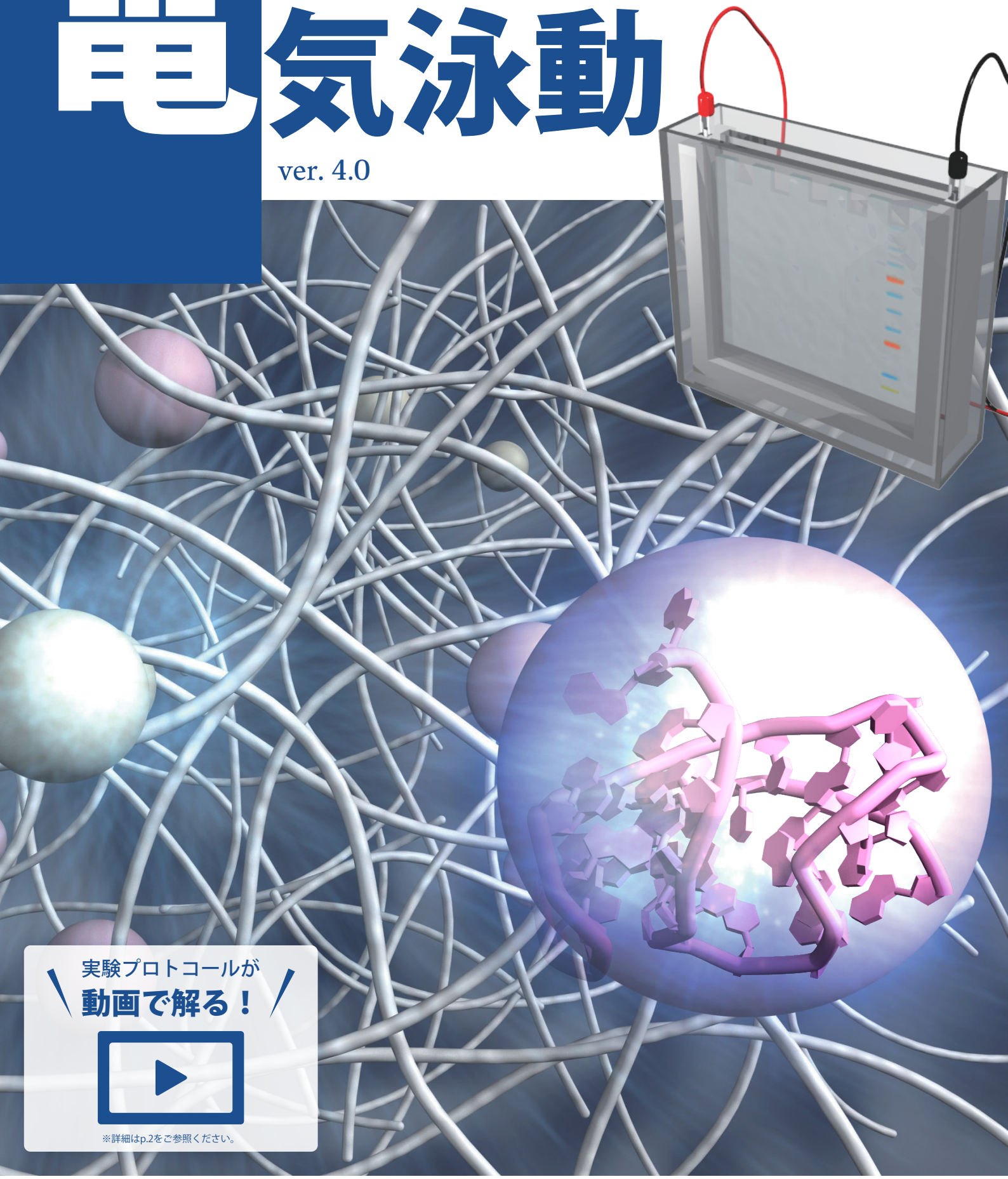
よく解る
実験プロトコール

電気泳動

Electrophoresis

ver. 4.0



実験プロトコールが
動画で解る！

※詳細はp.2をご参照ください。

nacalai tesque
The quality for certainty.

目次

核酸の電気泳動とは …… 6
アガロースゲルとポリアクリルアミドゲルの比較 …… 6
TAE と TBE …… 6
一本鎖 DNA および RNA、環状 DNA の移動度への影響 …… 6

アガロースゲルによる泳動 …… 7
アガロースゲルの濃度と分画範囲 …… 7
非変性アガロースゲル …… 8
実験プロトコール …… 8
実施例　アガロースゲルにおける核酸と色素の泳動 …… 11
変性アガロースゲル …… 11
実験プロトコール …… 11
実施例 1　変性アガロースゲルにおける iPS および心筋細胞抽出 RNA の分離 …… 13
実施例 2　サンプル変性方法と染色性 …… 13

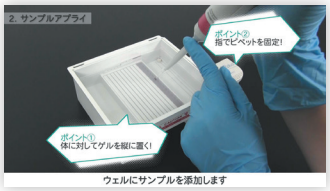
ポリアクリルアミドゲルによる泳動 …… 14
ポリアクリルアミドゲルの濃度と分画範囲 …… 14
非変性ポリアクリルアミドゲル …… 14
実験プロトコール …… 14
実施例　ポリアクリルアミドゲルにおける DNA ラダーの分離 …… 16
変性ポリアクリルアミドゲル …… 17
実験プロトコール …… 17
実施例　変性ポリアクリルアミドゲルによる RNA の分離 …… 19

Bullet PAGE One Precast Gel による高速核酸泳動 …… 20
Bullet PAGE One Precast Gel の濃度と分画範囲 …… 20
実験プロトコール …… 20
実施例　Bullet PAGE One Precast Gel およびアガロースゲルの核酸電気泳動比較 …… 22

ゲルの染色 …… 23
核酸検出方法の比較 …… 23
染色方法の比較 …… 23
Ethidium Bromide による染色 …… 23
実験プロトコール（ポストステイン） …… 23
実験プロトコール（プレステイン） …… 24
実施例　プレステインおよびポストステインの泳動への影響 …… 25
Dual Green Nucleic Acid Stain による染色 …… 26
実験プロトコール（ポストステイン） …… 26
実験プロトコール（プレステイン） …… 26
実施例 1　プレステインおよびポストステインの泳動への影響 …… 28
実施例 2　アガロースゲルにおける他社製品との比較 …… 29
GelRed、GelGreen Nucleic Acid Gel Stain による染色 …… 30
実験プロトコール（ポストステイン） …… 30
実験プロトコール（プレステイン） …… 30
実施例　Ethidium Bromide もしくは他社製品との感度比較 …… 31
Sil-Best Stain-Neo による染色 …… 32
実験プロトコール …… 32
実施例　Ethidium Bromide との感度比較 …… 33

QR コードで動画へアクセス！

動画アイコンを記載しているプロトコールは、実験動画をご視聴いただけます。



▶ 実験のポイントが動画で解る！

実験をより円滑に行うためには**コツ**がいることも。動画内では **TIPS** を多数紹介しています。
動画は**短時間で視聴できる**ので、ちょっとした確認に最適です。

視聴方法　アイコン付きプロトコールの末尾に QR コードを記載しています。
QR コードをクリックするか、スマートフォンなどで読み取ることでアクセスいただけます。

目次

トラブルシューティング ····· 34
1. バンドがスメアになる / ぼやける ····· 35
2. バンドの分離が悪い / おかしい ····· 37
3. シグナルが検出されない / 弱い ····· 38
4. 染色像にムラがある ····· 40
5. アプライでサンプルが沈まない ····· 41
6. アプライ時、サンプルがウェルの裏側に流れていく ····· 41
7. 電気泳動中の異常な発熱 ····· 42

Appendix ····· 43
アガロース　ラインアップ ····· 43
緩衝液の調製方法 ····· 44
DNA Ladder One シリーズ ····· 48
ヌクレアーゼ / 核酸除去試薬　RNase Quiet ····· 49
　使用方法 ····· 49
　確認試験 1　RNase 汚染カバーガラスにおける RNase 除去効果 ····· 49
　確認試験 2　RNase Quiet の RNase および DNase 除去効果 ····· 49
Dispotray ····· 50
　Dispotray の製品比較 ····· 50
　使用方法 ····· 50

目次

タンパク質の電気泳動とは …… 51
タンパク質電気泳動の種類 …… 51
タンパク質電気泳動後の実験 …… 51

SDS-PAGE（自家調製ゲルによる電気泳動） …… 52
タンパク質サンプルの調製 …… 52
ゲル濃度と分離サイズ …… 52
濃縮ゲルと分離ゲル …… 52
グラジエントゲル …… 52
Laemmli 泳動法、および WIDE RANGE Gel と Rapid Running Buffer …… 53
Laemmli 泳動法 …… 53
実験プロトコール …… 53
WIDE RANGE Gel 使用の場合 …… 58
実験プロトコール …… 58
実施例　WIDE RANGE Gel を用いた分析例 …… 59
Rapid Running Buffer 使用の場合 …… 60
実験プロトコール …… 60
実施例　Rapid Running Buffer による泳動後の転写 …… 61

SDS-PAGE（Tris-Tricine 泳動法～低分子分離法～） …… 62
実験プロトコール …… 62
実施例　Tris-Tricine 泳動法による分離例 …… 65

SDS-PAGE（プレキャストゲルによる電気泳動） …… 66
Bullet PAGE One と Extra PAGE One …… 66
実験プロトコール …… 66
実施例 1　他社製品との比較 …… 68
実施例 2　Bullet PAGE One の使用例 …… 70
実施例 3　Extra PAGE One の使用例 …… 72

二次元電気泳動 …… 73
二次元電気泳動の流れ …… 73
等電点電気泳動とは …… 73
プレキャスト IPG ゲル …… 73
実験プロトコール …… 73
実施例 1　WIDE RANGE Gel を使用した二次元電気泳動 …… 75
実施例 2　Rapid Running Buffer を使用した二次元電気泳動 …… 75

ゲルの染色 …… 76
ゲル染色方法の比較 …… 76
CBB 染色 …… 76
CBB 染色液の比較 …… 77
Bullet CBB Stain One
実験プロトコール …… 78
実施例　Bullet CBB Stain One を用いた植物タンパク質の検出 …… 78
CBB Stain One Super
実験プロトコール …… 79
実施例　他社製品との比較 …… 80
銀染色 …… 81
Sil-Best Stain シリーズの比較 …… 81
Sil-Best Stain One
実験プロトコール …… 82
実施例 1　他社製品との比較 …… 83
実施例 2　二次元電気泳動への適用 …… 84
Sil-Best Stain-Neo
実験プロトコール …… 84
実施例　Sil-Best Stain-Neo と CBB 染色の比較 …… 84

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

蛍光染色 …… 85
実験プロトコール …… 85
実施例 1　Lumitein の検出限界 …… 86
実施例 2　Lumitein と CBB 染色法の感度比較 …… 86
ネガティブ染色 …… 87
ネガティブ染色と他染色法の比較 …… 87
実験プロトコール …… 87
実施例 1　ネガティブ染色後のウェスタンブロッティング …… 90
実施例 2　ネガティブ染色後の MS 解析 …… 90

トラブルシューティング …… 91
1. ゲル全体が湾曲する …… 92
2. レーンがゆがむ / 幅が不均一 …… 93
3. レーンに筋が入る …… 94
4. バンドの形がおかしい …… 96
5. バンドがスメアになる / ぼやける …… 97
6. バンドの分離が悪い / おかしい …… 98
7. シグナルが検出されない / 弱い …… 99
8. バックグラウンドが高い …… 101
9. ゲルが固まらない / 固まるのが遅い …… 102
10. ゲルにアリの巣のような気泡が入る …… 102
11. 通電ができない …… 103
12. いつもより泳動時間が速い / 遅い …… 103
13. 電気泳動中の異常な発熱 …… 104

Appendix …… 105
電気泳動パターン …… 105
自家調製ゲル …… 105
プレキャストゲル …… 106
緩衝液の調製方法 …… 107
タンパク質マーカーについて …… 112
タンパク質マーカーの比較 …… 112
サンプルの濃縮・妨害物質除去試薬　PAGE Clean Up Kit …… 113
実験プロトコール …… 113
実施例 1　タンパク質濃縮（SDS-PAGE） …… 113
実施例 2　分析妨害物質の除去（SDS-PAGE） …… 114
実施例 3　二次元電気泳動における実施例 …… 114
His-tag 融合タンパク質用染色液　His-Detect In-Gel Stain …… 115
実験プロトコール …… 115
実施例　His-Detect In-Gel Stain とウェスタンブロッティングの比較 …… 115
銀染色時の銀除去キット　Sil-Best Destain Kit …… 116
実験プロトコール（銀染色後のバンドからの銀の除去） …… 116
実施例　Sil-Best Destain Kit を用いた MS 適用例 …… 116
実験プロトコール（過剰な染色像からの最適化） …… 117
実施例　過剰な銀染色改善例 …… 117
タンパク質抽出試薬　RIPA Buffer …… 118
RIPA Buffer の製品比較 …… 118
実施例 1　RIPA Buffer を用いて抽出した細胞懸濁液のウェスタンブロッティング …… 118
実施例 2　RIPA Buffer(10x) を用いて抽出したタンパク質溶液のウェスタンブロッティング …… 119
実施例 3　RIPA Buffer(10x) を用いて抽出したタンパク質溶液の免疫沈降 …… 119
プロテインアッセイシリーズ …… 120
プロテインアッセイシリーズの特徴比較 …… 120
プロテインアッセイセレクションガイド …… 121
ゲルの保存　BioDesignGelWrap を用いたゲルの乾燥・保存 …… 122
実験プロトコール …… 122
ゲルの保存　アクリルアミドゲル割れ防止液を用いたゲルの保存 …… 123
実験プロトコール …… 123

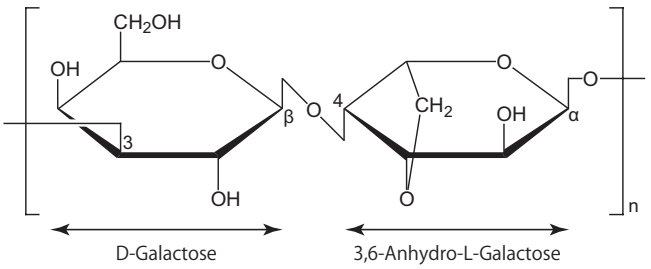
核酸の電気泳動とは

核酸の電気泳動とは、核酸を鎖長により分離させる手法です。アガロースゲルやポリアクリルアミドゲルといった網目構造を形成した支持体中で DNA や RNA を電気泳動させることにより、鎖長で分離します。

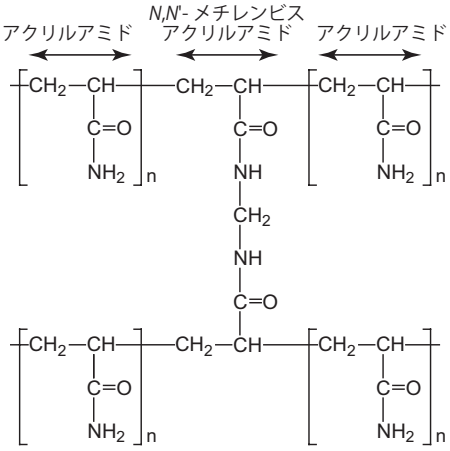
アガロースゲルとポリアクリルアミドゲルの比較

	アガロースゲル	ポリアクリルアミドゲル
由来	寒天からアガロペクチンを除去して精製された中性多糖	アクリルアミドとビスアクリルアミドの架橋ポリマー
ゲルの作製方法	溶解と凝固。可逆的	化学反応（重合反応）。不可逆的
危険性	毒性はない	重合前のアクリルアミドは毒性が高い
使用濃度	0.5 ～ 4.5%	3.5 ～ 20%
主な分離範囲	中分子～高分子（50 bp ～）	低分子（6 bp ～ 2,000 bp 程度）

アガロースの基本構造



ポリアクリルアミドゲルの基本構造



TAE と TBE

核酸の電気泳動には、TAE（Tris-Acetate-EDTA）緩衝液および TBE（Tris-Borate-EDTA）緩衝液が、ゲル緩衝液や泳動用緩衝液として使用されます。TAE 緩衝液は長い核酸の分離に、TBE 緩衝液は短い核酸の分離に適しています。

一本鎖 DNA および RNA、環状 DNA の移動度への影響

一本鎖 DNA や RNA は立体構造、塩基の組成などが移動度へ影響します。これらファクターをキャンセルし分子の鎖長で分離するため、変性ゲルが使用されます。
また、プラスミドの場合、同じ DNA 配列でも、閉環状（Closed circular; form Ⅰ）、開環状（Open circular; form Ⅱ）、直鎖状（Linear; form Ⅲ）で移動度が異なります。

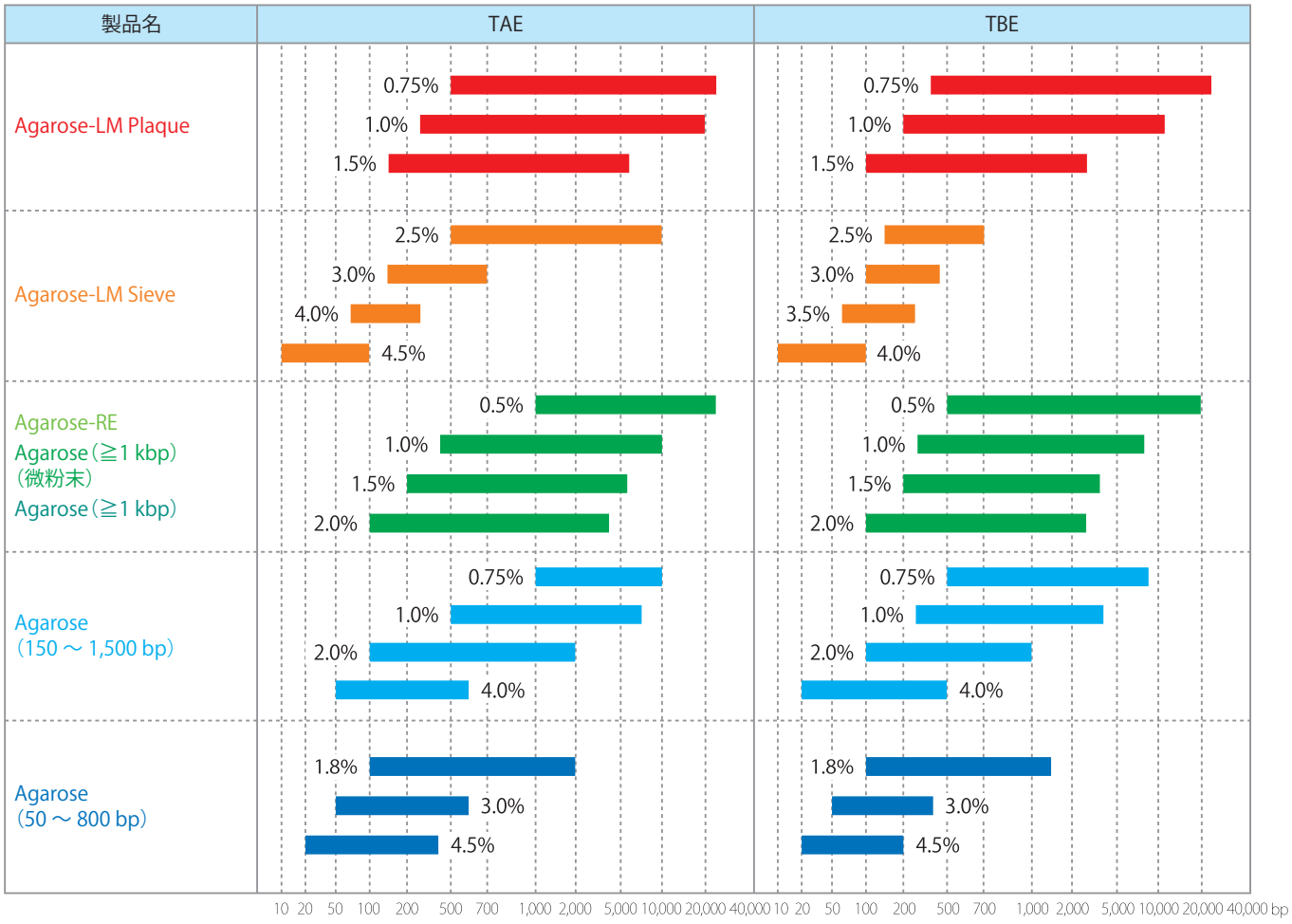
動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

アガロースゲルによる泳動

アガロースゲルによる泳動は、支持体であるアガロースの毒性が低く、そのゲル作製過程も溶解 / 凝固と簡便であるため、核酸電気泳動において主流となっています。
一本鎖 DNA や RNA を分離する場合は、ホルマリンを含む変性ゲルが使用されます。

アガロースゲルの濃度と分画範囲

弊社より販売の各種アガロースについて推奨濃度と分画範囲を示します。アガロース製品のラインアップについては、p.43 をご参照ください。



アガロースゲルによる泳動

非変性アガロースゲル

実験プロトコール

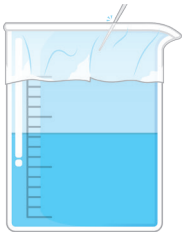
1. アガロースゲルの作製

簡便なゲル作製法として、電子レンジを利用した方法があります。本プロトコールでは、電子レンジを用いた、1% アガロースゲル（TAE 1 ×）100 mL 分の作製方法を紹介します。

① 使用する緩衝液の 2 ～ 6 倍容量のビーカーにスターラーバーを入れます。

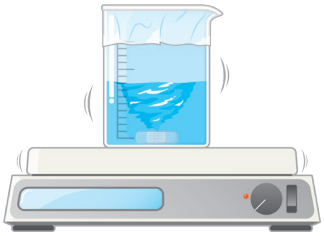
② ビーカーにアガロース 1 g を量り取り、TAE 緩衝液（1 ×）100 mL を注ぎます。

③ プラスチック製ラップフィルムでビーカーの上部を覆います。針などで蒸気抜きの穴を 10 カ所程度開けます。



④ てんびんでスターラーバー、アガロース、緩衝液の入ったビーカーの総重量を測定し記録します。

⑤ ビーカーをスターラーにのせ、アガロース粉末が緩衝液内で、できるだけ均等に懸濁するように攪拌します。



⑥ 電子レンジ（定格高周波出力：400 ～ 500 W）で、50 ～ 55 秒程度温めます。

⑦ 断熱性の手袋などを着用して、電子レンジからビーカーを出し、スターラーで 3 ～ 5 分程度攪拌します。

⑧ 再度電子レンジで、15 ～ 20 秒程度温めます。

⑨ ⑦の操作と同様にして、3 ～ 5 分程度攪拌します。

⑩ 緩衝液中のアガロースが完全に溶解するまで、上記⑧と⑨の操作を繰り返します。

▶ アガロース　ラインアップ
→ p.43 参照

トリス - 酢酸 -EDTA 緩衝原液
(10 倍濃縮)
(#35430-61)

Nacalai オンラインカタログへ

トリス - 酢酸 -EDTA 緩衝原液
(50 倍濃縮)
(#32666-81)

Nacalai オンラインカタログへ

トリス -ほう酸 -EDTA緩衝原液
(10倍濃縮)
(#35440-31)

Nacalai オンラインカタログへ

トリス -ほう酸 -EDTA緩衝原液
(5倍濃縮)
(#35432-41)

Nacalai オンラインカタログへ

▶ TAE 緩衝液（10 ×）の調製方法
→ p.44 参照

▶ 電子レンジによる加温時は吹きこぼれにご注意ください。また、加温時間は使用アガロースの種類、濃度、容量、電子レンジの機種により異なります。液の様子をよく見て判断してください。

▶ 加温後のビーカーは熱くなっています。火傷にご注意ください。

▶ 左記の条件で溶解しない場合は、加温時間や攪拌回数を増やしてください。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

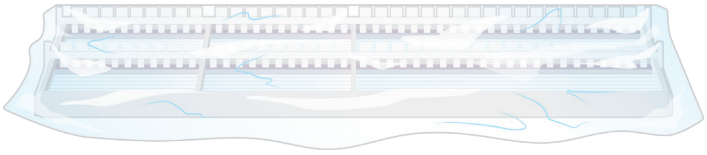
アガロースゲルによる泳動

⑪ プラスチック製ラップフィルムを取り除いて、80 ～ 90℃ の温水で、加温により蒸発した水分を、④の操作で測定した重量まで補います。

⑫ さらに、プラスチック製ラップフィルムでビーカーの上部を覆い、約 65℃ になるまで攪拌します。

⑬ ゲル作製用フレームに溶解したアガロースを流し込み、コームをセットします（ゲルの厚さが 3 ～ 4 mm 程度となるように流し込むアガロース量を調節してください）。

⑭ アガロースが固化するまで、冷やします。



2. 泳動用サンプルの調製

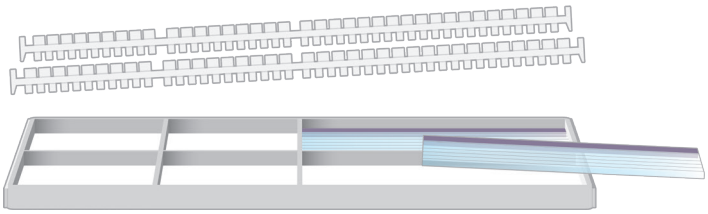
核酸サンプルと Loading Dye Brilliant Color(6x) を容量比 5：1 で混合します。

3. 泳動用緩衝液（TAE 1 ×）の作製

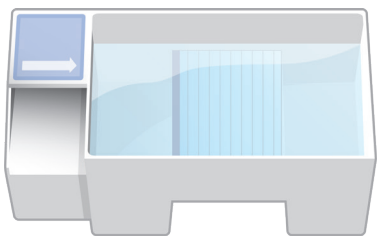
TAE 緩衝液（10 ×）と精製水を容量比 1：9 で混合します。

4. 泳動

① 作製したアガロースゲルからコームを静かに抜き取り、ゲル作製用フレームからアガロースゲルをトレイごと取り出します。



② アガロースゲル用電気泳動槽へセットし、泳動用緩衝液をアガロースゲル上面の 1 ～ 3 mm 上まで加えます。



▶ 核酸染色液含有のアガロースゲルを作製する場合は、アガロースが溶解し均一になった溶液に核酸染色液を添加してください。

- Ethidium Bromide → p.24 参照
- Dual Green Nucleic Acid Stain → p.26 参照
- GelRed、GelGreen → p.30 参照

▶ 溶解したアガロースを熱いままゲル作製用フレームに流し込むと、ゲル作製用フレームがゆがむ可能性がありますのでご注意ください。

▶ 低融点アガロースを溶解する場合、細かな気泡がゲル作製を妨害することがあります。超音波洗浄機で 2 ～ 3 分処理することで、気泡は液面に集まります。気泡をスパーテルなどで除去してから、ゲル作製用フレームにアガロースを注いでください。

Loading Dye Brilliant Color(6x)
(#11943-91)

Nacalai オンラインカタログへ

▶ Loading Dye（6 ×）の調製方法 → p.45 参照

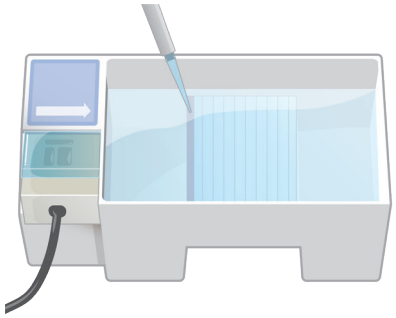
▶ 泳動用緩衝液はアガロース作製に使用した緩衝液と同一のものをご使用ください。

▶ フレームへ少量の精製水もしくは泳動用緩衝液を添加しコーム部分をぬらしておくと、スムーズに抜くことができます。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

アガロースゲルによる泳動

③ 泳動用サンプルを各ウェルへ静かに添加します。



④ 50 もしくは 100 V の電圧で、Loading Dye に含有される色素を目安に泳動してください。

表. アガロースゲルにおける Loading Dye Brilliant Color に含有される色素の移動度と DNA サイズの目安

TAE 緩衝液(1 ×)		
アガロース濃度	BPB*(青紫色)バンド	赤色バンド
4%	50 bp	< 25 bp
2%	250 bp	< 50 bp
1%	650 bp	< 100 bp
0.7%	1,200 bp	< 100 bp

TBE 緩衝液(1 ×)		
アガロース濃度	BPB*(青紫色)バンド	赤色バンド
4%	25 bp	< 25 bp
2%	150 bp	< 50 bp
1%	500 bp	< 100 bp

* Bromophenol Blue

＼動画はこちら！／

アガロースゲル泳動方法

100bp DNA Ladder One (Ready To Use) (#07908-75)

Nacalai オンラインカタログへ

DNA Ladder One(Broad Range) (Ready To Use) (#08362-85)

Nacalai オンラインカタログへ

1kbp DNA Ladder One (Ready To Use) (#08232-85)

Nacalai オンラインカタログへ

▶ DNA Ladder One シリーズの分離パターン → p.48 参照

▶ 核酸および Loading Dye に含有される色素の移動度はゲルの濃度や緩衝液の種類により異なります。

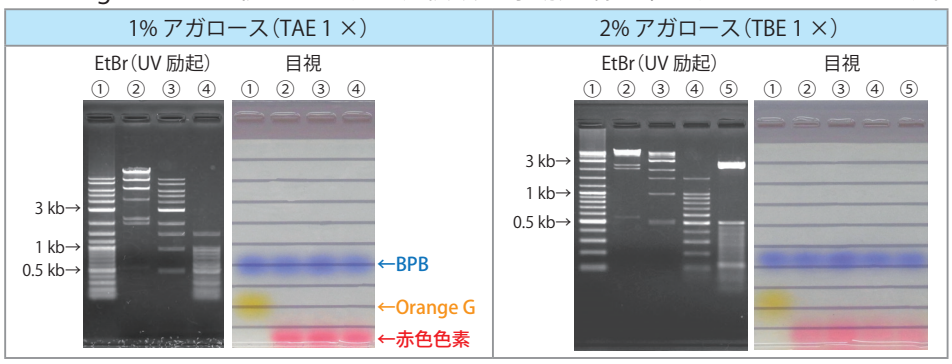
▶ DNA Ladder One シリーズには BPB(青紫色)と Orange G(黄色)が含有されています。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

