffer (2-Mercaptoethanol free)	25mL [B5834]
4X SDS-PAGE Sample Buffer (2-Mercaptoethanol free)	20mL [B6104]
6X Sample Buffer (2-Mercaptoethanol free)	10mL [B6105]
2X SDS-PAGE Sample Buffer Phenol Red (2-Mercaptoethanol free)	25mL [B6110]

使用例



図. ゲルアプライ時の様子

下記の各サンプルバッファーを使用して、泳動サンプルを調製しアクリルアミドゲルにアプライした。

- ① 2X SDS-PAGE Sample Buffer
- ② 4X SDS-PAGE Sample Buffer
- ③ 6X Sample Buffer
- ④ 2X SDS-PAGE Sample Buffer Phenol Red

ゲル調製用試薬および緩衝液調製用試薬など

30% Acrylamide / Bis-acrylamide (29:1)	250mL	[A3217]
30% Acrylamide / Bis-acrylamide (37.5:1)	250mL	[A3218]
Acrylamide Monomer	25g / 500g	[A1132]
Ammonium Peroxodisulfate	5g / 25g	[A2098]
Bromophenol Blue Sodium Salt (= BPB)	1g	[B3195]
DL-Dithiothreitol (= DL-DTT)	1g / 5g	[D3647]
Glycerol	1g	[G0316]
1-Thioglycerol	5g / 25g	[T3843]
Glycine	25g / 500g	[G0317]
2-Mercaptoethanol	5g / 25g	[M1948]
N,N'-Methylenebisacrylamide	25g / 100g	[M0506]
Sodium Dodecyl Sulfate (= SDS)	25g / 500g	[S0588]
N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine (= TEMED)	5g / 25g	[T2515]
Tris(hydroxymethyl)aminomethane (= Tris-Base)	25g / 500g	[T2516]

ウエスタンブロッティング用関連試薬

4-Chloro-1-naphthol (Ready-to-use solution) [for Western blotting]	100mL	[C3384]
Nitro Blue Tetrazolium / 5-Bromo-4-chloro-3-indolyl Phosphate p-Toluidine Salt Solution (50X) [for Western blotting]	5mL	[N1113]
TMB [for Western blotting] (Ready-to-use solution)	100mL	[T3855]
DAB staining kit	1kit	[D5909]
6-Aminohexanoic Acid	5g / 25g	[A2255]
Anti-6xHis Monoclonal Antibody (6A12) HRP Conjugate	1vial	[A3075]
Anti-Protein A Chicken Polyclonal Antibody HRP Conjugate	1vial	[A3187]
Anti-α Gal Chicken Polyclonal Antibody HRP Conjugate	1vial	[A3195]
Goat Anti-Mouse IgG HRP Conjugate	1vial	[G0407]
Goat Anti-Mouse IgM HRP Conjugate	1vial	[G0417]
Goat Anti-Rabbit IgG HRP Conjugate	1vial	[G0418]
Protein A HRP Conjugate	1vial	[P2466]
Streptavidin HRP Conjugate	1vial	[S0972]
Sheep Anti-Chicken IgY HRP Conjugate	1vial	[S0999]
Goat Anti-Mouse IgG FITC Conjugate	1vial	[G0406]
Goat Anti-Rabbit IgG FITC Conjugate	1vial	[G0452]
Goat Anti-Mouse IgM FITC Conjugate	1vial	[G0453]
Goat Anti-Mouse IgG DTBTA-Eu³⁺ Conjugate	1vial	[G0505]
Goat Anti-Rabbit IgG DTBTA-Eu³⁺ Conjugate	1vial	[G0506]
Goat Anti-Mouse IgG R-PE Conjugate	1vial	[G0569]
Goat Anti-Rabbit IgG R-PE Conjugate	1vial	[G0577]
Goat Anti-Mouse IgG1 Fab Fragment Cyanine3 Conjugate	1vial	[G0598]

核酸染色試薬

Ethidium Bromide (0.5mg/mL in Water) (in Dropper Bottle) [for Electrophoresis]
10mL [E1363]



本製品は一滴に約20 µgのエチジウムブロミドを含みます。必要量を滴下することで、安全かつ簡便に染色液を任意の濃度に調整できます。

使用方法

1. 電気泳動後、水もしくは泳動バッファー 40 mL あたり E1363 を一滴 (終濃度 0.5 µg/mL) 滴下し、染色液を準備する。
2. 適切な容器に移した染色液とアガロースゲルを浸漬し 15 分間染色する。バックグラウンドが高い場合は水でさらに 15 分間洗浄する。(泳動バッファーおよびゲルにあらかじめ 0.5 µg/mL となるようエチジウムブロミドを添加しておく、泳動後すぐにバンドの観察ができる。)
3. UV トランスイルミネーターで観察する。

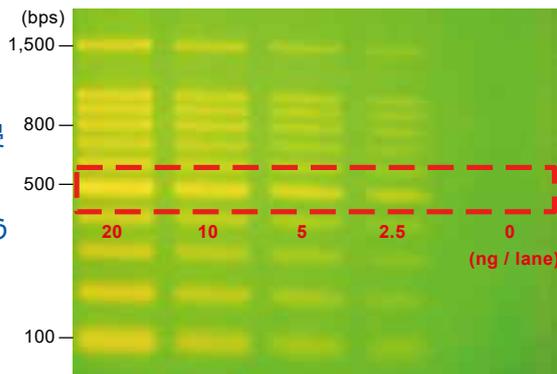


図. DNAラダーマーカーを各濃度で泳動し、左記の方法で染色したアガロースゲル

10X Nucleic Acid Stain Blue [for Electrophoresis]

100mL [N1209]

アガロースゲル電気泳動後の核酸を染色するために使用できます。核酸を青く染色するため、トランスイルミネーター等の検出装置は不要です。エチジウムブロミドとは異なり、非変異原性であるため、安全性が高く取り扱いが容易です。

使用方法



λDNA 200 100 50 25 12.5 (ng/lane)

図. 右記の方法で染色したゲル写真(一晚洗浄後)

1. 脱イオン水で 10 倍希釈した N1209 を用意する。
2. 電気泳動後のゲルを、希釈した N1209 に浸して 10 分間振とうさせる。
3. 染色液を捨て脱イオン水で 30 分間振とうし、ゲルを洗浄バックグラウンドが高い場合は、この操作を繰り返す。

東京化成工業株式会社

試薬製品について

■本社営業部 〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町 16-12 T-PLUS 日本橋小伝馬町8階
Tel: 03-3668-0489 Fax: 03-3668-0520 E-mail: Sales-JP@TCIchemicals.com

■大阪営業部 〒541-0041 大阪府大阪市中央区北浜 1-1-21 第2中井ビル1階
Tel: 06-6228-1155 Fax: 06-6228-1158 E-mail: osaka-s@TCIchemicals.com

スケールアップ、受託サービス(合成・開発・製造)について

□化成品営業部 〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町 16-12 T-PLUS 日本橋小伝馬町8階
Tel: 03-5651-5171 Fax: 03-5640-8021 E-mail: finechemicals@TCIchemicals.com

弊社製品取扱店

本誌掲載の化学品は試験・研究用にのみ使用するものです。化学知識のある専門家以外の方のご使用はお避けください。品目や製品情報等、掲載内容の変更を予告なく行う場合があります。内容の一部または全部の無断転載・複製はご遠慮ください。