アガロースゲルによる泳動

実施例　アガロースゲルにおける核酸と色素の泳動

1%（TAE 1 ×）および 2%（TBE 1 ×）アガロースゲルにて DNA サンプルを泳動、検出しました。レーン①は DNA Ladder One(Broad Range) にプレミックスされている BPB（青紫色）、Orange G（黄色）が目視にて確認されます。一方、レーン②～⑤は、Loading Dye Brilliant Color に含有される BPB（青紫色）および赤色色素が目視にて確認されます。Loading Dye Brilliant Color に含有される赤色色素は Orange G よりも視認しやすく、核酸の泳動先端を確認することができます。



＜実験条件＞

サンプル　：① DNA Ladder One(Broad Range)(Ready To Use)（#08362-85）5 µL
② λ/*Hind* III digest（東洋紡 #DNA-010）0.2 µg
③ 1 kb DNA Ladder（ニュー・イングランド・バイオラボ #N3232S）0.05 µg
④ 100bp DNA Ladder（東洋紡 #DNA-035）0.1 µg
⑤ 25 bp DNA Ladder（GIBCO #10597-011）0.5 µg
（②～⑤は Loading Dye Brilliant Color(6x)（#11943-91）を用いてサンプル調製）

ゲル　：1%（TAE 1 ×）もしくは 2%（TBE 1 ×）アガロースゲル（アガロースは #01163 を使用）

泳動用緩衝液：トリス - 酢酸 -EDTA 緩衝原液（#35430）、トリス - ほう酸 -EDTA 緩衝原液（#35440）をそれぞれ 1 × に調製

泳動　：100 V

染色　：Ethidium Bromide

変性アガロースゲル

実験プロトコール

RNA などの一本鎖核酸は分子内において水素結合による二次構造をとる場合が多くあります。そのため、このような一本鎖核酸を鎖長により分離する場合は、ホルマリンを含有した変性アガロースゲルが使用されます。

1. アガロースゲルの作製

本プロトコールでは、2.2 M ホルムアルデヒド含有 1.5% アガロースゲル 100 mL 分の作製方法を紹介します。本ゲルにより 0.5 ～ 8 k bases RNA の分離が可能です。

① 使用する緩衝液の 2 ～ 6 倍容量のビーカーにスターラーバーを入れます。

② ビーカーにアガロース 1.5 g を量り取り、精製水 72 mL を注ぎます。

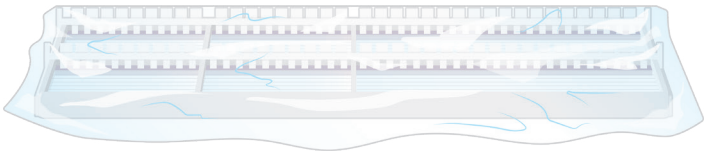
③ p.8「アガロースゲルによる泳動　非変性アガロース　実験プロトコール 1. アガロースゲルの作製③～⑪」を参考に、アガロースを精製水へ加温溶解させます。

④ 溶解したアガロース溶液に MOPS 緩衝液（10 ×）10 mL を注ぎ、混合します。

⑤ ④の溶液が 55℃ 程度まで下がったら、ホルムアルデヒド液 18 mL を注ぎ、混合します。

⑥ ゲル作製用フレームに⑤を流し込み、コームをセットします。

⑦ アガロースが固化するまで冷やします。



▶ アガロース　ラインアップ
→ p.43 参照

MOPS 緩衝原液 (10 倍濃縮)
(pH 7.0), DEPC 処理済
(#23442-81)

Nacalai オンラインカタログへ

▶ MOPS 緩衝液（10 ×）の調製方法 → p.45 参照

▶ ホルムアルデヒド液は揮発性が高く、吸入すると危険です。本操作は局所排気フード内で実施してください。

ホルムアルデヒド液
(#16223-55)

Nacalai オンラインカタログへ

アガロースゲルによる泳動

2. 泳動用サンプルの調製

① 核酸サンプルと変性ゲル Loading Dye を容量比 1：1 以上で混合します。

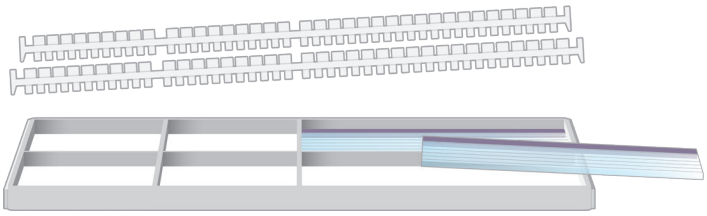
② 55 ～ 85℃ で 3 ～ 60 分加温後、氷中にて冷却します。

3. 泳動用緩衝液（MOPS 緩衝液 1 ×）の作製

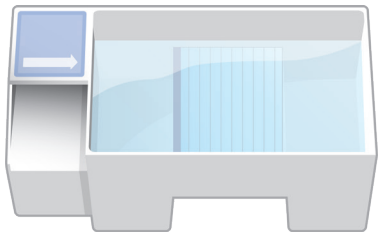
MOPS 緩衝液（10 ×）と精製水を容量比 1：9 で混合します。

4. 泳動

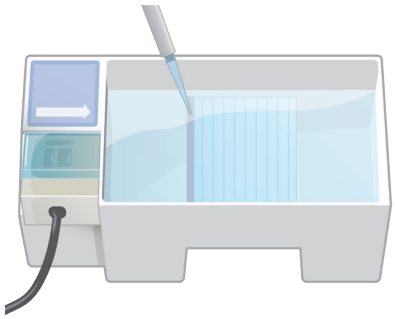
① 作製したアガロースゲルからコームを静かに抜き取り、ゲル作製用フレームからアガロースゲルをトレイごと取り出します。



② アガロースゲル用電気泳動槽へセットし、泳動用緩衝液をアガロースゲル上面の 1 ～ 3 mm 上まで加えます。



③ 泳動用サンプルを各ウェルへ静かに添加します。



④ 50 V の電圧で、サンプルに含まれる色素を目安に泳動します。

▶ 変性ゲル Loading Dye の調製方法 → p.46 参照

▶ 本プロトコールではホルムアミドのみでサンプルを変性させる方法を紹介しています。より強く変性させる場合は、サンプルにさらにホルムアルデヒドを添加してください。ただし、ホルムアルデヒドでサンプルを変性させた場合、核酸の染色性が著しく低下します。p.13「実施例 2 サンプル変性方法と染色性」をご参照ください。

MOPS 緩衝原液 (10 倍濃縮)
(pH 7.0), DEPC 処理済
(#23442-81)

Nacalai オンラインカタログへ

▶ MOPS 緩衝液（10 ×）の調製方法 → p.45 参照

▶ フレームへ少量の精製水もしくは泳動用緩衝液を添加しコーム部分をぬらしておくと、スムーズに抜くことができます。

▶ 電圧を上げると、バンドがゆがんだり、ゲル内にポツポツとした気泡が発生しやすくなったりします。

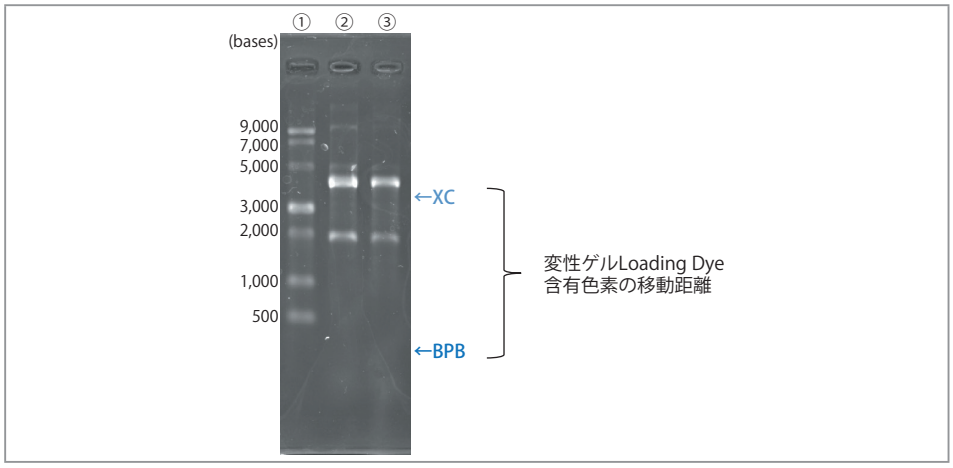
▶ 泳動時間や色素の移動度については、p.13「実施例 1 変性アガロースゲルにおける iPS および心筋細胞抽出 RNA の分離」をご参照ください。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

アガロースゲルによる泳動

実施例 1　変性アガロースゲルにおける iPS および心筋細胞抽出 RNA の分離

変性アガロースを用いて、RNA ラダーと iPS 細胞および心筋細胞抽出 RNA の分離を行い、Dual Green Nucleic Acid Stain で検出を行いました。

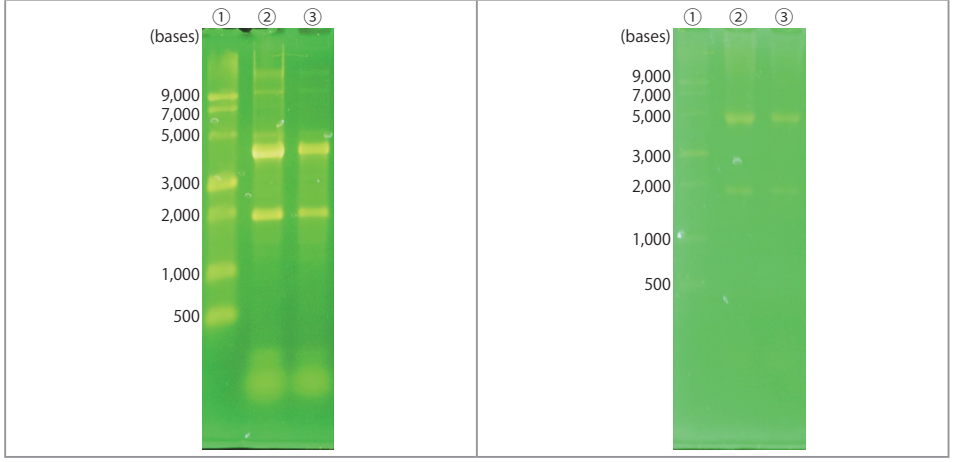


＜実験条件＞
サンプル　：① ssRNA Ladder（ニュー・イングランド・バイオラボ #N0362S）2 µL、
② iPS 細胞抽出 RNA 0.4 µg、③ 心筋細胞抽出 RNA 0.4 µg
ゲル　：ホルムアルデヒド含有 1.5% アガロースゲル（MOPS 1 ×）（アガロースは #01163 を使用）
泳動用緩衝液：MOPS 緩衝原液 (10 倍濃縮)(pH 7.0), DEPC 処理済（#23442-81）を 1 ×に調製
泳動　：50 V　BPB がゲルの 3/4 程度になるまで 80 分泳動
染色　：Dual Green Nucleic Acid Stain（#20599-41）10,000 倍希釈　30 分振とう後、精製水にて 30 分脱色
検出　：ChemiDoc Touch MP（バイオ・ラッド ラボラトリーズ）（露光時間は AUTO にて検出）
UV 励起　SYBR® Green モード（UV 透過、590 / 110 nm スタンダードフィルターで検出）
SYBR® はモレキュラー プローブス, インコーポレイテッドの登録商標です。

実施例 2　サンプル変性方法と染色性

変性アガロースを用いて RNA ラダーと iPS 細胞および心筋細胞抽出 RNA の分離を行い、SYBR® Green II を用いて検出を行いました。ホルムアルデヒドとホルムアミドで変性させたサンプルは、変性ゲル Loading Dye（ホルムアミド変性）で変性させたサンプルと比べ移動度が遅くなり、染色性の低下も認められました。

ホルムアミド変性（変性ゲル Loading Dye）	ホルムアルデヒド＋ホルムアミド変性



＜実験条件＞
サンプル　：① ssRNA Ladder（ニュー・イングランド・バイオラボ #N0362S）2 µL、
② iPS 細胞抽出 RNA 0.4 µg、③ 心筋細胞抽出 RNA 0.4 µg
ゲル　：ホルムアルデヒド含有 1.5% アガロースゲル（MOPS 1 ×）（アガロースは #01163 を使用）
泳動用緩衝液：MOPS 緩衝原液 (10 倍濃縮)(pH 7.0), DEPC 処理済（#23442-81）を 1 ×に調製
泳動　：50 V　BPB がゲルの 3/4 程度になるまで 80 分泳動
染色　：SYBR® Green II（サーモフィッシャーサイエンティフィック #S32717）10,000 倍希釈　30 分振とう
検出　：Blue/Green LED イルミネーター（日本ジェネティクス #LB-16BG）にて励起
SYBR® Photographic Filter（サーモフィッシャーサイエンティフィック #S7569）を用いて検出
デジタルカメラ（RICOH #CX4）にて撮影
SYBR® はモレキュラー プローブス, インコーポレイテッドの登録商標です。

Dual Green Nucleic Acid Stain
（#20599-41）

Nacalai オンラインカタログへ

ポリアクリルアミドゲルによる泳動

ポリアクリルアミドゲルによる泳動はアガロースゲルに比べ鎖長が短い核酸の分離に向いています。一本鎖 DNA や RNA を分離する場合は、尿素などを含む変性ゲルが使用されます。

ポリアクリルアミドゲルの濃度と分画範囲 [1] p.19 参照

ポリアクリルアミドゲル濃度（(w/v)%）	分離可能な二本鎖 DNA の長さの範囲（bp）
3.5	1,000 ～ 2,000
5.0	80 ～ 500
8.0	60 ～ 400
12.0	40 ～ 200
20.0	6 ～ 100

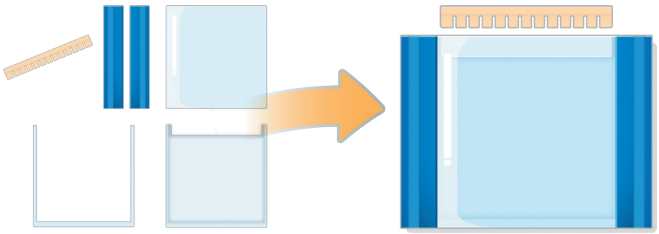
非変性ポリアクリルアミドゲル

実験プロトコール

本プロトコールでは、ポリアクリルアミドゲル（TBE 1 ×）20 mL 分の作製方法を紹介します。

1. ポリアクリルアミドゲルの作製

① ゲルフレームを組み立てます。

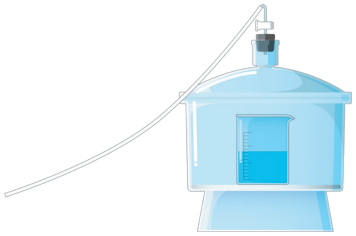


② 試薬を、下表の割合で混合します。

表. 20 mL のゲルを作製する場合の各試薬の容量（単位：mL）

ポリアクリルアミドゲル濃度（%）	3.5	5	8	12	20
40(w/v)%- アクリルアミド/ ビス混合液 (19:1)	1.75	2.5	4	6	10
トリス - ほう酸 -EDTA 緩衝原液（10 倍濃縮）	2	2	2	2	2
10(w/v)%- ペルオキソ二硫酸アンモニウム溶液（10% APS）	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
精製水	16.12	15.37	13.87	11.87	7.87

③ 吸引できるデシケーターに入れ、5 ～ 10 分減圧し、脱気します。この操作が十分でないと、ゲルの固化に時間を要したり、ウェルが形成しにくかったりする場合があります（アクリルアミドの重合を妨害する溶存酸素を除去します）。



40(w/v)%- アクリルアミド / ビス混合液 (19:1)
（#06140-45）

Nacalai オンラインカタログへ

▶ 40% アクリルアミド / ビス溶液（19:1）の調製方法 → p.46 参照

30(w/v)%- アクリルアミド / ビス混合液 (19:1)
（#07175-75）

Nacalai オンラインカタログへ

トリス -ほう酸 -EDTA緩衝原液
(10倍濃縮)
（#35440-31）

Nacalai オンラインカタログへ

▶ TBE 緩衝液（5 ×）の調製方法 → p.44 参照

10(w/v)%-ペルオキソ二硫酸アンモニウム溶液
（#02634-34）

Nacalai オンラインカタログへ

▶ 10% APS の調製方法 → p.108 参照

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

ポリアクリルアミドゲルによる泳動

④ *N,N,N',N'*- テトラメチルエチレンジアミン(TEMED)を添加し、攪拌します。
攪拌後は、速やかに⑤へ進んでください。

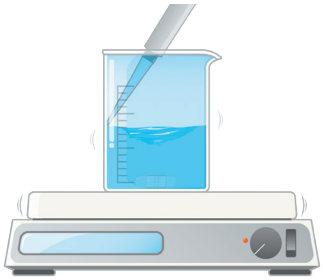
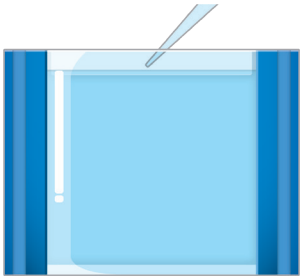


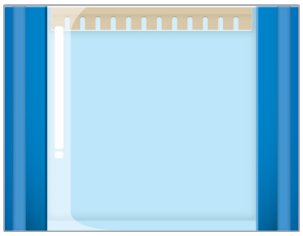
表. TEMED 添加量

	ゲル容量 20 mL
N,N,N',N'- テトラメチルエチレンジアミン(TEMED)	12 µL

⑤ ゲルフレームへ溶液を流し込みます。



⑥ コームをガラスプレートの間に挿し込みます。



⑦ 1 ～ 2 時間程度、静置し固化させます。

2. 泳動用サンプルの調製

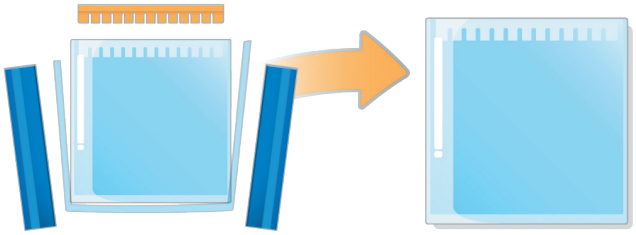
核酸サンプルと Loading Dye(6 ×)を容量比 5：1 で混合します。

3. 泳動用緩衝液(TBE 緩衝液(1 ×))の作製

TBE 緩衝液(10 ×)と精製水を容量比 1：9 で混合します。

4. 泳動

① 作製したポリアクリルアミドゲルからコームを静かに抜き取り、クリップなどの付属品を外します。



② ポリアクリルアミドゲル用電気泳動槽へセットし、泳動用緩衝液を加えます。

▶ TEMED を添加後は、アクリルアミドのゲル化が加速します。できるだけ早くゲルフレームに流し込んでください。

N,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミン
(#33401-72)

Nacalai オンラインカタログへ

▶ コームの先に気泡が入らないように斜めから挿入してください。

▶ 余った溶液がゲル化していることをご確認ください。

▶ Loading Dye(6 ×)の調製方法
→ p.45 参照

▶ Loading Dye Brilliant Color(6x)もご使用いただけますが、本製品に含有される赤色色素はアガロースゲル泳動時とは異なった挙動を示します。p.16「実施例 ポリアクリルアミドゲルにおけるDNA ラダーの分離」をご参照ください。

▶ 泳動用緩衝液はポリアクリルアミドゲル作製に使用した緩衝液と同一のものをご使用ください。

トリス -ほう酸 -EDTA緩衝原液
(10倍濃縮)
(#35440-31)

Nacalai オンラインカタログへ

トリス -ほう酸 -EDTA緩衝原液
(5倍濃縮)
(#35432-41)

Nacalai オンラインカタログへ

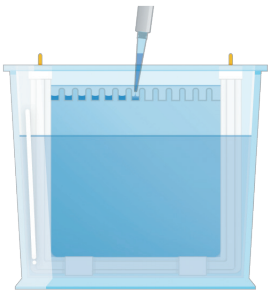
▶ TBE 緩衝液(5 ×)の調製方法
→ p.44 参照

▶ ゲルの下端に気泡が入らないようご注意ください。

▶ ウェルを洗浄し、未反応のアクリルアミドを除去してください。

ポリアクリルアミドゲルによる泳動

③ 泳動用サンプルを各ウェルへ静かに添加します。



④ 100 ～ 200 V の電圧で、Loading Dye に含有される色素を目安に泳動します。

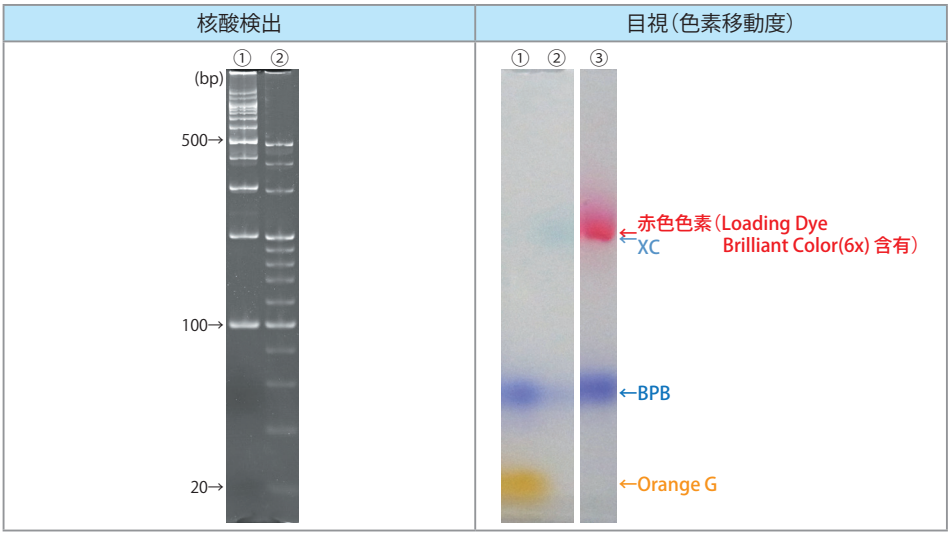
表. ポリアクリルアミドゲルにおける BPB* の移動度と DNA サイズの目安 1) p.19 参照

ポリアクリルアミドゲル濃度（(w/v)%）	BPB*（青紫色）バンド（bp）
3.5	100
5.0	65
8.0	45
12.0	20
20.0	12

* Bromophenol Blue

実施例　ポリアクリルアミドゲルにおける DNA ラダーの分離

5% ポリアクリルアミドゲルを用いて、DNA ラダーの分離を行い、Dual Green Nucleic Acid Stain で検出を行いました。ポリアクリルアミドゲルは短い鎖長の DNA 分離に向いています。



＜実験条件＞

サンプル　：① 100bp DNA Ladder One(Ready To Use)（#07908-75）3 µL
　② 20 bp DNA Ladder（タカラバイオ #3409A）3 µL
　③ TE 緩衝液と Loading Dye Brilliant Color(6x)（#11943-91）を容量比 5:1 で混合したサンプル 6 µL
ゲル　：5% ポリアクリルアミドゲル（TBE 1 ×）
泳動用緩衝液：トリス - ほう酸 -EDTA 緩衝原液（#35440）を 1 ×に調製
泳動　：100 V 定電圧 56 分
染色　：Dual Green Nucleic Acid Stain（#20599-41）10,000 倍希釈　15 分振とう
検出　：ChemiDoc Touch MP（バイオ・ラッド ラボラトリーズ）（露光時間は AUTO にて検出）
　Blue LED 励起　Alexa Fluor® 488 モード（Blue 落射、532 / 28 nm フィルターで検出）

Alexa Fluor® はモレキュラー プローブス, インコーポレイテッドの登録商標です。

100bp DNA Ladder One
(Ready To Use)
(#07908-75)

Nacalai オンラインカタログへ

DNA Ladder One(Broad Range)
(Ready To Use)
(#08362-85)

Nacalai オンラインカタログへ

1kbp DNA Ladder One
(Ready To Use)
(#08232-85)

Nacalai オンラインカタログへ

▶ DNA Ladder One シリーズの分離パターン → p.48 参照

▶ 核酸および Loading Dye に含有される色素の移動度はゲルの組成、濃度および緩衝液の種類により異なります。鎖長が分かっているマーカーなどで色素と核酸の泳動目安をあらかじめ検討してください。

▶ Loading Dye Brilliant Color(6x) に含有される赤色色素は、アガロースゲル泳動時とは異なった挙動を示します。

▶ Loading Dye Brilliant Color(6x) には BPB（青紫色）と赤色色素、DNA Ladder One シリーズには BPB（青紫色）と Orange G（黄色）が含有されています。

Dual Green Nucleic Acid Stain
(#20599-41)

Nacalai オンラインカタログへ

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

ポリアクリルアミドゲルによる泳動

変性ポリアクリルアミドゲル

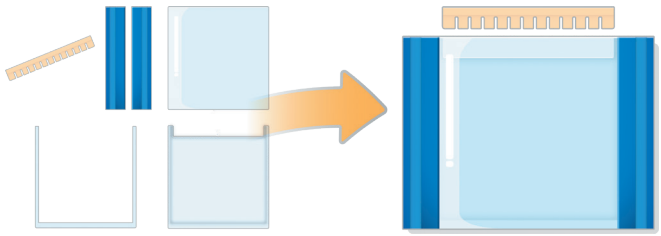
実験プロトコール

RNA などの一本鎖核酸は分子内において水素結合による二次構造をとる場合が多くあります。そのため、このような一本鎖核酸を鎖長により分離する場合は、尿素を含有した変性ポリアクリルアミドゲルが使用されます。

1. ポリアクリルアミドゲルの作製

本プロトコールでは、8 M 尿素含有ポリアクリルアミドゲル（TBE 0.5 ×）20 mL 分の作製方法を紹介します。

① ゲルフレームを組み立てます。

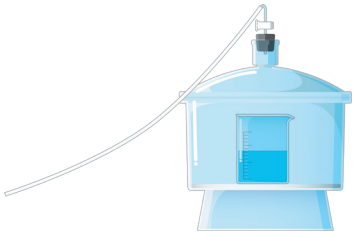


② 下表の割合で試薬を混合後、尿素 9.6 g を添加、溶解させます。その後、精製水を用いて 20 mL にします。

表. 20 mL のゲルを作製する場合の各試薬の容量（単位：mL）

ポリアクリルアミドゲル濃度（%）	3.5	5	8	12	20
40(w/v)%- アクリルアミド/ ビス混合液 (19:1)	1.75	2.5	4	6	10
トリス - ほう酸 -EDTA 緩衝原液（10 倍濃縮）	1	1	1	1	1
10(w/v)%- ペルオキソ二硫酸アンモニウム溶液（10% APS）	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12

③ 吸引できるデシケーターに入れ、5 ～ 10 分減圧し、脱気します。この操作が十分でないと、ゲルの固化に時間を要したり、ウェルが形成しにくかったりする場合があります（アクリルアミドの重合を妨害する溶存酸素を除去します）。



④ *N,N,N',N'*- テトラメチルエチレンジアミン（TEMED）を添加し、攪拌します。攪拌後は、速やかに⑤へ進んでください。

表. TEMED 添加量

	ゲル容量 20 mL
N,N,N',N'- テトラメチルエチレンジアミン（TEMED）	12 µL

40(w/v)%- アクリルアミド / ビス混合液 (19:1)
（#06140-45）
Nacalai オンラインカタログへ

▶ 40 %アクリルアミド / ビス溶液（19:1）の調製方法 → p.46 参照

30(w/v)%- アクリルアミド / ビス混合液 (19:1)
（#07175-75）
Nacalai オンラインカタログへ

トリス -ほう酸 -EDTA緩衝原液 (10倍濃縮)
（#35440-31）
Nacalai オンラインカタログへ

▶ TBE 緩衝液（5 ×）の調製方法 → p.44 参照

10(w/v)%-ペルオキソ二硫酸アンモニウム溶液
（#02634-34）
Nacalai オンラインカタログへ

▶ 10% APS の調製方法 → p.108 参照

尿素
（#35940-65）
Nacalai オンラインカタログへ

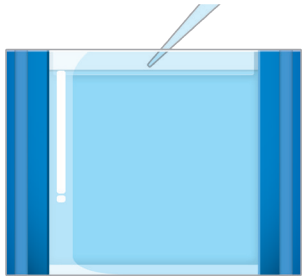
▶ 尿素を添加した場合、ゲル溶液を 0.45 µm のフィルターで処理することをお薦めします。

▶ TEMED を添加後は、アクリルアミドのゲル化が加速します。できるだけ早くゲルフレームに流し込んでください。

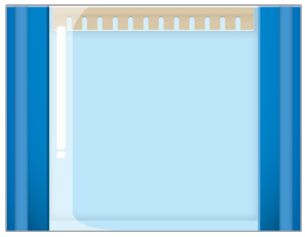
N,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミン
（#33401-72）
Nacalai オンラインカタログへ

ポリアクリルアミドゲルによる泳動

⑤ ゲルフレームへ、溶液を流し込みます。



⑥ コームをガラスプレートの間に挿し込みます。



⑦ 1 ～ 2 時間程度、静置し固化させます。

2. 泳動用サンプルの調製

① 核酸サンプルと変性ゲル Loading Dye を容量比 1：1 以上で混合します。

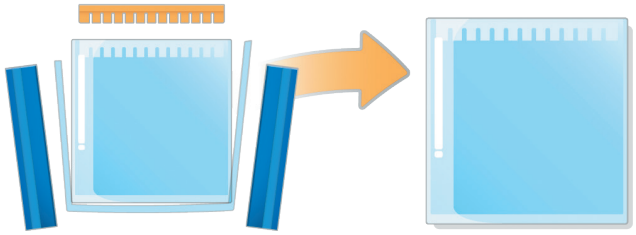
② 55 ～ 85℃ で 3 ～ 60 分加温後、氷中にて冷却します。

3. 泳動用緩衝液（TBE 緩衝液（0.5 ×））の作製

TBE 緩衝液（10 ×）と精製水を容量比 1：19 で混合します。

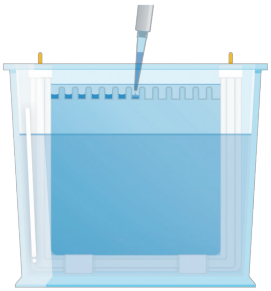
4. 泳動

① 作製したポリアクリルアミドゲルからコームを静かに抜き取り、クリップなどの付属品を外します。



② ポリアクリルアミドゲル用電気泳動槽へセットし、泳動用緩衝液を加えます。

③ 泳動用サンプルを各ウェルへ静かに添加します。



④ 100 ～ 200 V の電圧で、Loading Dye に含有される色素を目安に泳動します。

▶ コームの先に気泡が入らないように斜めから挿入してください。

▶ 余った溶液がゲル化していることをご確認ください。

▶ 尿素含有変性ゲルの場合は、ゲル作製後すぐにご使用ください。冷蔵保存などにより尿素が析出し、分離を阻害する場合があります。

▶ 変性ゲル Loading Dye の調製方法 → p.46 参照

▶ 尿素を用いた変性方法もあります。8 M となるように尿素をサンプルに添加し、左記のように加温後、氷冷します。

▶ 泳動用緩衝液はポリアクリルアミドゲル作製に使用した緩衝液と同一のものをご使用ください。

トリス -ほう酸 -EDTA緩衝原液
（10倍濃縮 ）
（#35440-31）

Nacalai オンラインカタログへ

トリス -ほう酸 -EDTA緩衝原液
（5倍濃縮 ）
（#35432-41）

Nacalai オンラインカタログへ

▶ TBE 緩衝液（5 ×）の調製方法 → p.44 参照

▶ ゲルの下端に気泡が入らないようご注意ください。

▶ ウェルを洗浄し、未反応のアクリルアミドや尿素を除去してください。

▶ 泳動時間や色素の移動度については p.19「実施例 変性ポリアクリルアミドゲルによる RNA の分離」をご参照ください。

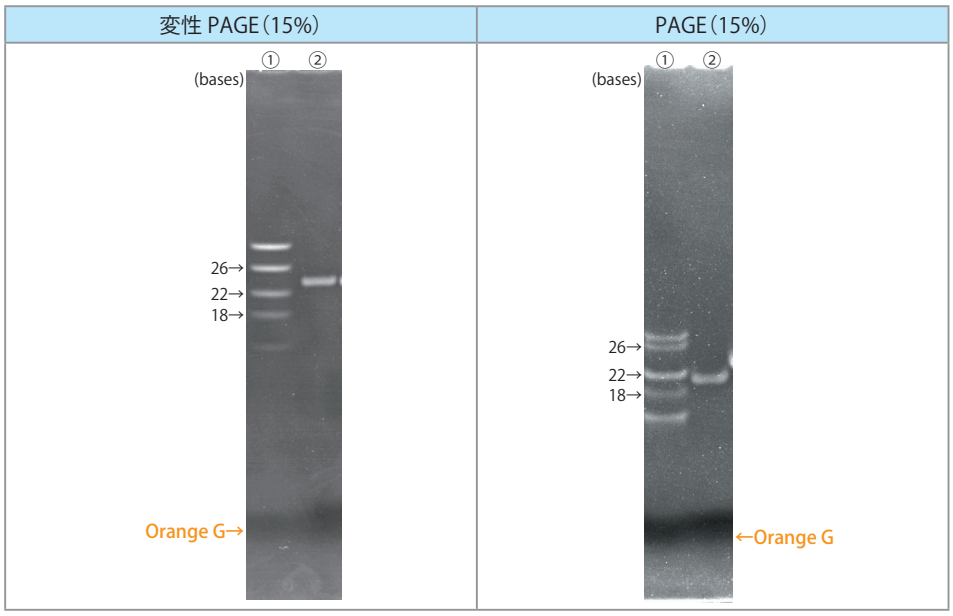
▶ 核酸および Loading Dye に含有される色素の移動度はゲルの組成、濃度および緩衝液の種類により異なります。鎖長が分かっているマーカーなどで色素と核酸の泳動目安をあらかじめ検討してください。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

ポリアクリルアミドゲルによる泳動

実施例　変性ポリアクリルアミドゲルによる RNA の分離

15% 変性および非変性ポリアクリルアミドゲルを用いて、RNA ラダーおよび Micro RNA（23 bases）の分離を行い、Dual Green Nucleic Acid Stain で検出を行いました。非変性ゲルでは本来の鎖長からずれて分離されている一方、変性ゲルではほぼ本来の鎖長通りに分離されています。



＜実験条件＞
サンプル　：① 14-30 ssRNA Ladder Marker（タカラバイオ #3416）2.5 µL
　② Micro RNA（hsa-miR-145-5p）（合成オリゴ一本鎖 RNA 23 bases）25 pmol
ゲル　：変性および非変性 15% ポリアクリルアミドゲル（TBE 0.5 ×）
泳動用緩衝液：トリス - ほう酸 -EDTA 緩衝原液（#35440）を 0.5 ×に調製
泳動　：150 V 定電圧　変性 PAGE 80 分、PAGE 66 分
染色　：Dual Green Nucleic Acid Stain（#20599-41）10,000 倍希釈　15 分振とう
検出　：ChemiDoc Touch MP（バイオ・ラッド ラボラトリーズ）（露光時間は AUTO にて検出）
　UV 励起　SYBR® Green モード（UV 透過、590 / 110 nm スタンダードフィルターで検出）
SYBR® はモレキュラー プローブス, インコーポレイテッドの登録商標です。

参考文献

1）菅野純夫 , 菅野（水島）純子 . "DNA のアクリルアミドゲル電気泳動 ". 遺伝子工学の基礎技術 . 山本雅編 . 第 3 刷 , 羊土社 , 1994, p. 110-114.

Dual Green Nucleic Acid Stain
（#20599-41）

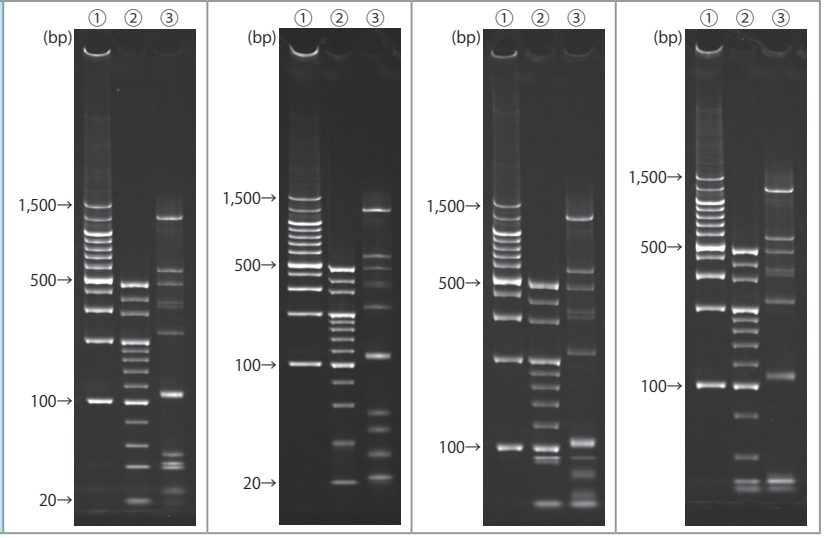
Nacalai オンラインカタログへ

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

Bullet PAGE One Precast Gel による高速核酸泳動

Bullet PAGE One Precast Gel を用いることにより、高速に核酸電気泳動を実施することができます。

Bullet PAGE One Precast Gel の濃度と分画範囲

ゲル	グラジエントゲル		均一ゲル	
ゲル濃度	5 ～ 11%	5 ～ 15%	6%	8%
製品番号 13 ウェル 17 ウェル	 13077-04 13078-94	 13079-84 13080-44	 13081-34 13082-24	 13083-14 13084-04
泳動時間	12 分（400 V）			
染色像				

＜実験条件＞
サンプル　：① 100bp DNA Ladder One(Ready To Use)（#07908-75）2 µL
② 20 bp DNA Ladder（タカラバイオ #3409A）2 µL*
③ siRNA Ladder Marker（タカラバイオ #3430）2 µL*
*②と③は取扱説明書の使用例に従って、6 × Loading Buffer と混合して使用しています。
泳動用緩衝液：泳動用緩衝液 (10 倍濃縮)（#30340-91）を 1 ×に調製
染色　：Ethidium Bromide

実験プロトコール

1. 泳動用サンプルの調製

核酸サンプルと Loading Dye Brilliant Color(6x) を容量比 5：1 で混合します。

2. 泳動用緩衝液（Tris-Glycine pH 8.3）の作製

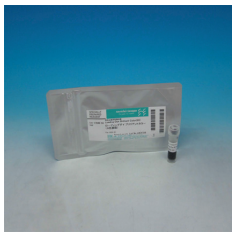
泳動用緩衝液 (10 倍濃縮) と精製水を容量比 1：9 で混合します。

3. 泳動

① Bullet PAGE One Precast Gel のコームを取り外し、電気泳動槽 * にセットし、泳動用緩衝液を入れます。

▶ Bullet PAGE One ラインアップ → https://www.nacalai.co.jp/products/entry/d004019.html#lineup 参照

Loading Dye Brilliant Color(6x)
（#11943-91）



Nacalai オンラインカタログへ

▶ Loading Dye（6 ×）の調製方法 → p.45 参照

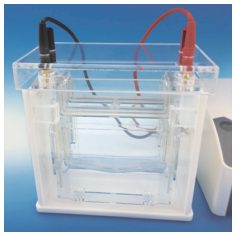
泳動用緩衝液 (10倍濃縮)
（#30340-91）

Nacalai オンラインカタログへ

▶ Tris-Glycine pH 8.3（1 ×）の調製方法 → p.47 参照

▶ ゲルの下端に気泡が入らないようご注意ください。

* W100 mm × H80 mm × T3.2 mm のサイズのプレートが使用可能な泳動装置をご使用ください。推奨機種）WEP-N もしくは WEP-MN バーティカル高速泳動槽（ジェレックスインターナショナル #WEP-N / WEP-MN）



動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

② 各ウェルにサンプルを添加します。

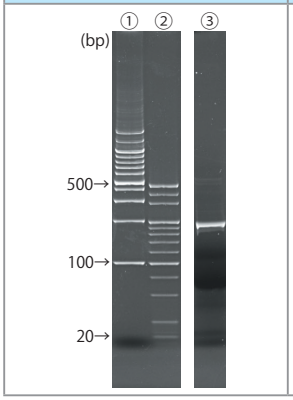
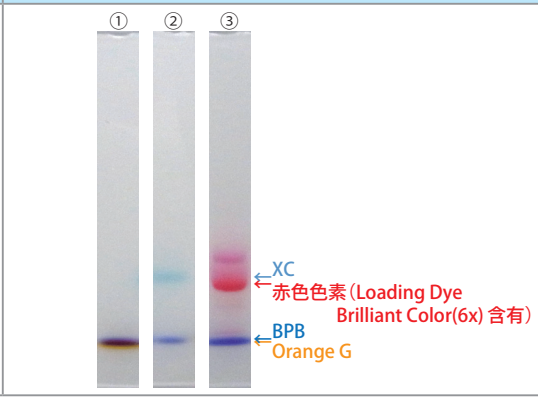
表. 最大ウェル容量(/ ウェル)　最大ウェル容量の半量以下のアプライを推奨します。

13 ウェルタイプ	17 ウェルタイプ *
40 µL	28 µL

* 17 ウェルタイプはマルチチャンネルピペットに対応しています。

③ 400 V 定電圧で、約 12 分泳動してください(300 V 定電圧の場合は約 18 分泳動してください)。

参考データ：色素の移動度(Bullet PAGE One Precast Gel, 5-15%)

核酸検出	目視(色素移動度)
	

＜実験条件＞

サンプル　：① 100bp DNA Ladder One(Ready To Use)(#07908-75)
② 20 bp DNA Ladder(タカラバイオ #3409A)
③ DNA sample(200 bp)と Loading Dye Brilliant Color(6x)(#11943-91)を容量比 5:1 で混合したサンプル

ゲル　：Bullet PAGE One Precast Gel, 5-15%, 13wells(#13079-84)

泳動用緩衝液：泳動用緩衝液 (10 倍濃縮)(#30340-91)を 1 ×に調製

染色　：Dual Green Nucleic Acid Stain(#20599-41) 10,000 倍希釈　15 分染色(脱色なし)

検出　：ChemiDoc Touch MP(バイオ・ラッド ラボラトリーズ)(露光時間は AUTO にて検出)
SYBR® Green モード(UV 透過、590 / 110 nm スタンダードフィルターで検出)

SYBR® はモレキュラー プローブス, インコーポレイテッドの登録商標です。

＼動画はこちら！／

プレキャストゲル
電気泳動槽へのセット方法

100bp DNA Ladder One
(Ready To Use)
(#07908-75)

Nacalai オンラインカタログへ

DNA Ladder One(Broad Range)
(Ready To Use)
(#08362-85)

Nacalai オンラインカタログへ

1kbp DNA Ladder One
(Ready To Use)
(#08232-85)

Nacalai オンラインカタログへ

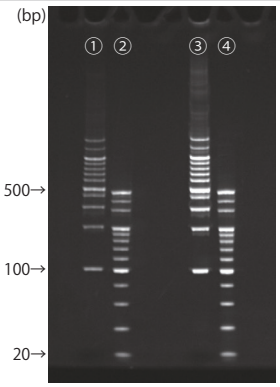
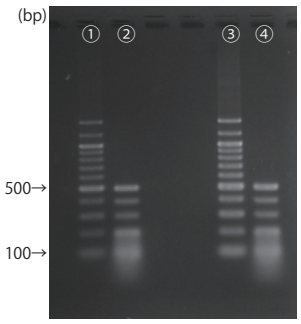
▶ DNA Ladder One シリーズの分離パターン → p.48 参照

▶ 泳動用緩衝液が Tris-Glycine のため、Loading Dye に含有される色素は、アガロースゲルや TAE、TBE 緩衝液で泳動させるポリアクリルアミドゲルと比べ異なった挙動を示します。

Bullet PAGE One Precast Gel による高速核酸泳動

実施例　Bullet PAGE One Precast Gel およびアガロースゲルの核酸電気泳動比較

Bullet PAGE One Precast Gel はアガロースゲルと比べ、短時間でよりシャープなバンドで検出が可能です。また、Bullet PAGE One Precast Gel は厚さ 1 mm のポリアクリルアミドゲルであるため、厚さ 5 mm 程度のアガロースゲルと比べ、染色時間が短く、かつ脱色を行わなくても低いバックグラウンドで検出することができます。

ゲル	Bullet PAGE One Precast Gel, 5-11%	アガロースゲル 2%
染色像		
電気泳動	12 分（400 V）	40 分（100 V）
染色（EtBr）	15 分	30 分
脱色	10 秒	30 分
Total	約 30 分	約 1 時間半

＜実験条件＞

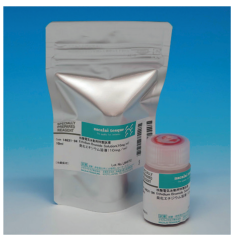
サンプル　：100bp DNA Ladder One(Ready To Use)（#07908-75）① 1 µL　③ 3 µL
20 bp DNA Ladder（タカラバイオ #3409A）② 1 µL*　④ 3 µL*
* ②と④は取扱説明書の使用例に従って、6 × Loading Buffer と混合して使用

ゲル　：Bullet PAGE One Precast Gel, 5-11%, 17wells（#13078-94）、2% アガロースゲル（TAE 1 ×）

泳動用緩衝液：［Bullet PAGE One Precast Gel］泳動用緩衝液 (10 倍濃縮)（#30340-91）を 1 ×に調製
［アガロースゲル］トリス - 酢酸 -EDTA 緩衝原液（#35430）を 1 ×に調製

染色　：臭化エチジウム溶液 (10mg/ml)（#14631-94）を水に最終濃度 0.5 µg/mL になるように添加し、表中の時間の通り染色、脱色

臭化エチジウム溶液 (10mg/ml)
(#14631-94)



Nacalai オンラインカタログへ

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

ゲルの染色

核酸検出方法および染色方法は、使用しているゲルの種類、簡便性、検出機器を考慮し決定します。

核酸検出方法の比較

	Ethidium Bromide (EtBr)	Dual Green Nucleic Acid Stain	GelRed	GelGreen	Sil-Best Stain-Neo
検出方法	蛍光	蛍光	蛍光	蛍光	目視(茶色)
励起波長 (励起光源)	302 nm (UV)	270、290 / 490 nm (UV、Blue LED)	300 nm (UV)	250 / 502 nm (UV、Blue LED)	–
蛍光波長 (検出用フィルター)	605 nm (EtBr フィルター)	526 nm (SYBR® フィルター)	595 nm (EtBr フィルター)	530 nm (SYBR® フィルター)	–
適用ゲル	アガロースゲル、ポリアクリルアミドゲル *				ポリアクリルアミドゲル
適用染色方法	ポストステイン、プレステイン				ポストステイン
検出感度	普通	普通	高感度	高感度	高感度

* EtBr、GelRed、GelGreen のポリアクリルアミドゲルにおけるプレステイン染色方法は未確認です。
Dual Green Nucleic Acid Stain のポリアクリルアミドゲルにおけるプレステイン染色方法は、染色性が著しく低下するため推奨しません。
SYBR® はモレキュラー プローブス, インコーポレイテッドの登録商標です。

染色方法の比較

ゲルの染色方法には、ゲルに核酸染色液をあらかじめ混合しておくプレステイン法、および核酸電気泳動後に染色を行うポストステイン法があります。

	プレステイン	ポストステイン
染色タイミング	・あらかじめゲルに染色液を添加	・電気泳動後に染色
長所	・染色工程が不要のため、簡便で短時間で済む	・染色工程により、泳動パターンが変わらない
短所	・泳動パターンが変わったり、バンドが乱れたりする ・染色液の種類によってはグラデーション様のバックグラウンドやゲル上下での感度ムラが生じる	・染色工程が別途必要

Ethidium Bromide による染色

Ethidium Bromide(EtBr)は DNA の塩基対の間に挿入される性質があり、挿入されることにより紫外線(302 nm)により励起され、蛍光(605 nm)を発します。この性質を利用し、核酸の検出を行います。*
一方で強い変異原性が報告されており、取り扱い時には注意が必要です。弊社では使用時のリスクを軽減するために点眼瓶入り溶液タイプの製品をラインアップしています。

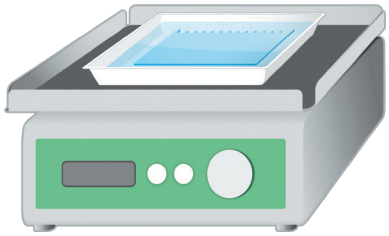
実験プロトコール(ポストステイン)

① 精製水もしくは泳動用緩衝液を清潔なトレイ(Dispotray など)に加え、最終濃度が 0.1 ～ 0.5 µg/mL になるように臭化エチジウム溶液 (0.44mg/ml) を滴下します。下表通りに希釈することで濃度を調整することが可能です。

EtBr 濃度	調製液量	本製品滴下量
0.1 µg/mL	200 mL	1 滴
0.2 µg/mL	100 mL	1 滴
0.5 µg/mL	40 mL	1 滴

本製品 1 滴は約 45 µL です。

② ①で作製した染色液にゲルを入れ、15 ～ 30 分振とうし染色します。



* Nathans, D.; Smith, H. O. Annu. Rev. Biochem. 1975, 44, p. 273-293.

臭化エチジウム溶液 (0.44mg/ml)
(#02393-94)

Nacalai オンラインカタログへ

臭化エチジウム溶液 (10mg/ml)
(#14631-94)

Nacalai オンラインカタログへ

Dispotray-S
(#16526-82)

Nacalai オンラインカタログへ

Dispotray-M
(#16551-84)

Nacalai オンラインカタログへ

▶ Dispotray → p.50 参照

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

ゲルの染色

③ 染色液を捨て、精製水をゲルが浸る程度に加え、30 分振とうし、脱色します（本工程は省略可能です）。

④ トランスイルミネーターもしくは CCD イメージャーなどを用いて、下記波長で観察します。

	EtBr
励起波長	302 nm（UV）
蛍光波長	605 nm
検出フィルター	EtBr フィルター

▶ 染色が不十分、バックグラウンドが高い場合は、EtBr 濃度、染色時間、脱色時間を検討してください。

＼動画はこちら！／

Ethidium Bromide を用いた
ポストステイン

実験プロトコール（プレステイン）

① アガロース溶解後に、臭化エチジウム溶液 (0.44mg/ml) を最終濃度 0.1 ～ 0.5 µg/mL になるように添加します。下表通りに希釈することで濃度を調整することが可能です。

EtBr 濃度	調製液量	本製品滴下量
0.1 µg/mL	200 mL	1 滴
0.2 µg/mL	100 mL	1 滴
0.5 µg/mL	40 mL	1 滴

本製品 1 滴は約 45 µL です。

臭化エチジウム溶液 (0.44mg/ml)
（#02393-94）

Nacalai オンラインカタログへ

② EtBr を添加したアガロースをゲル作製用フレームに流し込み、固化させます。

③ その後は、通常通り電気泳動を行ってください。

④ 電気泳動後、トランスイルミネーターもしくは CCD イメージャーなどを用いて、実験プロトコール（ポストステイン）④に記載の波長で観察します。

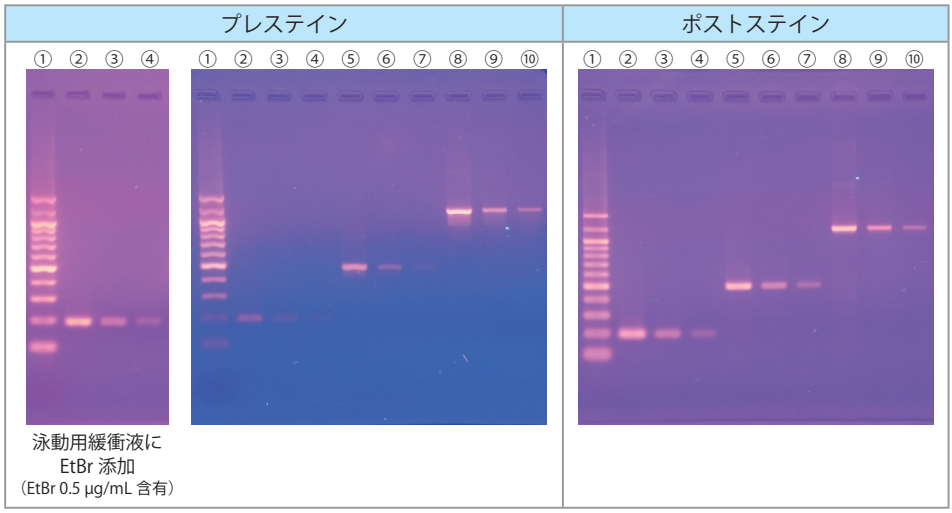
▶ 必要に応じて、泳動用緩衝液にゲルと同濃度になるよう EtBr を添加してください。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

ゲルの染色

実施例　プレステインおよびポストステインの泳動への影響

DNA Ladder および DNA サンプルを、EtBr を用いてプレステインおよびポストステインにて検出しました。
プレステインにおいて、EtBr と核酸サンプルとの結合による移動度の低下やバンドのゆがみが観察されます。また、EtBr が泳動中に陰極側へ移動しゲル内に濃度勾配ができることによるゲル下部の染色性低下、グラデーション様のバックグラウンドも観察されています。
これらが問題となる場合はポストステインをお薦めします。また、ゲル下部の染色性低下およびグラデーション様バックグラウンドは泳動用緩衝液に EtBr を添加することで改善する場合があります。



＜実験条件＞

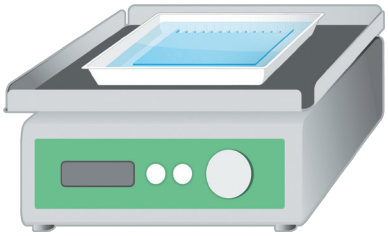
サンプル　：①100bp DNA Ladder One(Ready To Use)（#07908-75）5µL
②〜④ DNA sample（200 bp）100、30、10 ng　⑤〜⑦ DNA sample（500 bp）100、30、10 ng
⑧〜⑩ DNA sample（1,200 bp）100、30、10 ng
ゲル　：2% アガロースゲル（TAE 1 ×）　プレステインは EtBr 0.5 µg/mL になるように添加
泳動用緩衝液　：トリス - 酢酸 -EDTA 緩衝原液（#35430）を 1 ×に調製
泳動　：100 V 定電圧　BPB がゲル 2/3 程度になるまで泳動
ポストステイン：Ethidium Bromide 0.5 µg/mL　30 分染色
検出　：UV トランスイルミネーター（アトー #DT-35MP）にて励起　デジタルカメラ（RICOH #CX4）にて撮影

Dual Green Nucleic Acid Stain による染色

Dual Green Nucleic Acid Stain は、アクリジンオレンジと 4',6-Diamidino-2-phenylindole（DAPI）の混合溶液です。UV 励起 / LED 励起共に検出可能で、さまざまなアプリケーションにも対応可能な、自由度の高い染色剤です。

実験プロトコール（ポストステイン）

① 精製水もしくは泳動用緩衝液を清潔なトレイ（Dispotray など）に加え、10,000 倍希釈になるように Dual Green Nucleic Acid Stain を添加します。
② ①で作製した染色液にゲルを入れ、15 ～ 30 分振とうし染色します。



③ 染色液を捨て、精製水で軽くすすぎます（必要に応じて、精製水を用いて 30 分程度の脱色を行ってください）。
④ トランスイルミネーターもしくは CCD イメージャーなどを用いて、下記波長で観察します。

	Dual Green Nucleic Acid Stain
励起波長	270、290、490 nm（UV、Blue LED）
蛍光波長	526 nm
検出フィルター	SYBR® フィルター

SYBR® はモレキュラー プローブス, インコーポレイテッドの登録商標です。

＼動画はこちら！／

Dual Green Nucleic Acid Stain を用いたポストステイン

実験プロトコール（プレステイン）

① アガロース溶解後に Dual Green Nucleic Acid Stain を 20,000 倍希釈になるように添加してください。
② Dual Green Nucleic Acid Stain を添加したアガロースをゲル作製用フレームに流し込み、固化させます。
③ その後は、通常通り電気泳動を行ってください。
④ 電気泳動後、トランスイルミネーターもしくは CCD イメージャーなどを用いて、実験プロトコール（ポストステイン）④に記載の波長で観察します。

Dual Green Nucleic Acid Stain
（#20599-41）

Nacalai オンラインカタログへ

Dispotray-S
（#16526-82）

Nacalai オンラインカタログへ

Dispotray-M
（#16551-84）

Nacalai オンラインカタログへ

▶ Dispotray → p.50 参照

▶ 染色が不十分、バックグラウンドが高い場合は、Dual Green Nucleic Acid Stain の濃度、染色時間、脱色時間を検討してください。

▶ 染色性が低下するため、ポリアクリルアミドゲルにおけるプレステイン染色法はお薦めしません。

▶ 必要に応じて、泳動用緩衝液にゲルと同濃度になるよう Dual Green Nucleic Acid Stain を添加してください。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

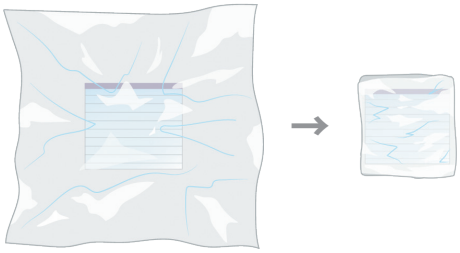
ゲルの染色

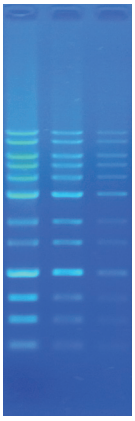
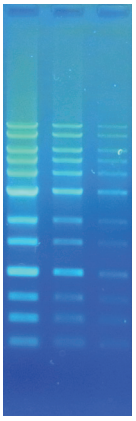
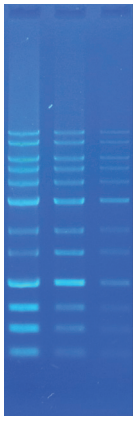
参考データ：Dual Green Nucleic Acid Stain 含有アガロースゲルの保存方法

Dual Green Nucleic Acid Stain 含有アガロースゲルを保存する場合は、アガロースゲルと同濃度の Dual Green Nucleic Acid Stain を含む、ゲル作製に使用した緩衝液中で冷蔵にて保存してください（例：Dual Green Nucleic Acid Stain（20,000 倍希釈）含有アガロース（TAE 1 ×）の場合、Dual Green Nucleic Acid Stain（20,000 倍希釈）含有 TAE 1 ×中に保存します）。
Dual Green Nucleic Acid Stain を含有しない緩衝液中に保存すると、保存中に染色剤が拡散するため、染色性が低下します。

★ TIPS ★

下記保存方法で保存することも可能です。緩衝液中に保存する必要がないため、場所も取らず簡単でお薦めです。

① 各ゲルをトレイごと、プラスチック製ラップフィルムで包みます。	
② 全てのゲルを、アルミホイルで包んで遮光します。	
③ さらに二重のチャック付きビニール袋に入れて、4℃ で保存します。	

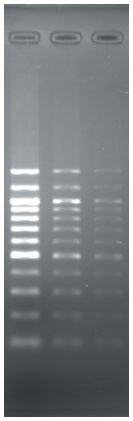
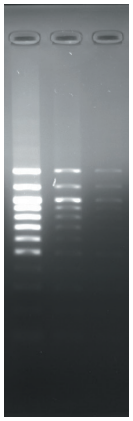
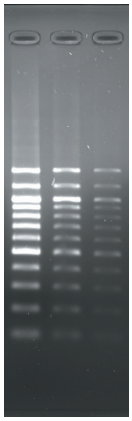
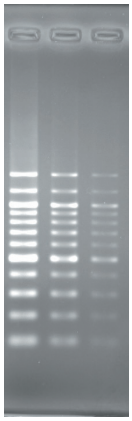
用時調製	冷蔵にて 3 週間保存		
	TAE 1 ×に浸して保存	TAE 1 ×＋ Dual Green Nucleic Acid Stain（20,000 倍希釈）に浸して保存	上記方法で保存
			

＜実験条件＞
サンプル　：1kbp DNA Ladder One(Ready To Use)（#08232-85）　総核酸量 左から 600 ng、200 ng、67 ng
ゲル　　：1% アガロースゲル（TAE 1 ×）
　　アガロース溶解後、各染色剤を 20,000 倍希釈になるように添加し、ゲルを固化
　　それぞれの方法で 3 週間冷蔵保存した
泳動用緩衝液：トリス - 酢酸 -EDTA 緩衝原液（#35430）を 1 ×に調製
泳動　　：100 V　BPB がゲルの 3/4 程度になるまで泳動
検出　　：UV トランスイルミネーター（アトー #DT-35MP）にて励起
　　デジタルカメラ（RICOH #CX4）にて撮影

ゲルの染色

実施例 1　プレステインおよびポストステインの泳動への影響

DNA Ladder を、Dual Green Nucleic Acid Stain を用いてプレステインおよびポストステインにて検出しました。
プレステインにおいて、Dual Green Nucleic Acid Stain が泳動中に陰極側へ移動し、ゲル内に濃度勾配ができることによるゲル下部の染色性低下、グラデーション様のバックグラウンドが観察されています。
これらが問題となる場合はポストステインをお薦めします。また、ゲル下部の染色性低下は UV 励起にて観察する、もしくは泳動用緩衝液に Dual Green Nucleic Acid Stain を添加することで改善する場合があります。

染色像				
染色方法	プレステイン			ポストステイン
泳動用緩衝液中の Dual Green Nucleic Acid Stain の有無	20,000 倍希釈で含有	不含		
励起	Blue LED	Blue LED	UV	Blue LED

＜実験条件＞
サンプル　：100bp DNA Ladder One(Ready To Use)（#07908-75）　総核酸量 左から 600 ng、200 ng、67 ng
ゲル　：2% アガロースゲル（TAE 1 ×）
　プレステインは Dual Green Nucleic Acid Stain（#20599-41）が 20,000 倍希釈になるように添加
泳動用緩衝液　：トリス - 酢酸 -EDTA 緩衝原液 (#35430) を 1 ×に調製
泳動　：100 V 定電圧　BPB がゲル 2/3 程度になるまで泳動
ポストステイン：Dual Green Nucleic Acid Stain（#20599-41）10,000 倍希釈　30 分染色
検出　：ChemiDoc Touch MP（バイオ・ラッド ラボラトリーズ）（露光時間は AUTO にて検出）
　［UV 励起］SYBR® Green モード（UV 透過、590 / 110 nm スタンダードフィルターで検出）
　［Blue LED 励起］Alexa Fluor® 488 モード（Blue 落射、532 / 28 nm フィルターで検出）

SYBR®、Alexa Fluor® はモレキュラー プローブス, インコーポレイテッドの登録商標です。

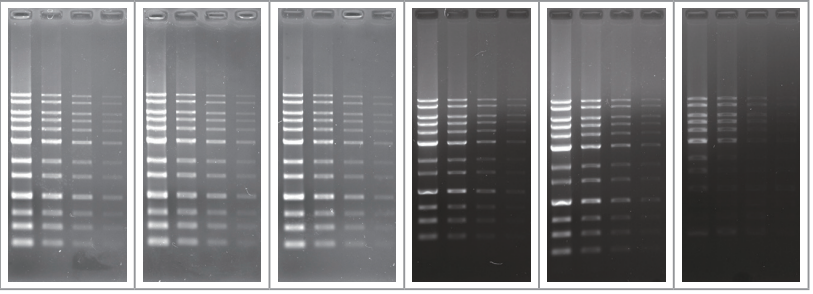
動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

ゲルの染色

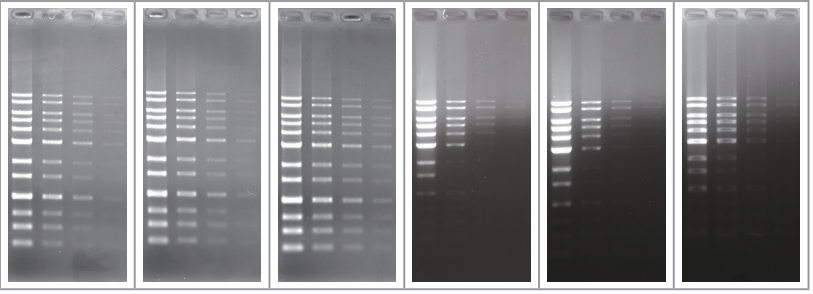
実施例 2　アガロースゲルにおける他社製品との比較

アガロースゲルにおいて、ポストステインおよびプレステインにて DNA の検出を行いました。本製品は他社製品と比較し、同等以上の性能を有しています。

● UV 励起にて検出

染色方法	ポストステイン			プレステイン		
染色剤	本製品	A 社	B 社	本製品	A 社	B 社
染色像						

● Blue LED 励起にて検出

染色方法	ポストステイン			プレステイン		
染色剤	本製品	A 社	B 社	本製品	A 社	B 社
染色像						

＜実験条件＞

サンプル　：1kbp DNA Ladder One(Ready To Use)（#08232-85）
　総核酸量 左から 600 ng、200 ng、67 ng、20 ng

ゲル　：1% アガロースゲル（TAE 1 ×）

泳動用緩衝液：トリス - 酢酸 -EDTA 緩衝原液（#35430）を 1 ×に調製（泳動用緩衝液への染色剤添加はなし）

泳動　：100 V 定電圧　BPB がゲルの 3/4 程度になるまで泳動

染色　：［ポストステイン］TAE（1 ×）に各染色剤を 10,000 倍希釈になるように添加し、泳動後のゲルを入れ 30 分振とう（脱色なし）
　［プレステイン］アガロース溶解後、各染色剤を 20,000 倍希釈になるように添加し、ゲルを固化

検出　：ChemiDoc Touch MP（バイオ・ラッド ラボラトリーズ）（露光時間は AUTO にて検出）
　［UV 励起］SYBR® Green モード（UV 透過、590 / 110 nm スタンダードフィルターで検出）
　［Blue LED 励起］Alexa Fluor® 488 モード（Blue 落射、532 / 28 nm フィルターで検出）

SYBR®、Alexa Fluor® はモレキュラー プローブス, インコーポレイテッドの登録商標です。

ゲルの染色

GelRed、GelGreen Nucleic Acid Gel Stain による染色

Biotium 社により開発された GelRed、GelGreen は Ethidium Bromide（EtBr）と比較し低変異原性で、かつ高感度に検出が可能です。さらに、二本鎖 DNA のみならず一本鎖 DNA および RNA の検出も可能です。

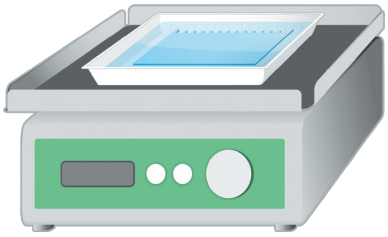
▶ GelRed、GelGreen Nucleic Acid Gel Stain ラインアップ
→ 別紙「試薬一覧」参照

実験プロトコール（ポストステイン）

① 精製水を清潔なトレイ（Dispotray など）に加え、下表の通りに GelRed もしくは GelGreen を添加します。

製品濃度	ポストステイン希釈倍率
10,000 ×	約 3,300 倍希釈
3 ×	原液

② ①で作製した染色液にゲルを入れ、30 分程度振とうし染色します。



③ 染色液を捨て、トランスイルミネーターもしくは CCD イメージャーを用いて、下記波長で観察します。

	GelRed	GelGreen
励起波長	300 nm（UV）	250、502 nm（UV、Blue LED）
蛍光波長	595 nm	530 nm
検出フィルター	EtBr フィルター	SYBR® フィルター

SYBR® はモレキュラー プローブス, インコーポレイテッドの登録商標です。

Dispotray-S
（#16526-82）

Nacalai オンラインカタログへ

Dispotray-M
（#16551-84）

Nacalai オンラインカタログへ

▶ Dispotray → p.50 参照

実験プロトコール（プレステイン）

① アガロース溶解後に下表の通りに GelRed もしくは GelGreen を添加し、よく混合します。

製品濃度	プレステイン希釈倍率
10,000 ×	10,000 倍希釈
3 ×	3 倍希釈

② GelRed もしくは GelGreen を添加したアガロースをゲル作製用フレームに流し込み、固化させます。

③ その後は、通常通り電気泳動を行ってください。

④ 電気泳動後、トランスイルミネーターもしくは CCD イメージャーを用いて、実験プロトコール（ポストステイン）③に記載の波長で観察します。

▶ 泳動用緩衝液に GelRed もしくは GelGreen を添加する必要はありません。

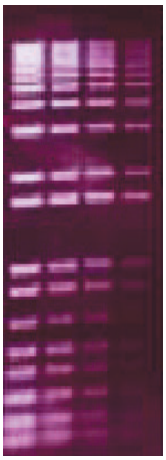
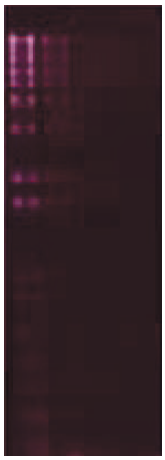
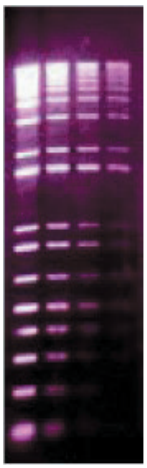
動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

ゲルの染色

実施例　Ethidium Bromide もしくは他社製品との感度比較

GelRed、GelGreen は EtBr や他社製品よりも高感度に検出が可能です。

■ GelRed

ポストステイン		プレステイン	
GelRed	A 製品	GelRed	EtBr
			
A 製品は EtBr フィルターによる検出で感度低下		EtBr より高い検出感度	

<実験条件>
サンプル　：1 kb DNA ラダー　左から 200 ng、100 ng、50 ng、25 ng
ゲル　：1% アガロースゲル
泳動用緩衝液：TBE 1 ×
検出　：［ポストステイン］300 nm で励起、EtBr フィルターで検出
　［プレステイン］312 nm で励起、EtBr フィルターで検出

■ GelGreen

ポストステイン	
GelGreen	B 製品
B 製品より高い検出感度	

<実験条件>
サンプル　：1 kb DNA ラダー　左から 200 ng、100 ng、50 ng、25 ng
ゲル　：1% アガロースゲル
泳動用緩衝液：TBE 1 ×
検出　：254 nm で励起、SYBR® フィルターで検出（データは白黒写真）
SYBR® はモレキュラー プローブス, インコーポレイテッドの登録商標です。

ゲルの染色

Sil-Best Stain-Neo による染色

Sil-Best Stain-Neo はポリアクリルアミドゲル上の核酸、タンパク質または糖質を高感度に検出するための銀染色キットです。従来の Ethidium Bromide と比べ、50 ～ 100 倍の感度を有しています。

実験プロトコール

製品内容

試薬名または器材名	主成分または器材内容	容量	数量	貯法
固定液(10 ×)	トリクロロ酢酸	200 mL	1	冷蔵
銀 A 溶液(5 ×)	炭酸ナトリウム	200 mL	1	室温
銀 B1 溶液(5 ×)	硝酸銀、硝酸アンモニウム	200 mL	1	冷蔵
銀 B2 溶液(5 ×)	ホルマリン	200 mL	1	冷蔵
ディスポーザブルトレイ	ポリプロピレン製	—	20	—

別途必要な試薬、器材

精製水、メタノール、酢酸、50 mL ディスポーザブル遠心チューブ 3 本(試薬グレードは試薬特級もしくは用途に適したものをご使用ください。)

1. 試薬の調製(100 mm × 100 mm × 1 mm ミニゲル基準)

試薬名		調製内容		
固定液		固定液(10 ×) 精製水 メタノール	10 mL 40 mL 50 mL	左記を混合して固定液とします。 ※必ず転とう攪拌し、均一にしてからご使用ください。
染色液	染色 A 溶液	銀 A 溶液(5 ×) 精製水	5 mL 20 mL	左記を 50 mL ディスポーザブル遠心チューブの目盛りを指標に量り取り、混合して染色 A 溶液とします。2 本用意します。 ※結晶が生じた場合は 30 ～ 40℃ 程度に温め、溶解してからご使用ください。
	染色 B 溶液	銀 B1 溶液(5 ×) 銀 B2 溶液(5 ×) 精製水	10 mL 10 mL 30 mL	左記を 50 mL ディスポーザブル遠心チューブの目盛りを指標に量り取り、混合して染色 B 溶液とします。
		※染色する直前に調製してください。2 本の染色 A 溶液に染色 B 溶液各 25 mL を、少しずつ加えて混合して染色液とします。		
反応停止液		酢酸 精製水	1 mL 99 mL	左記を混合して反応停止液とします。

2. 染色操作

① 泳動後、添付のディスポーザブルトレイ中でゲルを固定液に浸し、10 ～ 20 分振とうします。
② 固定液を捨て、精製水にゲルを浸し、5 分振とうします。
③ 精製水を新しくして、10 分振とうします。
④ 精製水を捨て、染色液にゲルを浸し、5 ～ 30 分振とうします。適当な染色像が得られたところで染色液を捨て、反応停止液にゲルを浸し、15 分程度振とうします。
⑤ ゲルを精製水ですすぎ、染色像を観察します。

＼動画はこちら！／

Sil-Best Stain-Neo を用いた銀染色

Sil-Best Stain-Neo for Protein and Nucleic Acid/PAGE
(#05773-11)

Nacalai オンラインカタログへ

メタノール
(#06068-15)

Nacalai オンラインカタログへ

酢酸
(#08885-45)

Nacalai オンラインカタログへ

▶ 本製品は非常に高感度であり、実験中にタンパク質や糖質などの不純物が混入すると試薬が鋭敏に反応し、銀鏡反応を生じる場合があります。操作中の不純物の混入には最大の注意を払ってください。

▶ 染色 A 溶液と染色 B 溶液の調製には、ビーカーやスターラー用マグネットなどの繰り返し使用する器具を用いるより、50 mL ディスポーザブル遠心チューブの使用を推奨します。

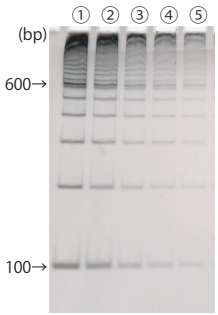
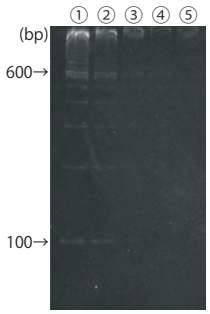
▶ グラジエントゲルの場合、アクリルアミドの濃度に従いグラジエント様のバックグラウンドが観察される場合がありますのでご注意ください。

▶ その他注意事項は取扱説明書をご参照ください。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

ゲルの染色

実施例　Ethidium Bromide との感度比較

Sil-Best Stain-Neo	EtBr
	

＜実験条件＞
サンプル：DNA 100 bp Ladder　総 DNA 量 ① 10 ng、② 5 ng、③ 2 ng、④ 1 ng、⑤ 500 pg
ゲル　　：5% ポリアクリルアミドゲル（TBE）

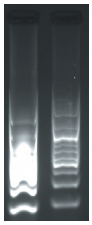
トラブルシューティング

本項目では核酸電気泳動におけるトラブルおよびその原因、解決方法について説明します。

レーンやバンドの形・分離に問題がある

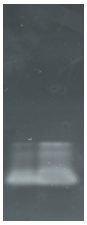
1 バンドがスメアになる / ぼやける

▶ p.35 ～ 36



2 バンドの分離が悪い / おかしい

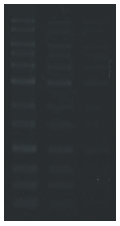
▶ p.37 ～ 38



検出に問題がある

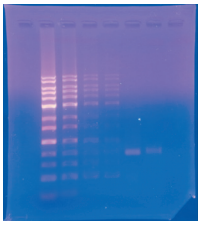
3 シグナルが検出されない / 弱い

▶ p.38 ～ 39



4 染色像にムラがある

▶ p.40



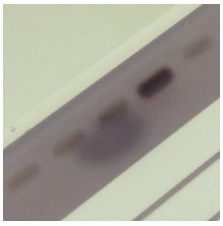
上記以外で問題がある

5 アプライでサンプルが沈まない

▶ p.41

6 アプライ時、サンプルがウェルの裏側に流れていく

▶ p.41

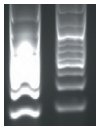


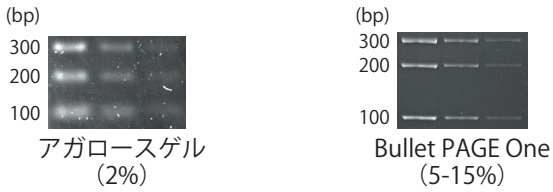
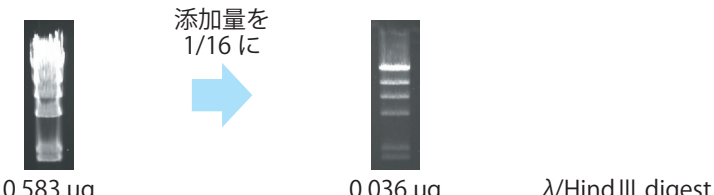
7 電気泳動中の異常な発熱

▶ p.42

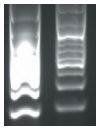
動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

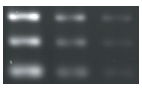
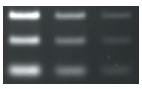
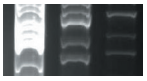
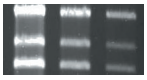
1. バンドがスメアになる / ぼやける



実験操作	原因	解決策
ゲル作製	ゲルが分厚い	水平型のアガロースゲルの場合は、ゲルの厚さを 5 mm 以下としてください。
	ゲルの種類が不適切	目的とするサイズに適切なゲルの種類を選択してください。1,000 bp 以下の場合、ポリアクリルアミドゲルが最適です。 一本鎖核酸の場合は変性ゲルを、また二本鎖核酸の場合は未変性ゲルをご使用ください。
	DATA 100 bp DNA Ladder を泳動  	
	ウェルの形成不適、破損	ゲルが十分に固化してからコームを抜き取ってください。コームを抜く際は、精製水もしくは泳動用緩衝液でぬらし、ゆっくりとコームを抜くようにしてください。
サンプル調製	サンプルが分解している	試薬類および器具類がヌクレアーゼフリーであるかご確認ください。器具類のヌクレアーゼ除去には RNase Quiet など除去試薬をご使用ください。
	サンプルの塩濃度が高い	Loading Dye の塩濃度および希釈率をご確認ください。 核酸サンプルの塩濃度がすでに高い場合は、サンプルを希釈する、もしくはエタノール沈殿などにてバッファー置換を行ってください。
	サンプルの処理が不適切	一本鎖核酸の場合は、泳動サンプルに変性剤を添加し、必要に応じて加温してください。二本鎖核酸の場合は、変性剤の添加、加温は行わないでください。
	サンプルに多量のタンパク質が含まれている	サンプル中のタンパク質が核酸の泳動に影響を及ぼす場合があります。核酸を精製しタンパク質を除去するか、泳動サンプルに SDS を添加してください。
	Loading Dye に検出試薬を添加している	Loading Dye に検出試薬が添加されていると、結合された染色剤が泳動に影響を及ぼし、バンドがゆがむ場合があります。
アプライ	サンプル添加量が多い	サンプル添加量を減らしてください。
	DATA  	

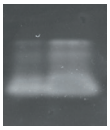
1. バンドがスメアになる / ぼやける
つづき

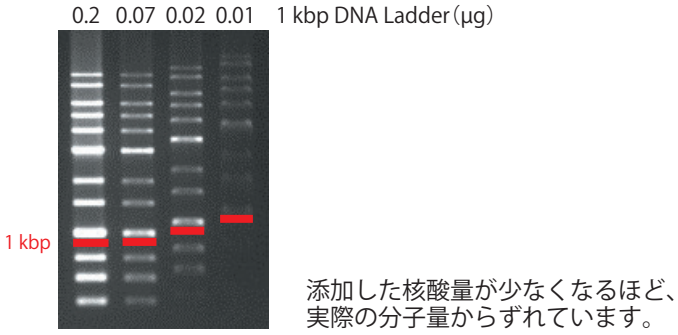


実験操作	原因	解決策
アプライ	気泡が入っている	ウェルに気泡が残っていないことを確認してからアプライしてください。
	アプライ時のウェルの破損	アプライ中にチップなどでウェルを破損させないようにご注意ください。
	ウェルにアクリルアミドや尿素が残っている	ポリアクリルアミドゲルを使用する場合は、サンプルをアプライする前にウェルを洗浄し、アクリルアミドや尿素(変性ゲル)を除去してください。
	アプライ後放置した	アプライから電気泳動まで長時間放置しないでください。バンドが拡散したり、ゆがんだりする場合があります。
	DATA  アプライ30分後に泳動開始  アプライ直後に泳動開始	
電気泳動	電圧が低い / 高い	適切な電圧をかけてください。
	泳動時間が長い	泳動時間を短くしてください。泳動時間が長いと、バンドが拡散する場合があります。
	泳動用緩衝液が不適切	適切な泳動用緩衝液の種類、濃度をご確認ください。ゲルと泳動用緩衝液は同一、同濃度をご使用ください。
	泳動用緩衝液の量が少ない	ゲルの上部が完全に浸るように、泳動用緩衝液を添加してください。
検出	電気泳動後、観察まで放置した	電気泳動の完了から染色、観察までの間にゲルを保存したり、長時間放置したりしないでください。バンドが拡散する場合があります。
	染色剤のサンプルへの結合	ゲルにあらかじめ染色剤を含有させていると、泳動中に核酸と染色剤が結合し、バンドがゆがむ場合があります。問題となる場合は、ゲルに染色剤は添加せず、ポストステインにて検出を行ってください。
	DATA 染色方法変更  プレステイン  ポストステイン	
	カメラのフォーカスがあっていない	カメラのフォーカスをご確認ください。

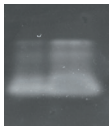
動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

2. バンドの分離が悪い / おかしい

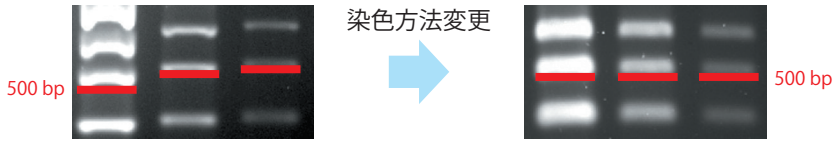


実験操作	原因	解決策
ゲル作製	ゲルの濃度が不適切	目的とするサイズに適切なゲル濃度にてゲルを作製してください。 アガロースゲルの場合、溶解中に蒸発した水分により意図したゲル濃度よりも高くなる場合があります。蒸発分の水分を補い、正しくゲルを作製してください。
	ゲルの種類が不適切	目的とするサイズに適切なゲルの種類を選択してください。1,000 bp 以下の場合、ポリアクリルアミドゲルが最適です。 一本鎖核酸の場合は、変性ゲルをご使用ください。また二本鎖核酸の場合は、未変性ゲルをご使用ください。
	ウェルの形成不適、破損	ゲルが十分に固化してからコームを抜き取ってください。コームを抜く際は、精製水もしくは泳動用緩衝液でぬらし、ゆっくりとコームを抜くようにしてください。
サンプル調製	泳動サンプルの処理が不適切	一本鎖核酸の場合は、泳動サンプルに変性剤を添加し、必要に応じて加温してください。二本鎖核酸の場合は、変性剤の添加、加温は行わないでください。
	サンプルに多量のタンパク質が含まれている	サンプル中のタンパク質が核酸の泳動に影響を及ぼす場合があります。核酸を精製しタンパク質を除去するか、泳動サンプルに SDS を添加してください。
	コンフォメーションが異なる核酸が混在している	異なるコンフォメーション（スーパーコイル、直鎖、開環）のプラスミド DNA は、異なる電気泳動挙動を示します。
	Loading Dye に検出試薬を添加している	Loading Dye に検出試薬が添加されていると、結合された染色剤が泳動に影響を及ぼし、移動度がシフトする場合があります。
	DATA　1 kbp DNA Ladder に検出試薬を添加し、泳動  	
アプライ	サンプル添加量が多い	サンプル添加量を減らしてください。
	気泡が入っている	ウェルに気泡が残っていないことを確認してからアプライしてください。
	ウェルが破損している	アプライ中にチップなどでウェルを破損させないようにご注意ください。

2. バンドの分離が悪い / おかしい
つづき



実験操作	原因	解決策
アプライ	ウェルにアクリルアミドや尿素が残っている	ポリアクリルアミドゲルを使用する場合は、サンプルをアプライする前にウェルを洗浄し、アクリルアミドや尿素（変性ゲル）を除去してください。
電気泳動	電圧が低い / 高い	適切な電圧をかけてください。
	泳動時間が不適切	泳動時間が短いと十分な分離が得られません。また、泳動時間が長い場合、バンドが拡散する場合があります。
	泳動用緩衝液が不適切	適切な泳動用緩衝液の種類、濃度をご確認ください。ゲルと泳動用緩衝液は同一、同濃度をご使用ください。
	泳動用緩衝液の量が少ない	ゲルの上部が完全に浸るように、泳動用緩衝液を添加してください。
検出	染色剤のサンプルへの結合	ゲルにあらかじめ染色剤を含有させている場合、泳動中に核酸と染色剤が結合し、移動度がシフトします。問題となる場合は、ゲルに染色剤は添加せず、ポストステインにて検出を行ってください。
	DATA　1 kbp DNA Ladder を 1 µg、0.3 µg、0.1 µg で添加	

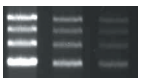
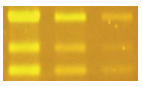
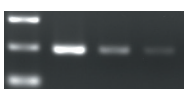
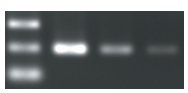


3. シグナルが検出されない / 弱い

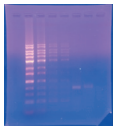
実験操作	原因	解決策
サンプル調製	サンプルが分解している	試薬類および器具類がヌクレアーゼフリーであるかご確認ください。器具類のヌクレアーゼ除去には RNase Quiet など除去試薬をご使用ください。
アプライ	色素が目的のバンドとかぶっている	Loading Dye に含有される色素が、サンプルバンドと重なり、バンドを隠してしまう場合があります。当該色素を含有しない Loading Dye をご使用ください。
	サンプル添加量が少ない	ゲルに十分な量のサンプルを添加してください。貴重なサンプルなど添加できる量に限りがある場合は、より狭いウェルのコームを使用してゲルを作製してください。
電気泳動	サンプルのオーバーラン	泳動時間と Loading Dye に含有される色素の移動度をご確認ください。色素の移動度はアガロース濃度、緩衝液の種類、泳動条件などにより異なります。色素の移動度を参考に適切な時間で電気泳動を終了してください。

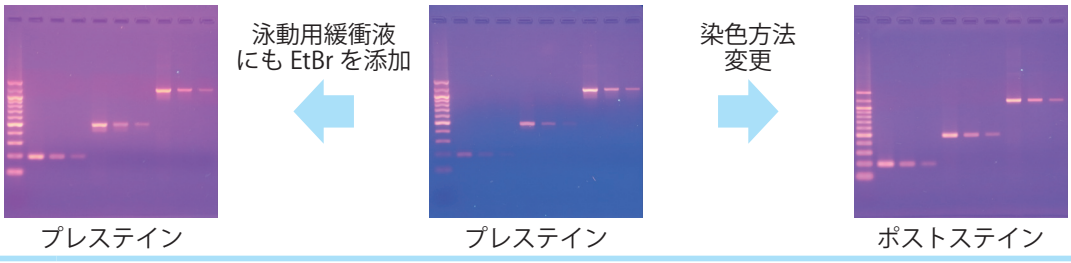
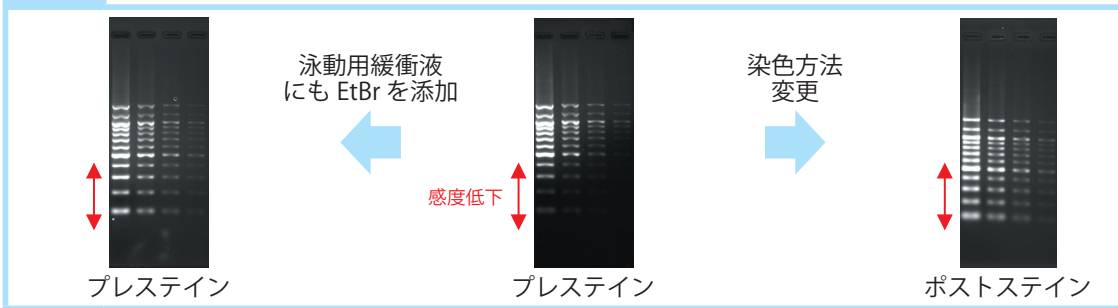
動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

3. シグナルが検出されない / 弱い
つづき

実験操作	原因	解決策
電気泳動	電極が反対	電極が正しく設定もしくは接続されているかご確認ください。
検出	染色が不十分	染色剤が薄い、染色時間が短すぎる可能性があります。染色剤の濃度、染色時間をご確認ください。特にゲルが厚い場合は、染色時間を延長してください。
	検出試薬の感度が低い	より高感度な検出試薬をご使用ください。
	DATA 一般感度試薬  高感度試薬 （Biotium 社 GelGreen） 検出試薬 （ポストステイン）	
	励起波長、検出波長が不適切	ご使用の検出試薬に適した励起波長、検出波長にてバンドの可視化を行ってください。
	DATA　EtBr による検出 誤った検出条件 （LED / 518-546 nm） 正しい検出条件 （UV / 577-627 nm） （励起 / 検出波長） ※露光時間は同一	
	バックグラウンドが高い	検出したいバンドがバックグラウンドに埋もれている場合があります。ゲルの脱色を行うことで改善する場合があります。
	DATA　Dual Green Nucleic Acid Stain による検出 精製水で 30 分脱色 脱色前  脱色後	
	染色剤の枯渇	ゲルにあらかじめ染色剤を含有させていると、染色剤が陰極方向へ移動し、ゲル下部の染色剤が枯渇し感度が低下する場合があります。この場合は、泳動用緩衝液中にも染色剤を添加し泳動、もしくはポストステインにて染色を行ってください。p.25、p.28 をご参照ください。
	DATA　EtBr による検出 泳動用緩衝液 にも EtBr を添加 染色方法 変更  プレステイン プレステイン  ポストステイン	
	電気泳動後、観察まで放置した	電気泳動の完了から染色、観察までの間にゲルを保存したり、長時間放置したりしないでください。感度が低下する場合があります。

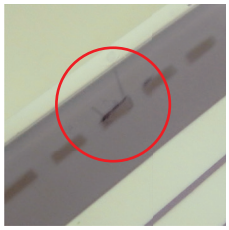
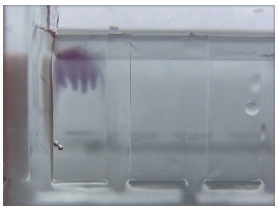
4. 染色像にムラがある



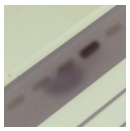
実験操作	原因	解決策
サンプル調製	サンプルが分解している	試薬類および器具類がヌクレアーゼフリーであるかご確認ください。器具類のヌクレアーゼ除去には RNase Quiet など除去試薬をご使用ください。
ゲル作製	ゲル濃度が不均一	アガロースゲルの場合、アガロースを十分に溶解させてください。
	ゲル不均等、ウェルが傾いている	アガロースゲルの場合、水平な場所でアガロースを固化してください。コームはゲルの表面に対して直角にセットしてください。
電気泳動	泳動用緩衝液が不適切	適切な泳動用緩衝液の種類、濃度をご確認ください。 ゲルにあらかじめ染色剤を含有させていると、染色剤が陰極方向へ移動し、グラデーションのかかったバックグラウンドとなる場合があります。この場合は、泳動用緩衝液中にも染色剤を添加し泳動、もしくはポストステインにて染色を行ってください。p.25、p.28 をご参照ください。
	DATA EtBr による検出  	
	電圧が低い / 高い	適切な電圧をかけてください。
検出	染色剤の枯渇	ゲルにあらかじめ染色剤を含有させていると、染色剤が陰極方向へ移動しゲル下部の染色剤が枯渇し、ゲルの上下で感度ムラが発生する場合があります。この場合は、泳動用緩衝液中にも染色剤を添加し泳動、もしくはポストステインにて染色を行ってください。p.25、p.28 をご参照ください。
	DATA EtBr による検出  	
	染色液が不均一	染色剤の希釈時は十分に混合してください。希釈時の混合が不十分な場合、染色ムラとなる場合があります。

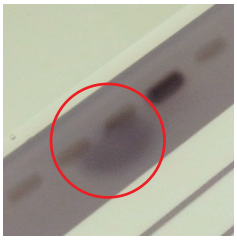
動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

5. アプライでサンプルが沈まない

実験操作	原因	解決策
アプライ	サンプル中にエタノールが残存している	エタノール沈殿などで残存したアルコールがサンプル中に含まれると、サンプルが沈殿せず拡散する場合があります。サンプルからアルコールを除去してください。
	DATA  エタノールが残存しているサンプルをアプライすると、すぐに泳動用緩衝液中へ拡散してしまいます。	
	Loading Dye の組成もしくはサンプルとの混合比が間違っている	Loading Dye に含有されるグリセリンやホルムアミド量が不十分だとサンプルが沈みません。組成、サンプルとの混合比を再度ご確認ください。
	ゲルウェル中に尿素が残存している	尿素含有変性ゲルの場合、ウェル内に残存している尿素によりサンプルが沈殿しない場合があります。ウェルを洗浄し、尿素を除去してください。
	DATA  ウェルに尿素が残存している場合、サンプルが沈まない場合があります。	

6. アプライ時、サンプルがウェルの裏側に流れていく



実験操作	原因	解決策
アプライ	ウェルの形成不適、破損	ゲルが十分に固化してからコームを抜き取ってください。コームを抜く際は、精製水もしくは泳動用緩衝液でぬらし、ゆっくりとコームを抜くようにしてください。
	DATA  ウェルが破損していることにより、サンプルがゲル裏側へ拡散してしまっています。	

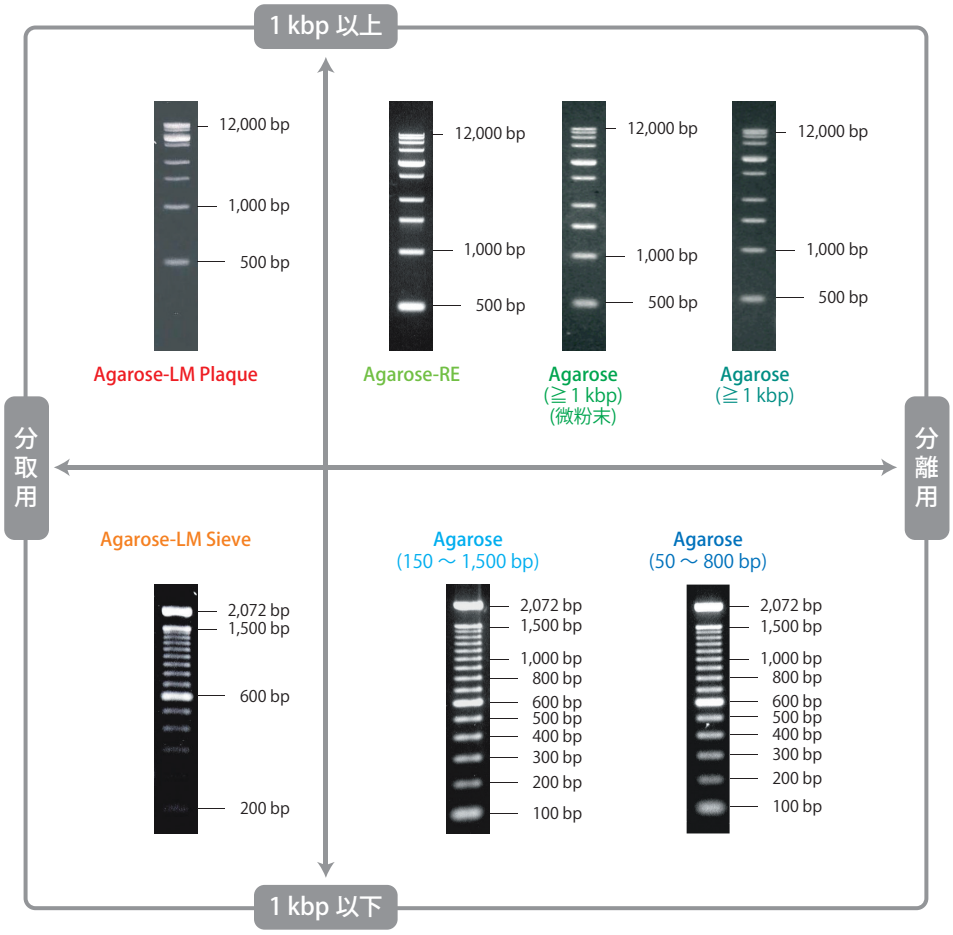
7. 電気泳動中の異常な発熱

実験操作	原因	解決策
ゲル作製 / 電気泳動	ゲルおよび泳動用緩衝液が不適切	適切な泳動用緩衝液の種類、濃度をご確認ください。ゲルと泳動用緩衝液は同一、同濃度をご使用ください。 泳動用緩衝液を使いまわしている場合は、新しく調製しなおしてください。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

アガロース　ラインアップ

分画範囲、融点の異なる各種アガロースを用意しています。
目的とサンプルの大きさに応じた最適のアガロースをお選びいただけます。

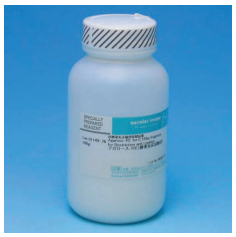


種類	特長
Agarose-LM Plaque	低融点タイプ　融点：≦ 65.5℃（ゲル濃度 1.5%）
Agarose-LM Sieve	低融点タイプ　融点：≦ 65℃（ゲル濃度 4%）
Agarose-RE	Agarose(≧ 1 kbp) の酵素反応試験済み製品。制限酵素、ライゲーション反応阻害物質不含。
Agarose(≧ 1 kbp)(微粉末)	Agarose(≧ 1 kbp) を微粉末化。溶解が容易。秤量時の取り扱いが容易。均一ゲルを作製可能。
Agarose(≧ 1 kbp)	1 kbp 以上の核酸の分離に適する。
Agarose(150 ～ 1,500 bp)	短い核酸（150 ～ 1,500 bp）の分離に最適。
Agarose(50 ～ 800 bp)	さらに短い核酸（50 ～ 800 bp）の分離に最適。

アガロース LM Plaque(低融点)
(#01650-02)
Nacalai オンラインカタログへ

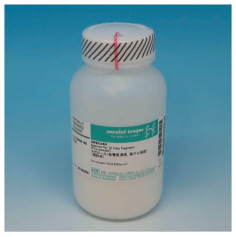
アガロース LM Sieve(低融点)
(#01651-92)
Nacalai オンラインカタログへ

アガロース -RE(酵素反応試験済)
(#01149-76)



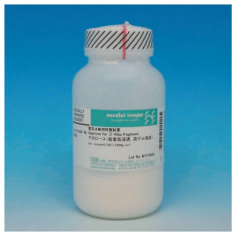
Nacalai オンラインカタログへ

アガロース
(低電気浸透 , 高ゲル強度)
(微粉末)(#02468-66)



Nacalai オンラインカタログへ

アガロース
(低電気浸透 , 高ゲル強度)
(#01163-76)



Nacalai オンラインカタログへ

アガロース (低電気浸透)
(for 150~1,500bp fragment)
(#01153-22)
Nacalai オンラインカタログへ

アガロース (低電気浸透)
(for 50~800bp fragment)
(#01147-12)
Nacalai オンラインカタログへ

緩衝液の調製方法

緩衝液を調製する際は、ヌクレアーゼの混入にご注意ください。

器具類：RNase Quiet など除去試薬を用いて処理

試薬類：弊社ではヌクレアーゼを保証した分子生物学グレード試薬を用意しています。特に使用する精製水は、ヌクレアーゼ保証をした滅菌水（#06442-95）の使用を推奨します。

＜TAE 緩衝液（10 ×） 1 L＞

0.4 M Tris、0.2 M 酢酸、10 mM EDTA

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（Tris）（121.14 g/mol）	48.5 g
酢酸（60.05 g/mol）	12 g
0.5 M EDTA（pH 8）	20 mL
精製水	—

Tris、酢酸、0.5 M EDTA（pH 8）を精製水に溶解させ、精製水で 1 L にします。

＜TBE 緩衝液（5 ×） 1 L＞

0.445 M Tris、0.445 M ほう酸、10 mM EDTA

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（Tris）（121.14 g/mol）	53.9 g
ほう酸（61.83 g/mol）	27.5 g
0.5 M EDTA（pH 8）	20 mL
精製水	—

Tris、ほう酸、0.5 M EDTA（pH 8）を精製水に溶解させ、精製水で 1 L にします。

RNase Quiet
（#09147-14）
Nacalai オンラインカタログへ

滅菌水
（#06442-95）

Nacalai オンラインカタログへ

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン
（#35434-05）
Nacalai オンラインカタログへ

酢酸
（#08885-45）
Nacalai オンラインカタログへ

0.5mol/l-EDTA 溶液 (pH 8.0)
（#14347-21）

Nacalai オンラインカタログへ

▶ pH 調整は必要ありません。

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン
（#35434-05）
Nacalai オンラインカタログへ

ほう酸
（#05241-55）
Nacalai オンラインカタログへ

0.5mol/l-EDTA 溶液 (pH 8.0)
（#14347-21）
Nacalai オンラインカタログへ

▶ pH 調整は必要ありません。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

＜MOPS 緩衝液（10 ×）　1 L＞

0.4 M MOPS、100 mM 酢酸ナトリウム、10 mM EDTA、pH 7

MOPS（209.26 g/mol）	83.7 g
酢酸ナトリウム（82.03 g/mol）	8.2 g
0.5 M EDTA（pH 8）	20 mL
1 mol/L- 水酸化ナトリウム溶液	（pH 調整用）
精製水	—

MOPS、酢酸ナトリウム、0.5 M EDTA（pH 8）を精製水に溶解させ、精製水で 900 mL 程度にします。水酸化ナトリウムを用いて pH 7 へ調整し、その後精製水で 1 L にします。

＜Loading Dye（6 ×）　10 mL＞

30（v/v）% グリセリン、0.12（w/v）% BPB*、0.12（w/v）% XC*、0.6（w/v）% Orange G*、50 mM EDTA

ブロモフェノールブルー（BPB）*	12 mg
キシレンシアノール FF（XC）*	12 mg
オレンジ G*	60 mg
グリセリン	3 mL
0.5 M EDTA（pH 8）	1 mL
精製水	—

精製水 5 mL 程度に BPB、XC、オレンジ G、0.5 M EDTA（pH 8）、グリセリンを溶解させ、精製水で 10 mL にします。

* 色素は適宜 1 ～ 3 種類を選択し、混合してください。
検出する核酸の鎖長に重なり検出が妨害される場合は、当該色素を抜く、もしくは濃度を減らしてください。

MOPS
（#23438-64）
Nacalai オンラインカタログへ

酢酸ナトリウム
（#31137-25）
Nacalai オンラインカタログへ

0.5mol/l-EDTA 溶液 (pH 8.0)
（#14347-21）

Nacalai オンラインカタログへ

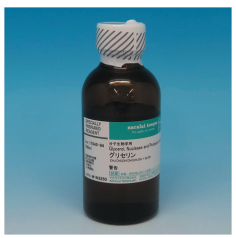
1mol/l- 水酸化ナトリウム溶液
（#11678-65）
Nacalai オンラインカタログへ

ブロモフェノールブルー
（#05808-61）
Nacalai オンラインカタログへ

オレンジ G
（#25401-22）
Nacalai オンラインカタログへ

キシレンシアノール FF
（#36629-64）
Nacalai オンラインカタログへ

グリセリン
（#17045-94）



Nacalai オンラインカタログへ

0.5mol/l-EDTA 溶液 (pH 8.0)
（#14347-21）
Nacalai オンラインカタログへ

＜変性ゲル Loading Dye　10 mL＞

95% ホルムアミド、0.025（w/v）% BPB*、0.025（w/v）% XC*、
0.05（w/v）% Orange G*、0.025（w/v）% SDS、5 mM EDTA

ブロモフェノールブルー（BPB）*	2.5 mg
キシレンシアノール FF（XC）*	2.5 mg
オレンジ G*	5 mg
10% SDS	0.025 mL
ホルムアミド	9.5 mL
0.5 M EDTA（pH 8）	0.1 mL
精製水	—

精製水以外を混合溶解後、精製水で 10 mL にします。
小分けにし、冷凍保存してください。

* 色素は適宜 1 ～ 3 種類を選択し、混合してください。
検出する核酸の鎖長に重なり検出が妨害される場合は、当該色素を抜く、もしくは濃度を減らしてください。

＜40% アクリルアミド / ビス溶液（19:1）　500 mL＞

38（w/v）% アクリルアミド、2（w/v）% *N,N'*- メチレンビスアクリルアミド

アクリルアミド	190 g
N,N'- メチレンビスアクリルアミド	10 g
精製水	—

精製水 300 mL 程度にアクリルアミド、*N,N'*- メチレンビスアクリルアミドを溶解させ、精製水で 500 mL にします。

ブロモフェノールブルー
（#05808-61）
Nacalai オンラインカタログへ

オレンジ G
（#25401-22）
Nacalai オンラインカタログへ

キシレンシアノール FF
（#36629-64）
Nacalai オンラインカタログへ

10%-SDS 溶液
（#30562-04）
Nacalai オンラインカタログへ

ホルムアミド
（#02020-64）

Nacalai オンラインカタログへ

0.5mol/l-EDTA 溶液 (pH 8.0)
（#14347-21）
Nacalai オンラインカタログへ

アクリルアミド (モノマー)
（#06114-95）
Nacalai オンラインカタログへ

N,N'-メチレンビス
アクリルアミド
（#22407-52）
Nacalai オンラインカタログへ

▶ アクリルアミドには神経毒があります。取り扱い時には手袋、ゴーグルなどの保護具を装着してください。

▶ ウォーターバスなどを用いて 37℃ 程度に加温しながら溶解させると、早く調製することができます。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

＜Tris-Glycine pH 8.3（1 ×）　1 L＞

25 mM Tris、192 mM グリシン

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（Tris）（121.14 g/mol）	3 g
グリシン（75.07 g/mol）	14.4 g
精製水	—

精製水 800 mL 程度に Tris、グリシンを溶解させ、精製水で 1 L にします。

※泳動用緩衝液（10 倍濃縮）（#30340-91）をご使用いただくと便利です。精製水で 10 倍希釈してください。

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（#35434-05）

Nacalai オンラインカタログへ

グリシン（#17141-95）

Nacalai オンラインカタログへ

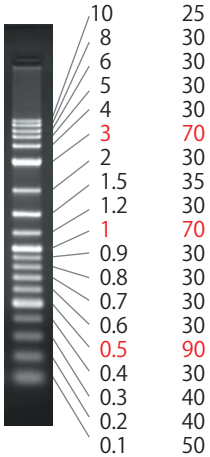
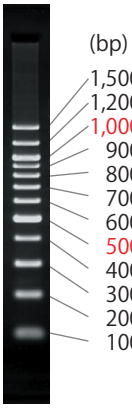
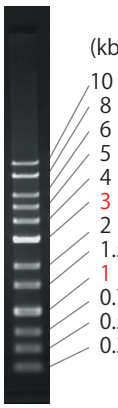
泳動用緩衝液（10 倍濃縮）（#30340-91）

Nacalai オンラインカタログへ

▶ pH 調整は必要ありません。

DNA Ladder One シリーズ

DNA Ladder One シリーズは、BPB および Orange G の 2 種類の色素をプレミックスした ready to use タイプのラダーマーカーです。目安となるバンドが濃く検出されるため、各バンドのサイズを容易に識別できます。ブロードレンジでは 0.1 kbp ～ 10 kbp までの広範囲をカバーしています。

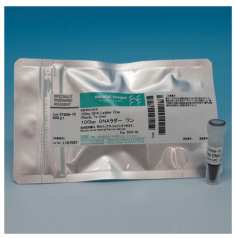
Broad Range	100 bp	1 kbp
 (kbp) DNA量(ng) approx. 10 25 8 30 6 30 5 30 4 30 **3 70** 2 30 1.5 35 1.2 30 **1 70** 0.9 30 0.8 30 0.7 30 0.6 30 **0.5 90** 0.4 30 0.3 40 0.2 40 0.1 50 2% アガロースゲル / TAE マーカー使用量　5 µL	 (bp) DNA量(ng) approx. 1,500 30 1,200 30 **1,000 70** 900 30 800 30 700 30 600 30 **500 90** 400 30 300 40 200 40 100 50 2.5% アガロースゲル / TBE マーカー使用量　5 µL	 (kbp) DNA量(ng) approx. 10 25 8 30 6 35 5 35 4 35 **3 80** 2 35 1.5 35 **1 85** 0.7 35 0.5 35 0.3 35 0.8% アガロースゲル / TAE マーカー使用量　5 µL
濃度 0.15 µg/µL	濃度 0.1 µg/µL	
バッファー組成 0.03% Bromophenol Blue 0.1% Orange G 6% Glycerol 10 mM EDTA 10 mM Tris-HCl（pH 8.0）		

赤文字で示したサイズのバンドを増強

DNA Ladder One(Broad Range)
(Ready To Use)
（#08362-85）

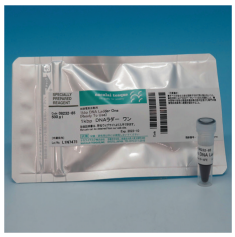
Nacalai オンラインカタログへ

100bp DNA Ladder One
(Ready To Use)
（#07908-75）



Nacalai オンラインカタログへ

1kbp DNA Ladder One
(Ready To Use)
（#08232-85）



Nacalai オンラインカタログへ

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

ヌクレアーゼ / 核酸除去試薬　RNase Quiet

RNase Quiet は、実験台やガラス器具、プラスチック製品にスプレーし拭き取ることにより、RNase、DNase などのヌクレアーゼや RNA、DNA などの核酸を除去します。

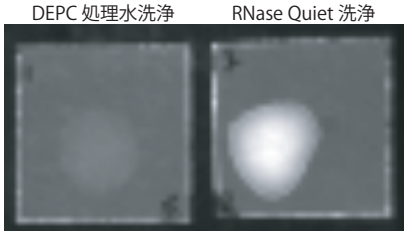
使用方法

実験台の洗浄	RNase Quiet を直接実験台表面にスプレーし、清潔なペーパータオルで全面に広げます。次に滅菌水（RNase 不含）を実験台の表面に塗布し、新しいペーパータオルで拭き取ります。
器具類の洗浄	清潔なペーパータオルに十分な RNase Quiet をしみこませ、器具の表面を拭きます。次に滅菌水（RNase 不含）をしみこませたペーパータオルで RNase Quiet を拭き取った後、新しいペーパータオルで拭き取ります。小さい部品は RNase Quiet に 2 分程度浸した後、滅菌水（RNase 不含）で洗浄し、新しいペーパータオルで拭き取ります。
プラスチック、ガラス器具類の洗浄	十分量の RNase Quiet を容器に注ぎ、攪拌により内側の表面全体になじませます。次に RNase Quiet を廃棄した後、滅菌水（RNase 不含）にて 2 回攪拌洗浄し、乾燥させます。
ピペット類の洗浄	ピペットの取扱説明書に従って分解した後、シャフト部分を RNase Quiet に 1 分程度浸します。滅菌水（RNase 不含）で洗浄した後、新しいペーパータオルで拭き取り、組み立ててください。シャフト部分以外は、清潔なペーパータオルに十分な RNase Quiet をしみこませ、表面を拭きます。次に滅菌水（RNase 不含）をしみこませたペーパータオルで RNase Quiet を拭き取った後、新しいペーパータオルで拭き取ります。なお、内部のピストン部分は洗浄を行わないでください。

※必ず単独でご使用ください。アルミニウムなどの金属や酸性溶液と混ぜると有害ガスが発生し危険です。
　また本製品はアルカリ性溶液のため取り扱いにご注意ください。

確認試験 1　RNase 汚染カバーガラスにおける RNase 除去効果

カバーガラスの RNase 汚染を、RNase Quiet により除去できていることが分かります。

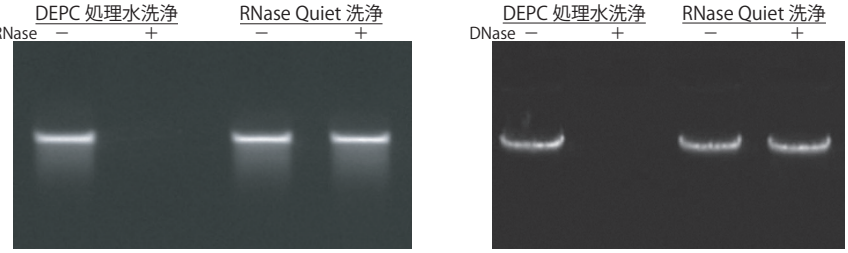


1. RNase A 溶液（1 mg/mL）100 µL をカバーガラスに塗布、乾燥し、RNase 汚染カバーガラスを作製。
2. DEPC 処理水および RNase Quiet でスプレー後 1 分静置し、清潔なペーパータオルで拭き取り、滅菌水（RNase 不含）で洗浄。
3. RNA 溶液（40 µg/mL）50 µL をカバーガラス上に塗布し、37℃、30 分インキュベート。
4. 臭化エチジウム溶液（20 µg/mL）1 µL を 3 のカバーガラス上でピペッティング。
5. UV にて観察。

確認試験 2　RNase Quiet の RNase および DNase 除去効果

RNase Quiet により RNase および DNase が除去されているか確認試験を行いました。結果、RNase Quiet により両ヌクレアーゼが除去されていることが確認されました。

【RNase 除去効果】　【DNase 除去効果】



1. 1.5 mL マイクロチューブに、【RNase 除去効果】（+）: RNase A 溶液 100 µg/10 µL、（-）: 溶解バッファーのみ 10 µL、【DNase 除去効果】（+）: DNase I 27.3 U/10 µL、（-）: 溶解バッファーのみ 10 µL を入れ、乾燥。
2. DEPC 処理水もしくは RNase Quiet を 1 mL 加え、1 分反応。
3. 2 の溶液を捨て、DEPC 処理水を 1 mL 加え洗浄。
4. 3 の DEPC 処理水を捨て、【RNase 除去効果】RNA 溶液 1 µg/25 µL、【DNase 除去効果】DNA 溶液 1 µg/25 µL および 50 mmol/L 塩化マグネシウム 1 µL をそれぞれ添加し、37℃、1 時間反応。
5. 反応終了後の 4 をアガロースゲルにて電気泳動し、臭化エチジウムを用いて検出。

RNase Quiet
（#09147-14）

Nacalai オンラインカタログへ

RNase Quiet for Replacement
（#09477-94）

Nacalai オンラインカタログへ

Dispotray

弊社では電気泳動ゲルの染色やブロッティングメンブレンの洗浄など、さまざまな用途に使用できるディスポーザブルトレイを用意しています。

Bullet PAGE One Precast Gel（横 80 mm ×縦 70 mm）における使用例
（SS サイズは Bullet PAGE One Precast Gel を半分に切ったもの）

Dispotray の製品比較

	Dispotray-SS	Dispotray-S	Dispotray-M
製品番号	19386-74	16526-82	16551-84
外寸 横×縦×高さ（mm）	100 × 70 × 13	150 × 105 × 19	200 × 140 × 25
底面サイズ 横×縦（mm）	80 × 50	122 × 80	165 × 105
液量の目安 *1、*2、*3、*4	10 mL 25 mL	20 mL 80 mL	30 mL 160 mL

*1 Bullet CBB Stain One(Ready To Use)（#13542）をそれぞれの容量でトレイに入れた写真となります。
*2 使用可能な液量は、振とうの強さ、液の物性（有機溶媒、界面活性剤などの有無）により異なります。
*3 トレイ内の液量が少ない場合、振とうを少し強くした方がゲル全体を均等に染めることができます。
*4 トレイ内の液量が多い場合は、強く振とうするとトレイからこぼれることがあるので、ご注意ください。

使用方法

1. 本製品の角から、少しずつ液を除去し、本製品内の液量を減らします。
2. ある程度液量が減ったところで、本製品の対角線に沿って角を合わせるように、本製品を折り曲げます（図 1、図 2）。
3. 溶液排出側を図 3 のように手で押さえ、ゲルやメンブレンが落下しないように注意しながら、液を除去します。

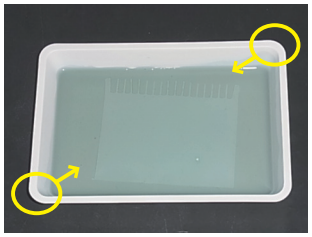


図 1. 対角に折り曲げます。

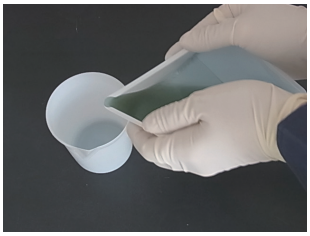


図 2. 少し折り曲げ、トレイ内の液を少量除去します。

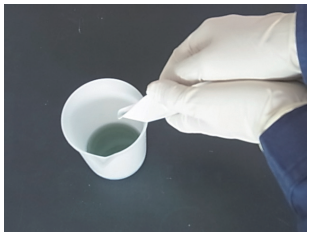


図 3. さらに折り曲げて、ゲルが落下しないように、トレイ内の液を除去します。

Dispotray-SS
（#19386-74）

Nacalai オンラインカタログへ

Dispotray-S
（#16526-82）

Nacalai オンラインカタログへ

Dispotray-M
（#16551-84）

Nacalai オンラインカタログへ

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

タンパク質の電気泳動とは

タンパク質の電気泳動とは、網目構造を形成した支持体中でタンパク質を分子量、電荷、形などにより分離させる手法です。支持体としてセルロースアセテート膜やアガロースなども用いられますが、ポリアクリルアミドゲルを用いたタンパク質電気泳動が主流となっています。

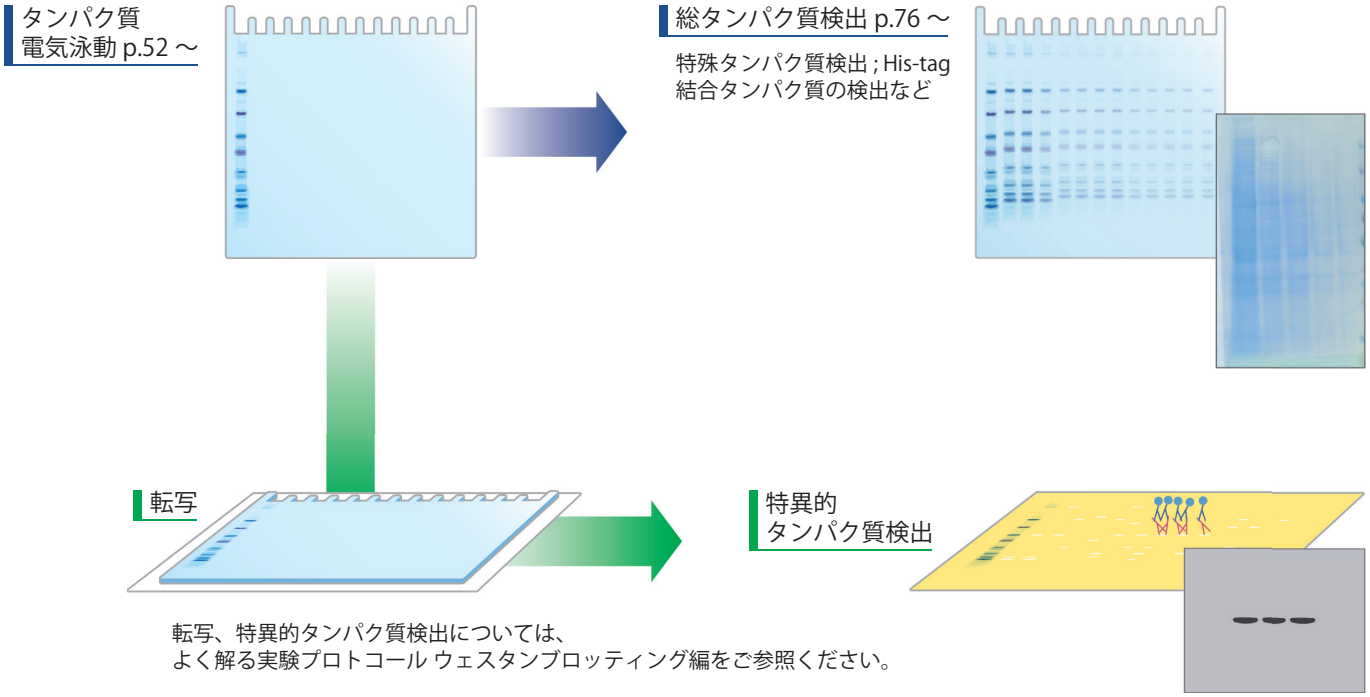
タンパク質電気泳動の種類

種類	分離要因	特徴
SDS-PAGE	分子量	タンパク質電気泳動の主流。 SDS 変性および還元剤により電荷、形をキャンセリングし、分子量のみにより分離することができる。 なお、非還元下（SDS 変性のみ）で高次元構造や多量体維持に寄与しているジスルフィド結合（S-S 結合）を保持したまま分離する場合もある。
Native-PAGE	分子量、電荷、形	変性をせずに実施するため、分子量、電荷、形全てが反映され分離される。
尿素 -PAGE	分子量、電荷	尿素変性により形をキャンセリングし、分子量、電荷が反映され分離される。
BN-PAGE	分子量、形	CBB の結合により電荷がキャンセリングされ、分子量、形が反映され分離される。 BN-PAGE 後に SDS-PAGE を組み合わせることにより、複合体構造をとるタンパク質などの研究に利用されている。
二次元電気泳動	電荷（1D）→分子量（2D）	一次元目（1D）に等電点電気泳動を行い電荷により分離し、その後二次元目（2D）に SDS-PAGE を行い分子量により分離を行う。

本プロトコールでは、SDS-PAGE、二次元電気泳動のプロトコールを紹介しています。

タンパク質電気泳動後の実験

電気泳動後は、総タンパク質（あるいは特殊なタンパク質）の検出、もしくは抗原 - 抗体反応を利用し特異的なタンパク質を検出するウェスタンブロッティングが行われます。



転写、特異的タンパク質検出については、
よく解る実験プロトコール ウェスタンブロッティング編をご参照ください。

SDS-PAGE（自家調製ゲルによる電気泳動）

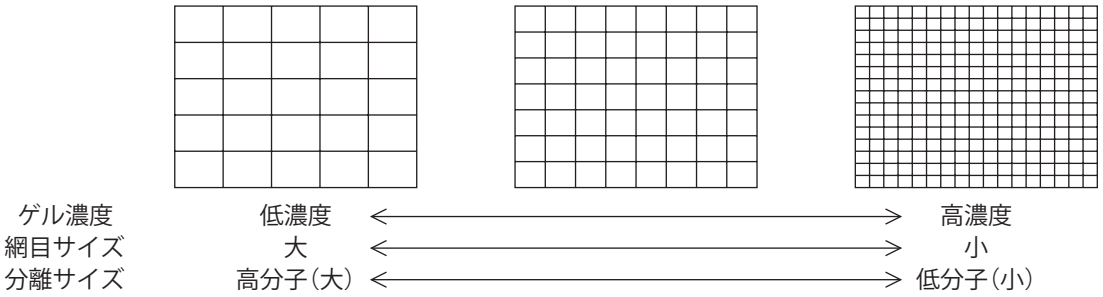
SDS-PAGE は、SDS と結合してマイナスに荷電したタンパク質が、ポリアクリルアミドゲルの網目中を泳動することで、分子量よりに分離される電気泳動法です。操作が簡単で、一度に多くのサンプルを短時間で分析できることから、タンパク質の分析によく用いられます。

タンパク質サンプルの調製

SDS-PAGE では、タンパク質サンプルを SDS および還元剤下で加熱することで、タンパク質中のジスルフィド結合（S-S 結合）や水素結合を切断します。これにより、分子量に応じて一律に SDS が結合した直鎖状のタンパク質が泳動されます。なお、イムノグロブリンを軽鎖と重鎖に分けずに泳動する場合など、非還元下でジスルフィド結合を維持したまま泳動する場合もあります。

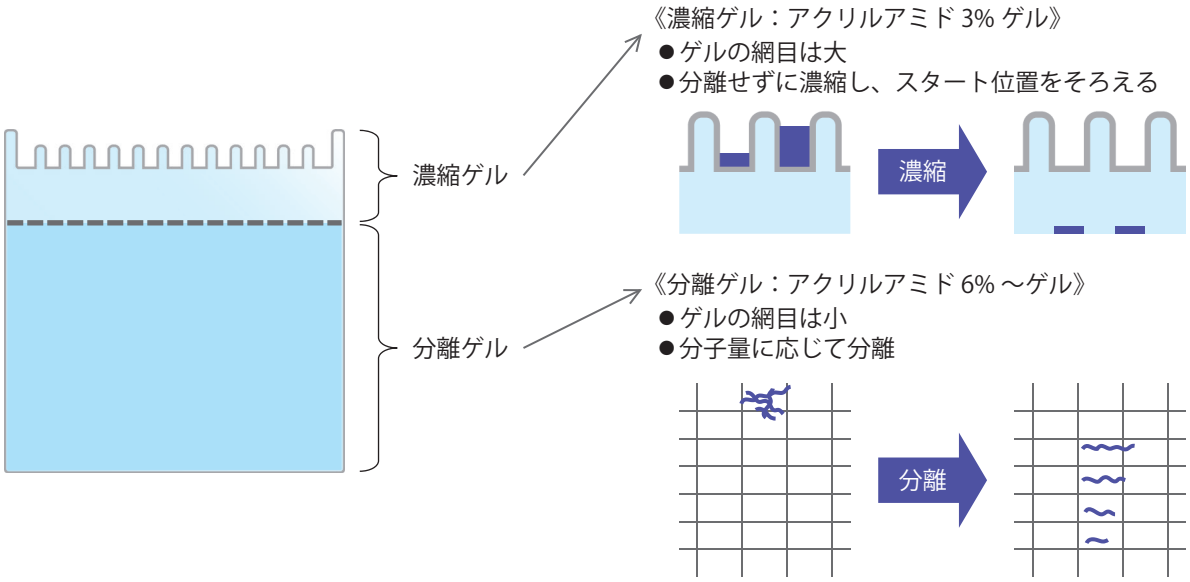
ゲル濃度と分離サイズ

SDS によりマイナスに荷電させたタンパク質は、電圧をかけることで陽極（＋）方向に移動します。移動中、ポリアクリルアミドの網目構造を通過することで、タンパク質中の小さな分子は速く、大きな分子はゆっくり移動し、結果、分子量により分離されます（非還元下での泳動の場合、ジスルフィド結合を保持したまま泳動するので、タンパク質の「形」も一部反映される場合があります）。
このポリアクリルアミドゲルの網目は、アクリルアミド濃度が濃いほど細かくなり分子量の小さなタンパク質の分離に、アクリルアミド濃度が薄いほど大きくなり分子量の大きなタンパク質の分離に向いています。



濃縮ゲルと分離ゲル

一般的な SDS-PAGE に用いるゲルは 2 段構造となっており、上側を濃縮ゲル（Stacking Gel）、下側を分離ゲル（Separating Gel）といいます。タンパク質サンプルは濃縮ゲルを通過する過程で濃縮され、濃縮ゲルと分離ゲルの境目に一線に並びます。その後、タンパク質サンプルは一斉に分離ゲルに入り、分子量により分離されます。



グラジエントゲル

アクリルアミド濃度に勾配を有する（上から下に徐々にアクリルアミド濃度が濃くなっていく）ゲルで、広範囲の分子量の分離が可能です。調製には特殊な器具が必要で作製過程が煩雑なため、自家調製はあまりされず、プレキャストゲルが主流となっています。

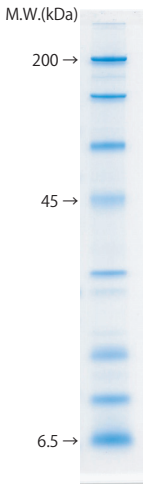
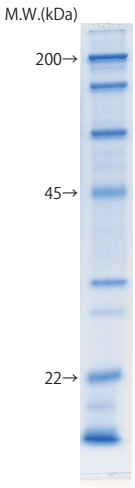
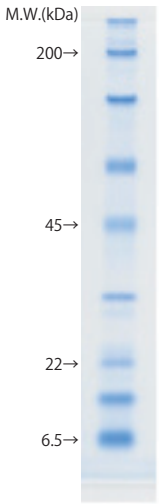
動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

SDS-PAGE（自家調製ゲルによる電気泳動）

Laemmli 泳動法、および WIDE RANGE Gel と Rapid Running Buffer

弊社では、Tris-Glycine をベースとした Laemmli 泳動法* に準拠した試薬とは別に、均一ゲルでもグラジエント様ゲルが作製できる WIDE RANGE Gel Preparation Buffer および、高速電気泳動を可能とする泳動用緩衝液 Rapid Running Buffer をラインアップしています。

* Laemmli, U. K. Nature 1970, 227(5259), p. 680-685

	WIDE RANGE Gel	Laemmli 泳動法	Rapid Running Buffer
ゲル	WIDE RANGE Gel	Laemmli 法組成ゲル	Laemmli 法組成ゲル
泳動用緩衝液	Laemmli 法組成泳動用緩衝液（Tris-Glycine-SDS）		Rapid Running Buffer
特長	グラジエント様分離	従来の方法	泳動時間短縮
分離例			
（ゲル濃度）	10%	ゲル濃度を 2% 低くする ←	12%
		ゲル濃度を 4% 低くする →	8%

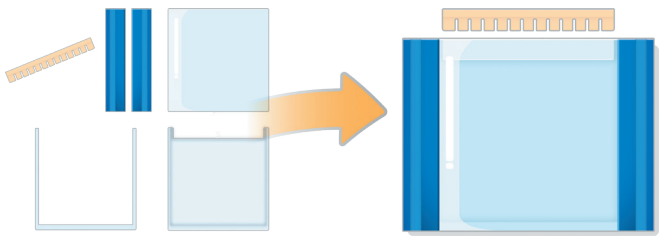
WIDE RANGE Gel および Rapid Running Buffer 使用の場合、Laemmli 泳動法とは異なった泳動パターンを示します。
WIDE RANGE Gel の場合、Laemmli 法組成ゲル使用時よりも 2% 低いゲル濃度をお試しください。
Rapid Running Buffer の場合、Laemmli 法組成泳動用緩衝液使用時よりも 4%低いゲル濃度をお試しください。
そうすることで Lammli 泳動法に近い泳動パターンとなります。
詳細は p.105「電気泳動パターン」をご参照ください。

Laemmli 泳動法

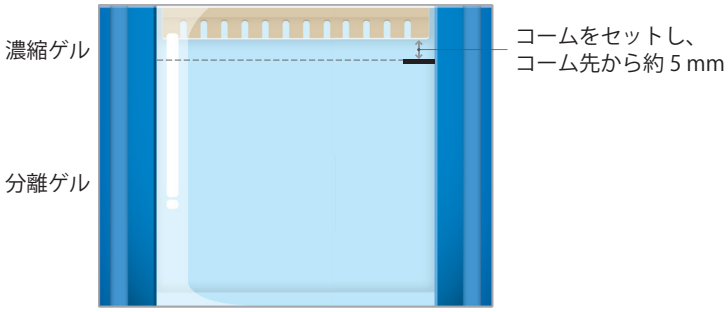
実験プロトコール

1. ポリアクリルアミドゲルの作製

① ゲルフレームを組み立てます。



② 組み立てたゲルフレームに下記のように 1 カ所印を付けます。



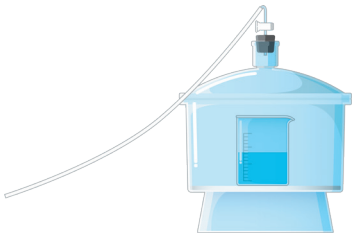
SDS-PAGE（自家調製ゲルによる電気泳動）

③ 分離ゲルを作製するため、ビーカーに試薬を下表の割合で加え、混合します。ゲル濃度は、サンプルの分子量が大きいほど低くします（電気泳動パターンについては p.105 をご参照ください）。10 mL で 1 枚のミニゲルを作製することができます。

表. 10 mL の分離ゲルを作製する場合の各試薬の容量（単位：mL）

ポリアクリルアミドゲル濃度（%）	6	8	10	12	15
40(w/v)%- アクリルアミド / ビス混合液 (29:1) または (37.5:1)	1.5	2.0	2.5	3.0	3.8
分離ゲル調製用緩衝液 (4 倍濃縮)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
10(w/v)%- ペルオキソ二硫酸アンモニウム溶液（10% APS）	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
精製水	5.9	5.4	4.9	4.4	3.6

④ 吸引できるデシケーターに入れ、5 ～ 10 分減圧し、脱気します。この操作が十分でないと、ゲルの固化に時間を要したり、ウェルが形成しにくかったりする場合があります（アクリルアミドの重合を妨害する溶存酸素を除去します）。

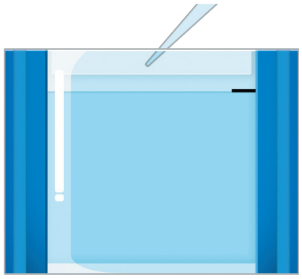


⑤ *N,N,N',N'*- テトラメチルエチレンジアミン（TEMED）を添加し、攪拌します。攪拌後は、速やかに⑥へ進んでください。

表. 10 mL の分離ゲルを作製する場合の TEMED 添加量（単位：mL）

ポリアクリルアミドゲル濃度（%）	6	8	10	12	15
N,N,N',N'- テトラメチルエチレンジアミン（TEMED）	0.008	0.006	0.006	0.006	0.006

⑥ ゲルフレームの②で付けた印まで、溶液を流し込みます。



⑦ ゲル溶液を流し込んだ後すぐに、精製水または 1- ブタノールを重層し、1 時間以上静置します。

▶ ゲルフレームは、メーカーによってサイズや形状が異なります。

▶ ゲル溶液量はメーカーによって異なる場合があります。

40(w/v)%-アクリルアミド / ビス混合液 (29:1)
(#06119-45)
Nacalai オンラインカタログへ

40(w/v)%-アクリルアミド / ビス混合液 (37.5:1)
(#06121-95)
Nacalai オンラインカタログへ

30(w/v)%-アクリルアミド / ビス混合液 (29:1)
(#06141-35)
Nacalai オンラインカタログへ

30(w/v)%-アクリルアミド / ビス混合液 (37.5:1)
(#06144-05)
Nacalai オンラインカタログへ

分離ゲル調製用緩衝液 (4 倍濃縮)
(#30651-05)
Nacalai オンラインカタログへ

▶ 分離ゲル用緩衝液の調製方法
→ p.107 参照

10(w/v)%-ペルオキソ二硫酸アンモニウム溶液
(#02634-34)
Nacalai オンラインカタログへ

▶ 10% APS の調製方法
→ p.108 参照

▶ TEMED を添加後は、アクリルアミドのゲル化が加速します。できるだけ早くゲルフレームに流し込んでください。

N,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミン
(#33401-72)
Nacalai オンラインカタログへ

▶ 1- ブタノールを使うことにより、ゲル溶液を流し込む際に発生した気泡を容易に除去することができます。

1- ブタノール
(#06016-85)
Nacalai オンラインカタログへ

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

SDS-PAGE（自家調製ゲルによる電気泳動）

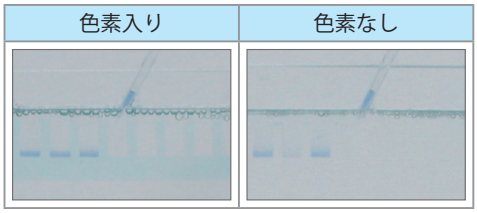
⑧ 分離ゲルを静置している間に、濃縮ゲル溶液を準備します。濃縮ゲルを作製するため、ビーカーに試薬を下表の割合で加え、混合します。ミニゲル 1 枚あたり、2 ～ 3 mL の濃縮ゲルを用意します。

表. 濃縮ゲル（3%）を作製する場合の各試薬の容量（単位：mL）

ゲル容量（mL）	2	4	6	8
40(w/v)%- アクリルアミド / ビス混合液 (29:1) または (37.5:1)	0.15	0.30	0.45	0.60
濃縮ゲル調製用緩衝液 (4 倍濃縮)	0.50	1.00	1.50	2.00
10(w/v)%- ペルオキソ二硫酸アンモニウム溶液（10% APS）	0.02	0.04	0.06	0.08
精製水	1.33	2.66	3.99	5.32

濃縮ゲル調製用緩衝液に、下記の色素入りの製品（濃縮ゲル調製用緩衝液 (4 倍濃縮)(色素入り)（#09268-34））を使用することで、ゲルとウェルの境界がはっきりし、サンプルの添加が容易になります。

色素入りの緩衝液で調製した濃縮ゲルでは、ウェルがはっきり見えています。



⑨ 吸引できるデシケーターに入れ、5 ～ 10 分減圧し、脱気します。この操作が十分でないと、ゲルの固化に時間を要したり、ウェルが形成しにくかったりする場合があります（アクリルアミドの重合を妨害する溶存酸素を除去します）。

⑩ 分離ゲルが固まったら、重層した精製水または 1- ブタノールをペーパータオルなどに吸収させて完全に除去します。1- ブタノールを使用した場合、精製水で洗浄することを推奨します。

⑪ *N,N,N',N'*- テトラメチルエチレンジアミン（TEMED）を濃縮ゲル溶液に添加し、撹拌します。撹拌後は、速やかに⑫へ進んでください。

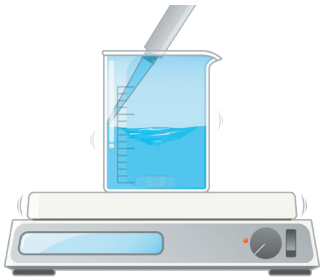
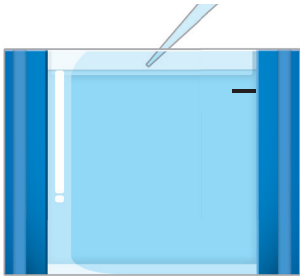


表. TEMED 添加量（単位：mL）

ゲル容量（mL）	2	4	6	8
N,N,N',N'- テトラメチルエチレンジアミン（TEMED）	0.002	0.004	0.006	0.008

⑫ ゲルフレーム上部いっぱいまで、濃縮ゲル溶液を流し込みます。



濃縮ゲル調製用緩衝液 (4 倍濃縮)（#32158-25）

Nacalai オンラインカタログへ

濃縮ゲル調製用緩衝液 (4倍濃縮)（色素入り)（#09268-34）

Nacalai オンラインカタログへ

▶ 濃縮ゲル用緩衝液の調製方法 → p.107 参照

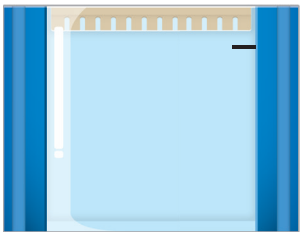
▶ 10% APS の調製方法 → p.108 参照

▶ 余った溶液がゲル化していることをご確認ください。
ゲルフレーム内のゲル化は、ポリアクリルアミドゲルの上に精製水またはブタノールの層ができていることを確認し、さらにフレームを傾けて確認します。

▶ TEMED を添加後は、アクリルアミドのゲル化が加速します。できるだけ早くゲルフレームに流し込んでください。

SDS-PAGE（自家調製ゲルによる電気泳動）

⑬ 直ちにコームをガラスプレートの間に挿し込みます。室温で 1 時間程度放置するとゲルが固まります。



▶ コームの先に気泡が入らないように斜めから挿入してください。

2. 泳動用サンプルの調製

▶ 必要に応じて泳動用サンプル調製の前に、タンパク質サンプルの濃縮や分析妨害物質の除去を行ってください（p.113 参照）。

① タンパク質サンプルと試料緩衝液を混合します。

	タンパク質サンプル：試料緩衝液　容量比
試料緩衝液（6 ×）の場合	5：1
試料緩衝液（2 ×）の場合	1：1

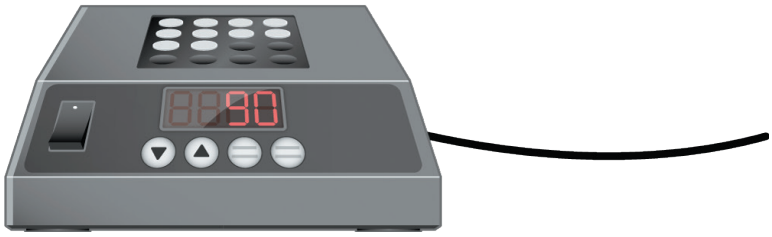
▶ 試料緩衝液の調製方法
→ p.108 参照

▶ 試料緩衝液 6 倍濃縮タイプは、タンパク質濃度が薄い時もしくはタンパク質量を多く泳動したい時に有用です。

試料緩衝液 (SDS-PAGE用，6倍濃縮，還元剤含有)（#09499-14）毒物非該当
Nacalai オンラインカタログへ

試料緩衝液 (SDS-PAGE用，6倍濃縮，還元剤不含)（#09500-64）
Nacalai オンラインカタログへ

② 試料緩衝液と混合した泳動用サンプルを 90℃ 以上で 3 分程度加温し、タンパク質のジスルフィド結合を切断します。なお、還元剤不含の試料緩衝液を使用し非還元状態で泳動する場合は、加温を行わないでください。



3. 泳動用緩衝液の作製

泳動用緩衝液 (10 倍濃縮 , SDS-PAGE 用 , トリス - グリシン系) と精製水を容量比 1：9 で混合します。

▶ 試料緩衝液 2 倍濃縮タイプは、タンパク質サンプルとの混合比が等量で分かりやすく、混合ミスを軽減できます。

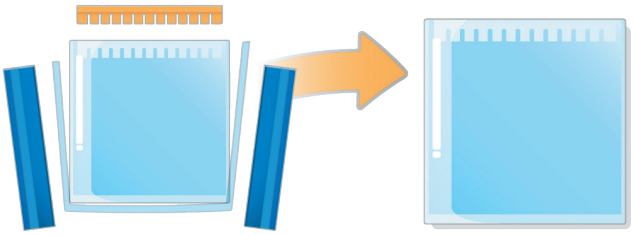
試料緩衝液 (SDS-PAGE用，2倍濃縮，2-ME含有)（#30566-22）
Nacalai オンラインカタログへ

試料緩衝液 (SDS-PAGE用，2倍濃縮，2-ME不含)（#30567-12）
Nacalai オンラインカタログへ

泳動用緩衝液 (10倍濃縮，SDS-PAGE用，トリス -グリシン系)（#30329-61）
Nacalai オンラインカタログへ

4. 泳動

① 作製したポリアクリルアミドゲルからコームを静かに抜き取り、クリップなどの付属品を外します。



② ポリアクリルアミドゲル用電気泳動槽へセットし、泳動用緩衝液を加えます。

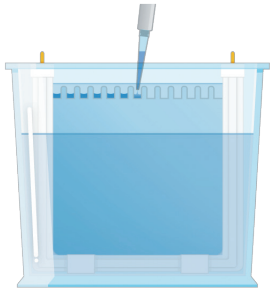
▶ 泳動用緩衝液の調製方法
→ p.108 参照

▶ ウェルを洗浄し、未反応のアクリルアミドを除去してください。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

SDS-PAGE（自家調製ゲルによる電気泳動）

③ 泳動用サンプルを各ウェルへ静かに添加します。



④ 100 ～ 200 V（定電圧）にて BPB がゲル下端 5 mm 程度になるまで泳動します。

＼動画はこちら！／

ポリアクリルアミドゲル
泳動方法

▶ 着色マーカーである Protein Ladder One Plus は、SDS-PAGE での分離確認やウェスタンブロッティングでの転写確認の目安となります。分子量の測定には未着色マーカーであるタンパク質マーカーをご使用ください。

タンパク質マーカー (10 倍濃縮)
(#29458-24)

Nacalai オンラインカタログへ

Protein Ladder One Plus,
Triple-color for SDS-PAGE
(#19593-25)

Nacalai オンラインカタログへ

ウェスタンブロッティングに最適

Chemi-Lumi One Markers Kit
(#06456-70)

Nacalai オンラインカタログへ

▶ タンパク質マーカーの詳細と分離パターン → p.112 参照

▶ 泳動時間はゲル濃度、泳動用緩衝液や室内の温度により異なります。

SDS-PAGE（自家調製ゲルによる電気泳動）

WIDE RANGE Gel 使用の場合

実験プロトコール

1. ポリアクリルアミドゲル（WIDE RANGE Gel）の作製

下記の割合で、分離ゲル、濃縮ゲルをそれぞれ作製してください。ゲルの作製方法の詳細は、p.53「Laemmli 泳動法　実験プロトコール　1. ポリアクリルアミドゲルの作製」をご参照ください。

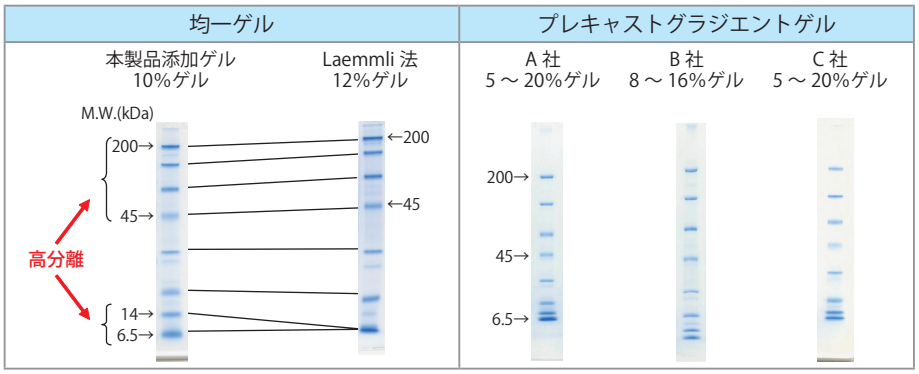
表. 10 mL の分離ゲルを作製する場合の各試薬の容量（単位：mL）

ポリアクリルアミドゲル濃度（%）	6	8	10	12	15
40(w/v)%- アクリルアミド / ビス混合液 (29:1) または (37.5:1)	1.5	2.0	2.5	3.0	3.8
WIDE RANGE Gel Preparation Buffer(4x) for PAGE	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
10(w/v)%- ペルオキソ二硫酸アンモニウム溶液（10% APS）	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
精製水	5.9	5.4	4.9	4.4	3.6
N,N,N',N'- テトラメチルエチレンジアミン（TEMED）	0.008	0.006	0.006	0.006	0.006

表. 濃縮ゲル（3%）を作製する場合の各試薬の容量（単位：mL）

ゲル容量（mL）	2	4	6	8
40(w/v)%- アクリルアミド / ビス混合液 (29:1) または (37.5:1)	0.15	0.30	0.45	0.60
WIDE RANGE Gel Preparation Buffer(4x) for PAGE	0.50	1.00	1.50	2.00
10(w/v)%- ペルオキソ二硫酸アンモニウム溶液（10% APS）	0.02	0.04	0.06	0.08
精製水	1.33	2.66	3.99	5.32
N,N,N',N'- テトラメチルエチレンジアミン（TEMED）	0.002	0.004	0.006	0.008

WIDE RANGE Gel は Laemmli 法組成ゲルと比べ、分離できる分子量範囲が広く、グラジエントゲルのような分離が可能です。



＜実験条件＞
サンプル：タンパク質マーカー（10 倍濃縮）（#29458-24）を 1 ×になるように調製し使用
染色　　：CBB Stain One(Ready To Use)（#04543）

＼動画はこちら！／

WIDE RANGE Gel
自家調製方法

2. 泳動用サンプルの調製

p.56「Laemmli 泳動法　実験プロトコール　2. 泳動用サンプルの調製」と同様に調製してください。

▶ Laemmli 泳動法で使用していたゲル濃度より 2% 程度低い濃度のゲルをまずはお試しください。電気泳動パターン詳細については p.105 をご参照ください。

例）

Laemmli 法 組成ゲル	WIDE RANGE Gel
12%	10%

WIDE RANGE Gel Preparation Buffer(4x) for PAGE
（#07831-94）
Nacalai オンラインカタログへ

▶ WIDE RANGE Gel Preparation Buffer は SDS 不含ですが、試料緩衝液および泳動用緩衝液に含まれる SDS により、SDS-PAGE の分離が得られます。基本的には問題とはなりませんが、ゲル中の SDS が実験系に特別に影響する場合は、予備検討の上ご使用ください。

40(w/v)%-アクリルアミド / ビス混合液 (29:1)
（#06119-45）
Nacalai オンラインカタログへ

40(w/v)%-アクリルアミド / ビス混合液 (37.5:1)
（#06121-95）
Nacalai オンラインカタログへ

30(w/v)%-アクリルアミド / ビス混合液 (29:1)
（#06141-35）
Nacalai オンラインカタログへ

30(w/v)%-アクリルアミド / ビス混合液 (37.5:1)
（#06144-05）
Nacalai オンラインカタログへ

10(w/v)%-ペルオキソ二硫酸アンモニウム溶液
（#02634-34）
Nacalai オンラインカタログへ

▶ 10% APS の調製方法
→ p.108 参照

N,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミン
（#33401-72）
Nacalai オンラインカタログへ

▶ 分離ゲルの重層液として、1- ブタノールなどアルコールを使用すると、アルコール中に白濁が生じる場合がありますが、分離や染色には影響しません。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

3. 泳動用緩衝液の作製

p.56「Laemmli 泳動法　実験プロトコール　3. 泳動用緩衝液の作製」と同様に作製してください。

4. 泳動

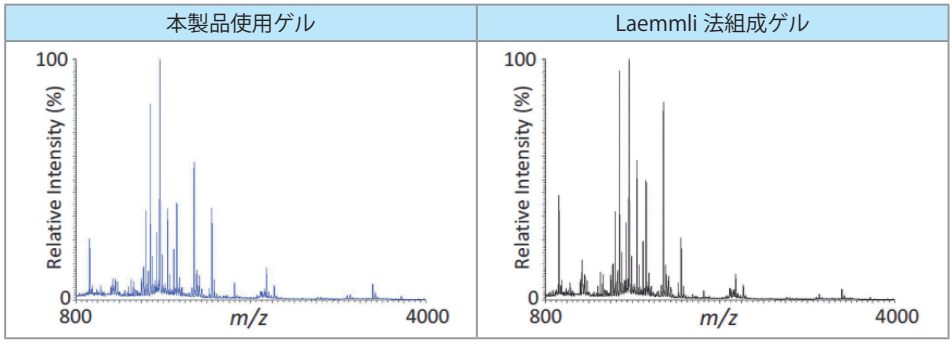
p.56「Laemmli 泳動法　実験プロトコール　4. 泳動」と同様に泳動してください。

▶ WIDE RANGE Gel は、冷蔵かつ密封し乾燥を避けた状態で、約 3 カ月の保存が可能です。

実施例　WIDE RANGE Gel を用いた分析例

■ WIDE RANGE Gel の MS への適用

WIDE RANGE Gel および Laemmli 法組成ゲルにて BSA を泳動し、ゲルネガティブ染色キットにより染色、切り出したタンパク質のバンドを処理し、MS により解析しました。



使用者の評価

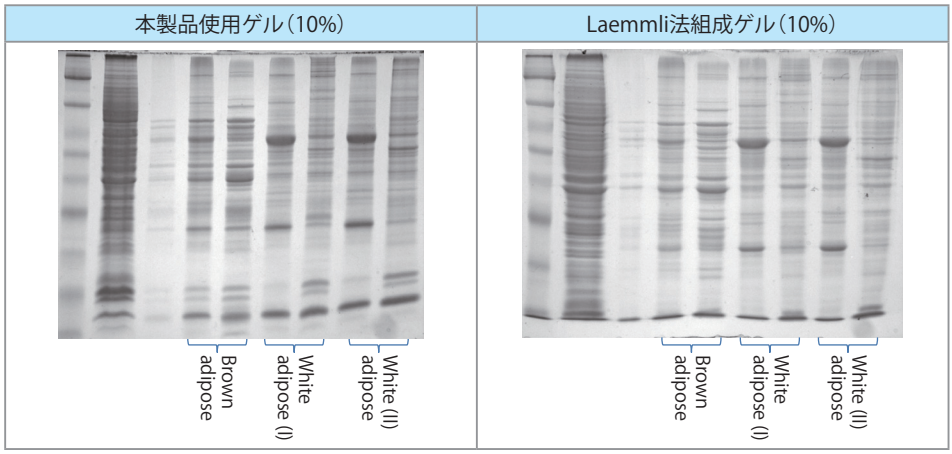
WIDE RANGE Gel Preparation Buffer を添加したゲルにおいても、Laemmli 法組成ゲルと同様のペプチドピークが同程度のイオン強度で検出された。
Laemmli 法組成ゲルと全く同等の操作・状況で各工程が実施でき、ゲルの切り出し、アルキル化、ペプチド断片の溶出なども全く差がなかった。
また、Laemmli 法組成ゲルと比較し、WIDE RANGE Gel Preparation Buffer を用いたゲルは、ゲル強度が高くなることから、取り扱いが容易であった。

データご提供：近畿大学 農学部 応用生命化学科　森山 達哉 准教授 / 吉村 征浩 博士

▶ WIDE RANGE Gel は 6% ゲルでも 10% Laemmli 法組成ゲルに近い強度を有しており、泳動後のゲルの取り扱いが容易です。

■ マウス脂肪組織タンパク質の分離

マウス脂肪組織より抽出したタンパク質を WIDE RANGE Gel および Laemmli 法組成ゲルにより分離し、CBB 染色により検出を行いました。



＜実験条件＞
サンプル：マウス脂肪組織抽出物
ゲル　　：10% ポリアクリルアミドゲル
染色　　：CBB 染色

使用者の評価

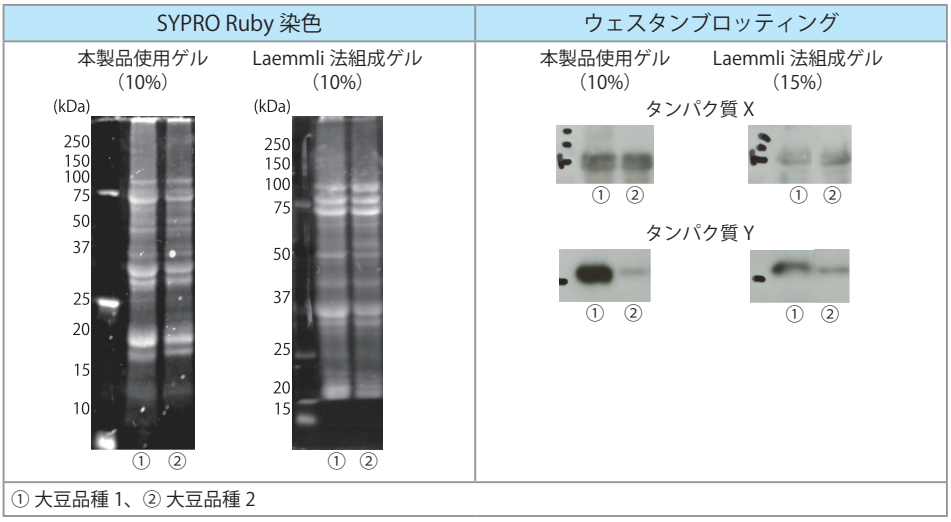
均一ゲル作製と同作業で容易にグラジエント様の効果が得られ、SDS-PAGE において良好な結果が得られた。また、ゲル強度も強くて扱いやすかった。

データご提供：京都大学 農学研究科 食品生物科学専攻 食品分子機能学分野　高橋 信之 助教

SDS-PAGE（自家調製ゲルによる電気泳動）

■ 大豆タンパク質の分離

大豆より抽出したタンパク質を WIDE RANGE Gel および Laemmli 法組成ゲルにより分離し、SYPRO Ruby 染色およびウェスタンブロッティングにより検出を行いました。



① 大豆品種 1、② 大豆品種 2

使用者の評価

SDS-PAGE 後の蛍光染色、ウェスタンブロッティングへの適用も問題はなかった。低分子量域もほぼ均等に分離し、動植物由来サンプルなど、広範囲の分子量のタンパク質を網羅的に分離するには非常に便利である。また、ゲル強度が従来のものよりも強くて扱いやすく、学生実験などには好都合と思われる。

データご提供：近畿大学 農学部 応用生命化学科　森山 達哉 准教授 / 矢野 えりか様

Rapid Running Buffer 使用の場合

実験プロトコール

1. ポリアクリルアミドゲルの作製

p.53「Laemmli 泳動法　実験プロトコール　1. ポリアクリルアミドゲルの作製」と同様に作製してください。

2. 泳動用サンプルの調製

p.56「Laemmli 泳動法　実験プロトコール　2. 泳動用サンプルの調製」と同様に調製してください。

▶ Laemmli 泳動法で使用していたゲル濃度より 4%低いゲル濃度で作製することで、従来の分離パターンに近くなります。電気泳動パターン詳細については p.105 をご参照ください。

例）

Laemmli 泳動法	Rapid Running Buffer 使用
12%	8%

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

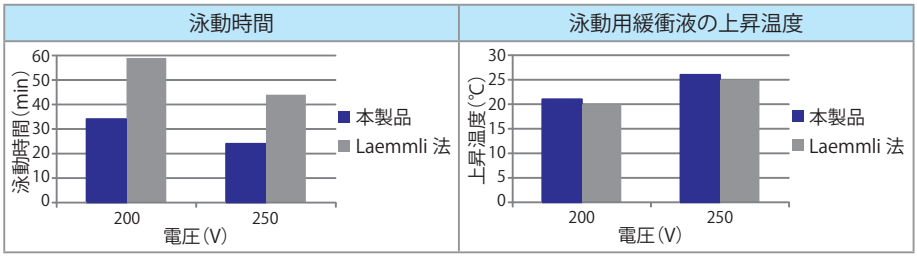
SDS-PAGE（自家調製ゲルによる電気泳動）

3. 泳動用緩衝液（Rapid Running Buffer）の作製

Rapid Running Buffer Solution(20x) for SDS-PAGE と精製水を容量比 1：19 で混合します

Rapid Running Buffer を使用することにより、泳動時間を約 60%に短縮することができます。また、泳動用緩衝液の温度上昇も Laemmli 法組成泳動用緩衝液と遜色ありません。

泳動時間と泳動用緩衝液の温度上昇の比較



＜実験条件＞　Laemmli 法組成のミニゲル 2 枚、泳動用緩衝液 380 mL を使用。

ゲル濃度	泳動用緩衝液
8%	本製品
12%	Laemmli 法組成泳動用緩衝液（0.025 mol/L Tris、0.192 mol/L L-Glycine、0.1% SDS）

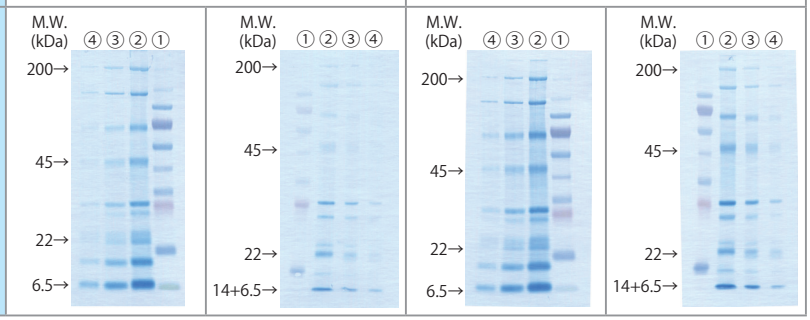
4. 泳動

ポリアクリルアミドゲルのセットからアプライは、p.56「Laemmli 泳動法 実験プロトコール　4. 泳動①～③」をご参照ください。

サンプルアプライ後、200 ～ 250 V（定電圧）にて BPB がゲル下端 5 mm 程度になるまで泳動します。

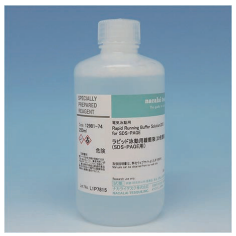
実施例　Rapid Running Buffer による泳動後の転写

Rapid Running Buffer および Laemmli 法組成泳動用緩衝液で泳動したゲルの転写効率を確認しました。Rapid Running Buffer を使用する場合、従来の Laemmli 法組成泳動用緩衝液で使用するゲルよりも 4% 低い濃度でゲルを作製することで、従来の分離パターンに近くなります。また、低濃度のゲルを使用することにより、転写効率も上昇します。

ゲル濃度	8%	12%	8%	12%
泳動用緩衝液	本製品	Laemmli 法組成泳動用緩衝液	本製品	Laemmli 法組成泳動用緩衝液
転写時間	10 分		30 分	
メンブレン染色像				

＜実験条件＞
サンプル　：① Protein Ladder One, Triple-color（販売終了）5 µL 添加
②～④ タンパク質マーカー（10 倍濃縮）（#29458-24）を② 3 ×、③ 1 ×、④ 1/3 ×になるように調製し、各 2 µL 添加
ゲル　：Laemmli 法組成ゲル（8% または 12%）（ミニゲル：75 mm × 90 mm × 1 mm）
泳動　：250 V 定電圧
転写　：セミドライ ウェスタンブロッティング用転写緩衝液（#30650-31）10 V 定電圧
メンブレン染色：CBB Stain One(Ready To Use)（#04543）により PVDF メンブレンを染色

Rapid Running Buffer Solution(20x) for SDS-PAGE (#12981-74)



Nacalai オンラインカタログへ

▶ 泳動時間はゲル濃度、泳動用緩衝液や室内の温度により異なります。

SDS-PAGE（Tris-Tricine 泳動法～低分子分離法～）　タンパク質電気泳動

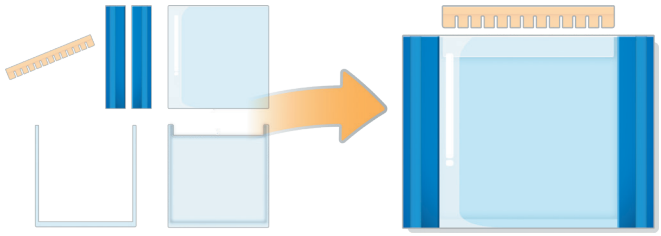
低分子を分離する場合、Laemmli 泳動法により分離を行うよりも、Schägger と von Jagow が開発した Tris-Tricine 泳動法* により分離を行う方が、分離が向上し明瞭なバンドを得ることができます。

* Schägger, H.; von Jagow, G. Anal. Biochem. 1987, 166(2), p. 368-379.

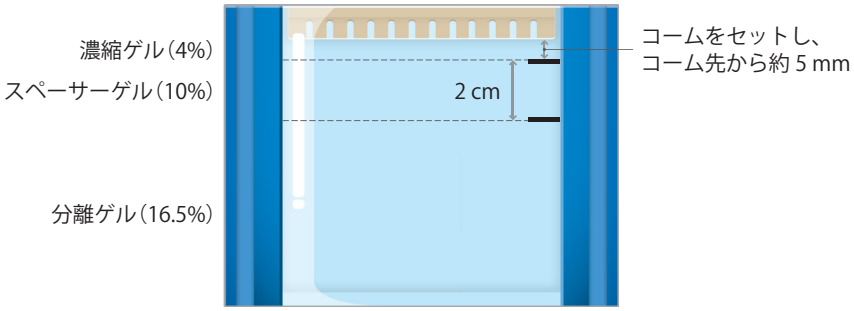
実験プロトコール

1. ポリアクリルアミドゲルの作製

① ゲルフレームを組み立てます。



② 組み立てたゲルフレームに下記のように 2 カ所印を付けます。



▶ Laemmli 法組成ゲルとは異なり、分離ゲルと濃縮ゲルの間にスペーサーゲルを作製します。5 kDa 以下の分離を行わない場合は省略可能です。

③ 分離ゲルおよびスペーサーゲルを作製するために、ビーカーに試薬を下表の割合で加え、混合します。

表. ミニゲル 1 枚分を作製する場合の各試薬の容量

	分離ゲル（16.5%） 10 mL 分	スペーサーゲル（10%） 5 mL 分
40(w/v)%- アクリルアミド / ビス混合液 (29:1)	4.13 mL	1.25 mL
Tris-Tricine 泳動法ゲル緩衝液	3.33 mL	1.67 mL
10(w/v)%- ペルオキソ二硫酸アンモニウム溶液（10% APS）	0.10 mL	0.05 mL
グリセリン	1.05 mL（1.33 g）	–
精製水	1.39 mL	2.03 mL

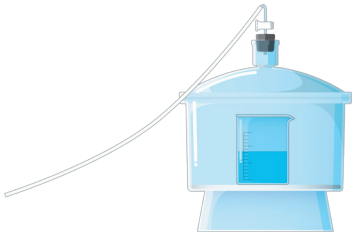
40(w/v)%-アクリルアミド / ビス混合液 (29:1)（#06119-45）
Nacalai オンラインカタログへ

30(w/v)%-アクリルアミド / ビス混合液 (29:1)（#06141-35）
Nacalai オンラインカタログへ

▶ Tris-Tricine 泳動法ゲル緩衝液は Laemmli 法組成ゲル時の組成とは異なります。

▶ ゲル緩衝液の調製方法
→ p.109 参照

④ 吸引できるデシケーターに入れ、5 ～ 10 分減圧し、脱気します。この操作が十分でないと、ゲルの固化に時間を要したり、ウェルが形成しにくかったりする場合があります（アクリルアミドの重合を妨害する溶存酸素を除去します）。



グリセリン（#17045-94）
Nacalai オンラインカタログへ

10(w/v)%-ペルオキソ二硫酸アンモニウム溶液（#02634-34）
Nacalai オンラインカタログへ

▶ 10% APS の調製方法
→ p.108 参照

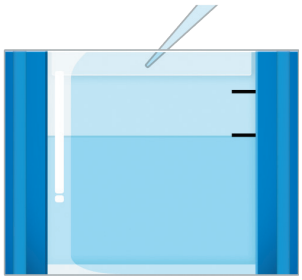
▶ ゲルフレームは、メーカーによってサイズや形状が異なります。

▶ ゲル溶液量はメーカーによって異なる場合があります。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

SDS-PAGE（Tris-Tricine 泳動法～低分子分離法～）

⑤ 分離ゲル溶液に TEMED 6 µL を添加、攪拌し、すぐにゲルフレームの下側の印まで流し込みます。

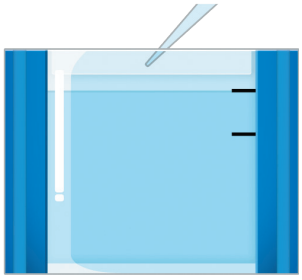


▶ TEMED を添加後は、アクリルアミドのゲル化が加速します。できるだけ早くゲルフレームに流し込んでください。

N,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミン（#33401-72）

Nacalai オンラインカタログへ

⑥ 続けてスペーサーゲル溶液に TEMED 3 µL を添加、攪拌し、すぐにゲルフレームの上側の印まで流し込みます。



▶ 分離ゲルの固化を待つ必要はありません。分離ゲル添加後、すぐにスペーサーゲルを添加してください。

⑦ スペーサーゲル溶液を流し込んだ後すぐに、精製水または 1- ブタノールを重層し、1 時間以上静置します。

1- ブタノール（#06016-85）

Nacalai オンラインカタログへ

⑧ 分離ゲル、スペーサーゲルを静置している間に、濃縮ゲル溶液を準備します。濃縮ゲルを作製するため、ビーカーに試薬を下表の割合で加え、混合します。

表. ミニゲル 1 枚分を作製する場合の各試薬の容量

	濃縮ゲル（4%） 3 mL 分
40(w/v)%- アクリルアミド / ビス混合液 (29:1)	0.3 mL
Tris-Tricine 泳動法ゲル緩衝液	0.75 mL
10(w/v)%- ペルオキソ二硫酸アンモニウム溶液（10% APS）	24 µL
精製水	1.93 mL

▶ Tris-Tricine 泳動法ゲル緩衝液は Laemmli 法組成ゲル時の組成とは異なります。

▶ ゲル緩衝液の調製方法
→ p.109 参照

⑨ 吸引できるデシケーターに入れ、5 ～ 10 分減圧し、脱気します。この操作が十分でないと、ゲルの固化に時間を要したり、ウェルが形成しにくかったりする場合があります（アクリルアミドの重合を妨害する溶存酸素を除去します）。

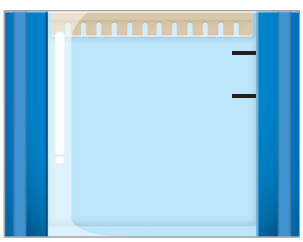
⑩ 分離ゲル、スペーサーゲルが固まったら、重層した精製水または 1- ブタノールをペーパータオルなどに吸収させて完全に除去します。1- ブタノールを使用した場合、精製水で洗浄することを推奨します。

▶ 余った溶液がゲル化していることをご確認ください。
ゲルフレーム内のゲル化は、ポリアクリルアミドゲルの上に精製水またはブタノールの層ができていることを確認し、さらにフレームを傾けて確認します。

⑪ 濃縮ゲル溶液に TEMED 2.4 µL を添加、攪拌し、ゲルフレーム上部いっぱいまで流し込みます。

▶ TEMED を添加後は、アクリルアミドのゲル化が加速します。できるだけ早くゲルフレームに流し込んでください。

⑫ 直ちにコームをガラスプレートの間に挿し込みます。室温で 1 時間程度放置するとゲルが固まります。



▶ コームの先に気泡が入らないように斜めから挿入してください。

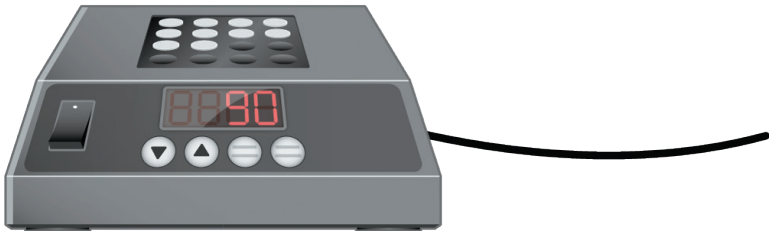
2. 泳動用サンプルの調製

① タンパク質サンプルと Tris-Tricine 泳動法試料緩衝液を容量比 1：1 で混合します。

② 試料緩衝液と混合した泳動用サンプルを 90℃ 以上で 3 分程度加温し、タンパク質のジスルフィド結合を切断します。なお、還元剤不含の試料緩衝液を使用し非還元状態で泳動する場合は、加温を行わないでください。

▶ 必要に応じて泳動用サンプル調製の前に、タンパク質サンプルの濃縮や分析妨害物質の除去を行ってください（p.113 参照）。

▶ 低分子分離の場合、泳動先端マーカーとして使用される BPB よりも先に泳動されるタンパク質があるため、泳動先端としては CBB を使用します。



3. Tris-Tricine泳動法泳動用緩衝液の作製

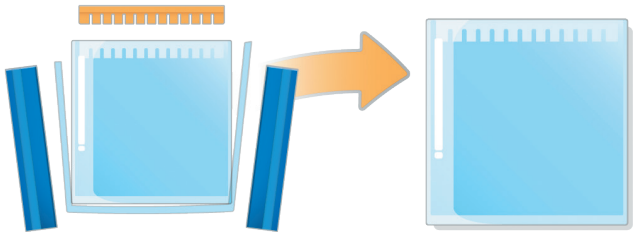
Tris-Tricine 泳動法泳動用緩衝液を準備します（10 倍濃縮液を作製しておくと便利です。使用前に精製水で 10 倍希釈してください）。

▶ 試料緩衝液の調製方法
→ p.109 参照

▶ 泳動用緩衝液の調製方法
→ p.109 参照

4. 泳動

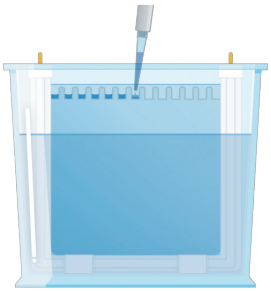
① 作製したポリアクリルアミドゲルからコームを静かに抜き取り、クリップなどの付属品を外します。



② ポリアクリルアミドゲル用電気泳動槽へセットし、泳動用緩衝液を加えます。

▶ ウェルを洗浄し、未反応のアクリルアミドを除去してください。

③ 泳動用サンプルを各ウェルへ静かに添加します。



④ 100 V（定電圧）にて CBB がゲル下端 5 mm 程度になるまで泳動します。

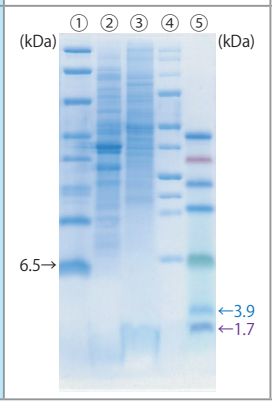
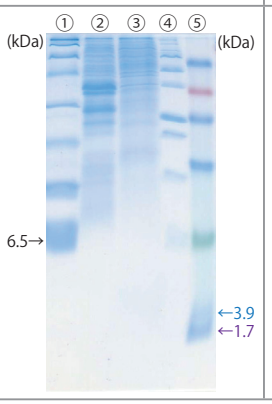
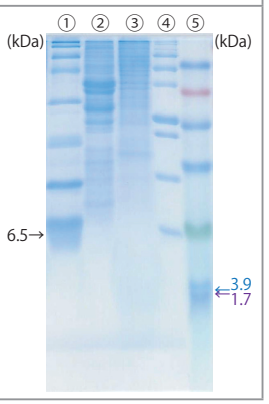
▶ 泳動終了までに要する時間は 2.5 ～ 3 時間程度です。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

SDS-PAGE（Tris-Tricine 泳動法～低分子分離法～）

実施例　Tris-Tricine 泳動法による分離例

Tris-Tricine 泳動法は Laemmli 泳動法に比べ、低分子の分離が改善します。Laemmli 泳動法でも泳動用緩衝液を Tris-Tricine 法組成に変更することでわずかに分離は改善されますが、Tris-Tricine 泳動法には及びません。

ゲル	Tris-Tricine 法組成ゲル	Laemmli 法組成ゲル（20%）	Laemmli 法組成ゲル（20%）
泳動用緩衝液	Tris-Tricine 法組成	Laemmli 法組成	Tris-Tricine 法組成
染色像			

＜実験条件＞

サンプル：① タンパク質マーカー（10 倍濃縮）（#29458-24）を 1 ×になるように調製
② 大腸菌懸濁液
③ HeLa 細胞懸濁液
④ プレシジョン Plus プロテイン 未着色スタンダード（バイオ・ラッド ラボラトリーズ #1610363）
⑤ DynaMarker® Protein MultiColor Stable, Low Range（バイオダイナミクス研究所 #DM670）

ゲル　：Tris-Tricine 法組成ゲル（16.5%; スペーサーゲルあり）
Laemmli 法組成ゲル（20%）

泳動　：［Tris-Tricine 法組成ゲル］100 V 定電圧
［Laemmli 法組成ゲル］150 V 定電圧

染色　：Bullet CBB Stain One(Ready To Use)(#13542)

DynaMarker® は株式会社バイオダイナミクス研究所の登録商標です。

SDS-PAGE（プレキャストゲルによる電気泳動）　タンパク質電気泳動

本項ではプレキャストゲルを用いた SDS-PAGE の方法を紹介します。
弊社では 2 種類のプレキャストゲルを販売しています。

Bullet PAGE One と Extra PAGE One

		Bullet PAGE One	Extra PAGE One
特長		泳動時間が短い（約 10 分）	高い分離能と幅広いゲル濃度のラインアップ
電気泳動時間		約 10 分（400 V 定電圧）	約 30 ～ 40 分（300 V 定電圧）
ゲルサイズ（プレートサイズ）		W80 mm × H60 mm × T1.0 mm（W100 mm × H80 mm × T3.2 mm）	W80 mm × H80 mm × T1.0 mm（W100 mm × H100 mm × T3.2 mm）
コーム数		13 ウェル（40 µL）、17 ウェル（28 µL）	
ゲル濃度	グラジエント	5 ～ 11%、5 ～ 15%	5 ～ 10%、5 ～ 15%、5 ～ 20%、7.5 ～ 15%、10 ～ 20%
	均一	6%、8%	7.5%、10%、12.5%、15%

詳細は p.106「電気泳動パターン　プレキャストゲル」をご参照ください。

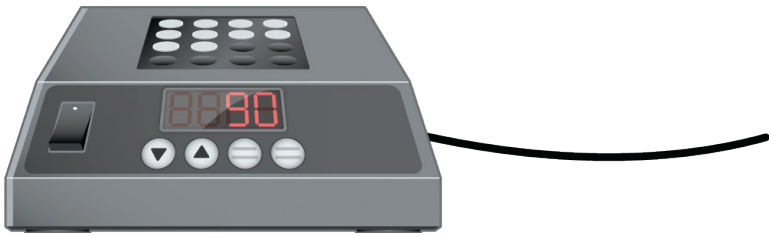
実験プロトコール

1. 泳動用サンプルの調製

① タンパク質サンプルと試料緩衝液を混合します。

	タンパク質サンプル：試料緩衝液　容量比
試料緩衝液（6 ×）の場合	5：1
試料緩衝液（2 ×）の場合	1：1

② 試料緩衝液と混合した泳動用サンプルを 90℃ 以上で 3 分程度加温し、タンパク質のジスルフィド結合を切断します。なお、還元剤不含の試料緩衝液を使用し非還元状態で泳動する場合は、加温を行わないでください。



2. 泳動用緩衝液（Laemmli 法組成）の作製

泳動用緩衝液 (10 倍濃縮 , SDS-PAGE 用 , トリス - グリシン系) と精製水を容量比 1：9 で混合します。

▶ 必要に応じて泳動用サンプル調製の前に、タンパク質サンプルの濃縮や分析妨害物質の除去を行ってください（p.113 参照）。

▶ 試料緩衝液の調製方法
→ p.108 参照

▶ 試料緩衝液 6 倍濃縮タイプは、タンパク質濃度が薄い時もしくはタンパク質量を多く泳動したい時に有用です。

試料緩衝液 (SDS-PAGE用 , 6倍濃縮 , 還元剤含有)
(#09499-14) 毒物非該当
Nacalai オンラインカタログへ

試料緩衝液 (SDS-PAGE用 , 6倍濃縮 , 還元剤不含)
(#09500-64)
Nacalai オンラインカタログへ

▶ 試料緩衝液 2 倍濃縮タイプは、タンパク質サンプルとの混合比が等量で分かりやすく、混合ミスを軽減できます。

試料緩衝液 (SDS-PAGE用 , 2倍濃縮 , 2-ME含有)
(#30566-22)
Nacalai オンラインカタログへ

試料緩衝液 (SDS-PAGE用 , 2倍濃縮 , 2-ME不含)
(#30567-12)
Nacalai オンラインカタログへ

泳動用緩衝液 (10倍濃縮 , SDS-PAGE用 , トリス -グリシン系)
(#30329-61)
Nacalai オンラインカタログへ

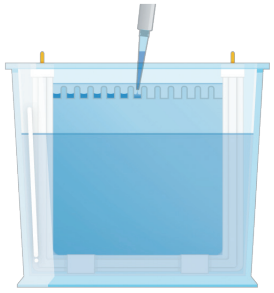
▶ 泳動用緩衝液の調製方法
→ p.108 参照

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

SDS-PAGE（プレキャストゲルによる電気泳動）

3. 泳動

① プレキャストゲルを袋から取り出し、コームを外します。
② プレキャストゲルを電気泳動槽* へセットし、泳動用緩衝液を加えます。
③ 泳動用サンプルを各ウェルへ静かに添加します。



④ 下記条件設定にて BPB がゲル下端 5 mm 程度になるまで泳動します。

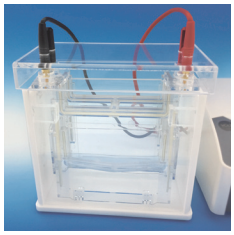
ゲル	設定条件
Bullet PAGE One	400 V（定電圧）約 10 分 300 V（定電圧）約 16 分
Extra PAGE One	300 V（定電圧）30 ～ 40 分

＼動画はこちら！／

プレキャストゲル 電気泳動槽へのセット方法

ポリアクリルアミドゲル 泳動方法

* 推奨機種）WEP-N もしくは WEP-MN バーティカル高速泳動槽（ジェレックスインターナショナル #WEP-N / WEP-MN）



▶ 着色マーカーである Protein Ladder One Plus は、SDS-PAGE での分離確認やウェスタンブロッティングでの転写確認の目安となります。分子量の測定には未着色マーカーであるタンパク質マーカーをご使用ください。

タンパク質マーカー (10 倍濃縮)（#29458-24）

Nacalai オンラインカタログへ

Protein Ladder One Plus, Triple-color for SDS-PAGE（#19593-25）

Nacalai オンラインカタログへ

ウェスタンブロッティングに最適

Chemi-Lumi One Markers Kit（#06456-70）

Nacalai オンラインカタログへ

▶ タンパク質マーカーの詳細と分離パターン → p.112 参照

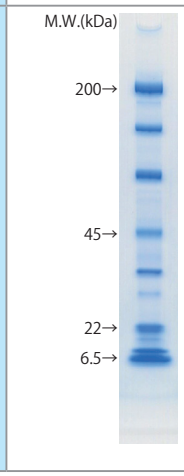
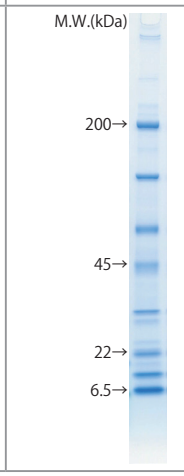
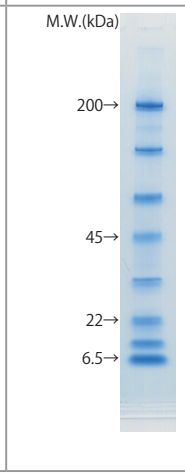
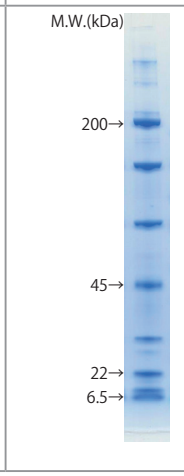
SDS-PAGE（プレキャストゲルによる電気泳動）

実施例 1　他社製品との比較

＜Bullet PAGE One＞

■ 分離能の比較

Bullet PAGE One（5 ～ 15% ゲル）の泳動時間は、下記評価ゲルの中で最短で終了します。

製品名	Bullet PAGE One	Extra PAGE One	A 社	B 社
ゲル濃度	5 ～ 15%	5 ～ 20%	4 ～ 15%	4 ～ 12%
製品番号	13079-84	13063-74	—	—
泳動時間	**11 分**	**40 分**	**33 分**	**50 分**
染色像				

＜実験条件＞

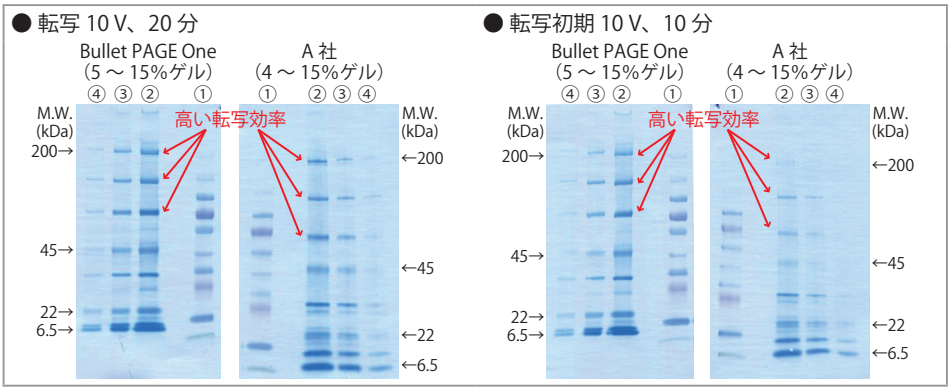
サンプル：タンパク質マーカー（10 倍濃縮）（#29458-24）を 1 ×になるように調製し、5 µL 添加

泳動　：Bullet PAGE One 400 V 定電圧、Extra PAGE One 300 V 定電圧、A 社、B 社製品は推奨条件 200 V 定電圧に準じています。

染色　：CBB Stain One(Ready To Use)（#04543）

■ 転写効率の比較

Bullet PAGE One は、転写 20 分で A 社製品より効率良く転写されています。転写初期 10 分の時点でも、A 社製品より転写効率が高いことが示されています。



＜実験条件＞

サンプル　：① Protein Ladder One, Triple-color（販売終了）
②～④ タンパク質マーカー（10 倍濃縮）（#29458-24）を② 3 ×、③ 1 ×、④ 1/3 ×になるように調製し、各 2 µL 添加

転写　：セミドライ ウェスタンブロッティング用転写緩衝液（#30650-31）でゲルとメンブレンを 15 分平衡化後に、10 V 定電圧で 10 分、20 分転写

メンブレン染色：CBB Stain One(Ready To Use)（#04543）により PVDF メンブレンを染色

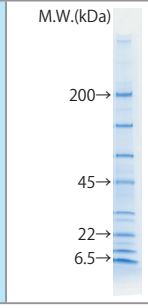
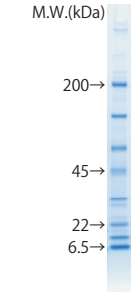
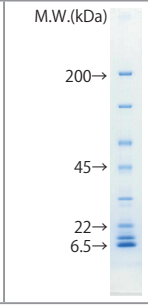
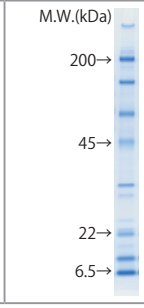
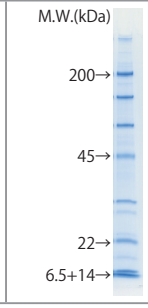
動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

SDS-PAGE（プレキャストゲルによる電気泳動）

＜Extra PAGE One＞

■ 分離能の比較

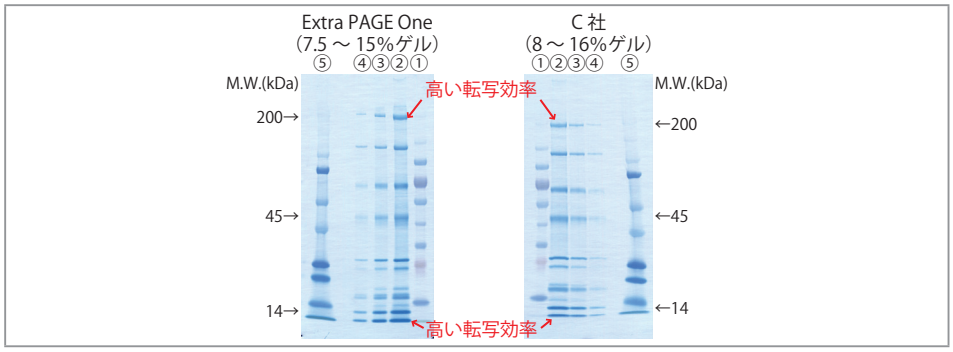
他社製品と同等以上の分離能を示します。特に 5 ～ 20% のグラジエントゲルや 12.5% の均一ゲルでの比較例では、低分子側の分離能に優れることが示されています。

ゲル	グラジエントゲル			均一ゲル	
製品名	C 社	Extra PAGE One	D 社	Extra PAGE One	C 社
ゲル濃度	4 ～ 20%	5 ～ 20%	5 ～ 20%	12.5%	12.5%
製品番号	—	13063-74	—	13073-44	—
染色像					

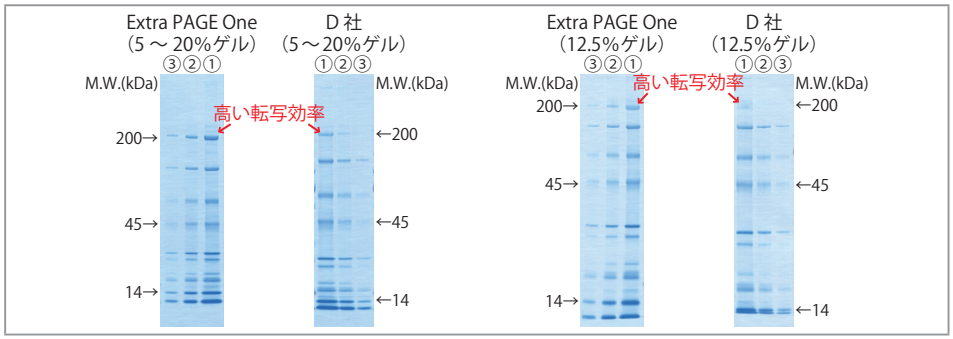
＜実験条件＞
サンプル：タンパク質マーカー (10 倍濃縮)（#29458-24）を 1 ×になるように調製し、5 µL 添加
泳動　：Extra PAGE One 300 V 定電圧 約 50 分、C 社、D 社製品は推奨条件に準じています。
染色　：CBB Stain One(Ready To Use)（#04543）

■ 転写効率の比較

Extra PAGE One は、他社品と同等以上の転写効率を示します。特に高分子および低分子タンパク質の転写効率が高いことが分かります。



＜実験条件＞
サンプル　：① Protein Ladder One, Triple-color（販売終了）
②～④ タンパク質マーカー (10 倍濃縮)（#29458-24）を② 3 ×、③ 1 ×、④ 1/3 ×になるように調製し、各 2 µL 添加
⑤ プレシジョン Plus プロテイン カレイドスコープ（バイオ・ラッド ラボラトリーズ）10 µL 添加
転写　：セミドライ ウェスタンブロッティング用転写緩衝液（#30650-31）でゲルとメンブレンを 15 分平衡化後に、10 V 定電圧で 20 分転写
メンブレン染色：CBB Stain One(Ready To Use)（#04543）により PVDF メンブレンを染色

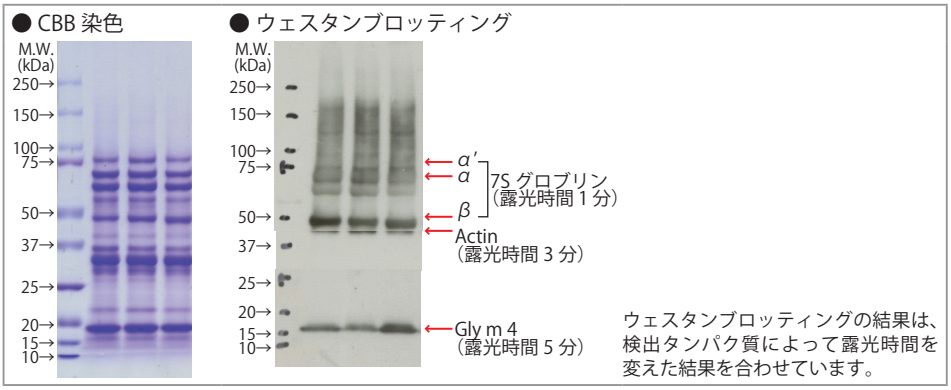


＜実験条件＞
サンプル　：タンパク質マーカー (10 倍濃縮)（#29458-24）を① 3 ×、② 1 ×、③ 1/3 ×になるように調製し、各 2 µL 添加
転写　：セミドライ ウェスタンブロッティング用転写緩衝液（#30650-31）でゲルとメンブレンを 15 分平衡化後に、10 V 定電圧で 20 分転写
メンブレン染色：CBB Stain One(Ready To Use)（#04543）により PVDF メンブレンを染色

SDS-PAGE（プレキャストゲルによる電気泳動）

実施例 2　Bullet PAGE One の使用例

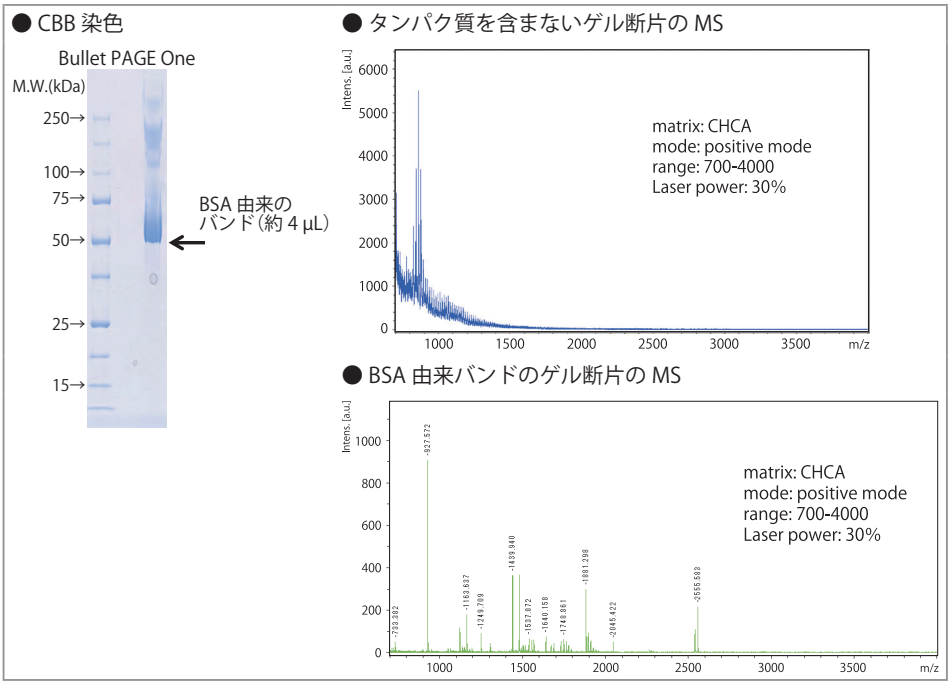
■ CBB 染色・ウェスタンブロッティングへの適用（Bullet PAGE One（5 ～ 15% ゲル））



上記結果より、CBB 染色およびウェスタンブロッティングには問題なく使用可能であることが示されています。

データご提供：近畿大学 農学部 応用生命化学科　森山 達哉 教授 / 矢野 えりか 研究員

■ MS への適用



ウシ血清アルブミン（BSA）（#01859）を SDS で変性し、Bullet PAGE One 5 ～ 15% ゲルを用いて SDS-PAGE を実施（400 V、15 分）した。泳動後のゲルを CBB を用いて染色し、BSA 由来のバンドを確認した（左図）。また、BSA を供した Gel-Negative Stain Kit for SDS-PAGE（#16660-41）で染色し、BSA のバンドを切り出した。洗浄バッファーで洗浄したゲル中のタンパク質を、還元・アルキル化したのち、37℃ にて一晩トリプシン消化した。トリプシン消化産物であるペプチドを C_{18} ZipTip により脱塩、濃縮後、MALDI-TOF/MS 解析を行った。その結果、BSA 由来のペプチド断片が検出され、PMF 解析により BSA であることが同定できたことから、MS 解析にも適用可能であることが確認された（右図）。またコントロールとして、タンパク質を含まない部分のゲルからは、夾雑物は検出されなかった（左図）。Bullet PAGE One は、CBB 染色およびネガティブ染色、ゲル内消化物の PMF 解析に適用可能であることが確認できた。

データご提供：京都大学 化学研究所 分子微生物科学研究領域
栗原 達夫 教授 / 川本 純 助教 / 河合 総一郎 博士後期課程 1 年 /
豊竹 洋佑 修士課程 1 年

ZipTip は Merck KGaA の登録商標です。

Gel-Negative Stain Kit for SDS-PAGE
（#16660-41）

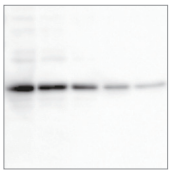
Nacalai オンラインカタログへ

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

SDS-PAGE（プレキャストゲルによる電気泳動）

■ 高速ウェスタンブロッティングへの適用

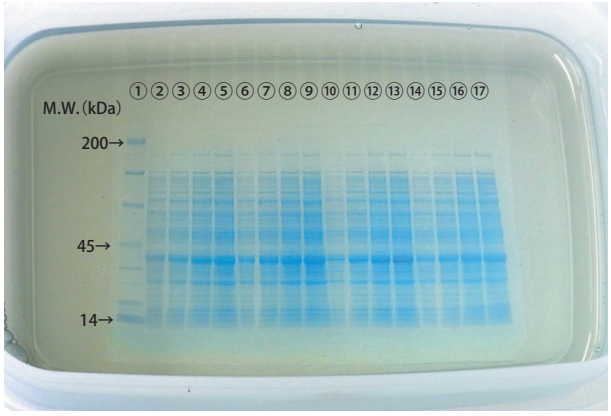
Bullet シリーズを用いることで、わずか 2 時間で従来手法と同等の結果を得ることができます。

	Bullet シリーズ			従来手法		
ブロッティング像						
サンプル	HeLa 細胞タンパク質抽出液 5 µg より 2 倍希釈系列					
電気泳動	Bullet PAGE One Precast Gel, 5-15%, 17wells	400 V	10 分	Laemmli 法組成ゲル 10%, 18 wells	200 V	60 分
転写	Bullet Semi-dry Transfer One	25 V	10 分	セミドライウェスタンブロッティング用転写緩衝液	10 V	45 分
ブロッキング	Bullet Blocking One		5 分	5% スキムミルク		60 分
一次抗体 *1	Bullet ImmunoReaction Buffer で抗体を希釈		30 分	0.1%-tTBS で抗体を希釈		60 分
二次抗体 *2	Bullet ImmunoReaction Buffer で抗体を希釈		30 分	0.1%-tTBS で抗体を希釈		60 分
検出	Chemi-Lumi One Super / LAS-3000（High モード） 露光時間 5 分					
計（洗浄時間を含む）	約 2 時間			約 5 時間 30 分		

*1 一次抗体：GAPDH Antibody（Novus #NB300-322）10,000 倍希釈
*2 二次抗体：Goat anti-Rabbit IgG (H+L) Secondary Antibody [HRP](Pre-adsorbed)（Novus #NB7187）200,000 倍希釈

■ 高速 CBB 染色への適用

Bullet PAGE One Precast Gel および Bullet CBB Stain One を用いることで、電気泳動から染色までを約 30 分で行うことができます。



＜実験条件＞
サンプル：① タンパク質マーカー (10 倍濃縮)（#29458-24）を 1 ×になるように調製し、3 µL 添加
②〜⑰ 大腸菌由来タンパク質を以下の容量で各ウェルに添加
②⑥⑩⑭ 1 µL、③⑦⑪⑮ 2 µL、④⑧⑫⑯ 3 µL、⑤⑨⑬⑰ 4 µL
ゲル　：Bullet PAGE One Precast Gel, 5-15%, 17wells（#13080-44）
染色　：Bullet CBB Stain One(Ready To Use)（#13542）20 mL 中で 15 分染色
※染色像は染色中の容器内で確認可能

Bullet Semi-dry Transfer One
（#15353-01）

Nacalai オンラインカタログへ

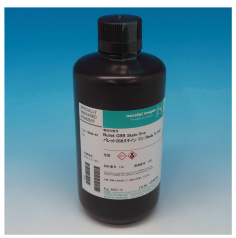
Bullet Blocking One for Western Blotting
（#13779-01）

Nacalai オンラインカタログへ

Bullet ImmunoReaction Buffer
（#18439-85）

Nacalai オンラインカタログへ

Bullet CBB Stain One
(Ready To Use)
（#13542-81）



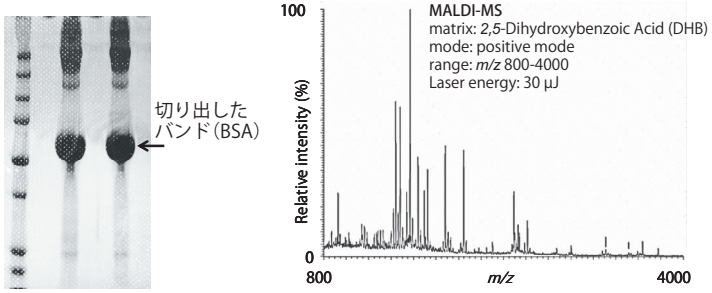
Nacalai オンラインカタログへ

実施例 3　Extra PAGE One の使用例

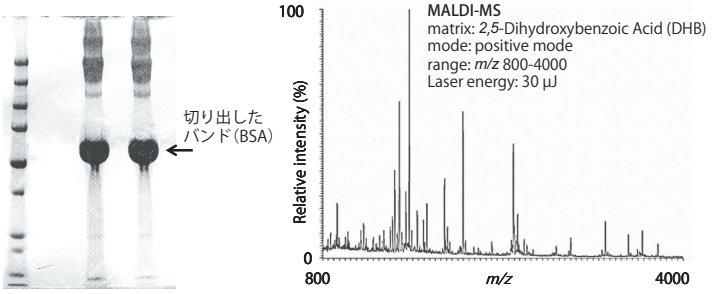
■ MS への適用

Extra PAGE One は、CBB 染色や銀染色などの染色に問題なく使用できるだけでなく、ゲルから切り出したバンドを MS 解析に利用する際にも問題なく利用可能です。

● 10% 均一ゲル



● Extra PAGE One 7.5 ～ 15% ゲル



ウシ血清アルブミン（#01859）を SDS 化し、10% 均一ゲルもしくは Extra PAGE One 7.5 ～ 15% ゲルを用いて SDS-PAGE に供した。泳動後のゲルは Gel-Negative Stain Kit for SDS-PAGE（#16660-41）を用いて染色しバンドを確認した。切り出したタンパク質のバンドを含んだゲルを染色キットに含まれる洗浄バッファーで洗浄した後、ゲル中のタンパク質を還元、アルキル化したのち、30℃ にて一晩、トリプシンで消化した。トリプシン消化されたペプチドを C_{18} Tip により脱塩後、MALDI-MS 解析を行った。その結果、いずれのゲルを用いた場合でも明瞭な BSA 由来のペプチド断片が検出された。

データご提供：近畿大学 農学部 応用生命化学科　森山 達哉 教授 / 吉村 征浩 博士研究員

Gel-Negative Stain Kit for SDS-PAGE
（#16660-41）

Nacalai オンラインカタログへ

▶ Extra PAGE One　MS/MS 解析使用例
→ https://www.nacalai.co.jp/products/entry/d004020.html 参照

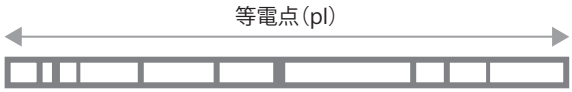
動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

二次元電気泳動

二次元電気泳動とは、異なる二種類の電気泳動法を組み合わせてタンパク質を分離する手法です。一般的に、一次元目では等電点電気泳動によりタンパク質の等電点で分離し、二次元目では SDS-PAGE によりタンパク質の分子量で分離を行います。

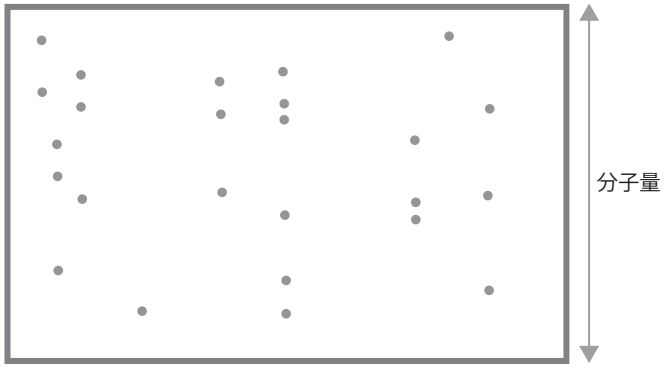
二次元電気泳動の流れ

一次元目　等電点電気泳動　タンパク質を等電点で分離します。



SDS 平衡化　二次元目の SDS-PAGE に適応できるよう、SDS で平衡化します。また、ジスルフィド結合(S-S 結合)を切断し、泳動中に再構築しないようチオール基をヨードアセトアミドによりアルキル化修飾します。

二次元目　SDS-PAGE　タンパク質を分子量で分離します。



等電点電気泳動とは

等電点電気泳動とは、タンパク質の等電点で分離する手法です。等電点ゲルとして両性担体ゲルおよび固定化 pH 勾配ゲル(IPG ゲル)の2 種類があります。

	両性担体ゲル	固定化 pH 勾配ゲル(IPG ゲル)
ゲルについて	両性担体(アンフォライト)含有アガロースもしくはアクリルアミドゲル	IPG モノマーが組み込まれたアクリルアミドゲル
分離能	低い	高い
pH 勾配形成方法	通電により形成	ゲル作製時に pH 勾配形成
ゲル作製	自家調製も可能 プレキャストゲル(乾燥ゲル / ウェットゲル)も入手可能	プレキャストゲル(乾燥ゲル)が主流

本プロトコールではプレキャスト IPG ゲルを用いた方法を紹介しています。

プレキャスト IPG ゲル

実験プロトコール

1. 等電点電気泳動

プレキャスト IPG ゲルは乾燥ゲルのため、泳動前に膨潤させる必要があります。本プロトコールではゲル膨潤液にサンプルをあらかじめ混合しておく方法を紹介しています(ゲル膨潤後にサンプルを添加することも可能です。添加サンプル容量などについては、IPG ゲルもしくは等電点電気泳動装置の取扱説明書をご確認ください)。

① サンプルを PAGE Clean Up Kit などを用いて脱塩します。詳細は p.113 をご参照ください。

PAGE Clean Up Kit
(#06441-50)

Nacalai オンラインカタログへ

▶ 等電点電気泳動は高電圧下で泳動するため、塩濃度を下げておく必要があります(耐塩濃度は泳動装置により異なります。取扱説明書をご確認ください)。

二次元電気泳動

② 脱塩したサンプルを適切な量のゲル膨潤液で希釈します。
③ 等電点電気泳動用装置の IPG ホルダーもしくは専用の膨潤容器に②のサンプル含有ゲル膨潤液を添加します。
④ ゲルの保護フィルムをはがし、ゲル面が下になるように③へ置きます。
⑤ シリコンオイルを重層します。
⑥ 室温で一晩（10 時間以上）静置します。
⑦ ⑥のゲルを等電点電気泳動装置にセットし、通電します。
⑧ 拡散を防ぐため、等電点電気泳動終了後のゲルはすぐに SDS 平衡化に進む、もしくは -60℃ 以下で保存してください。

▶ ゲル膨潤液の調製方法
→ p.110 参照

▶ ゲル膨潤液の量は使用する IPG ゲルのメーカー・長さにより異なります。取扱説明書をご確認ください。

▶ ゲル膨潤液とゲルの間に気泡が入らないよう気を付けてください。

▶ 通電条件は使用する IPG ゲルのメーカー・長さ・泳動装置により異なります。取扱説明書をご確認ください。

▶ 7 cm 程度の IPG ゲルであれば 15 mL キャップ付き遠心管に、それ以上長いゲルはシャーレなどに丸めて入れ、-60℃ 以下で保存します。

2. SDS-PAGE ゲルの準備

① SDS-PAGE ゲル（Laemmli 泳動法もしくは WIDE RANGE Gel）を作製します。p.53「Laemmli 泳動法　実験プロトコール　1. ポリアクリルアミドゲルの作製」もしくは、p.58「WIDE RANGE Gel 使用の場合　実験プロトコール　1. ポリアクリルアミドゲル（WIDE RANGE Gel）の作製」を参考に準備してください。
なお、濃縮ゲル添加後、差し込むコームはくし形ではなく、二次元電気泳動用のフラットコームをご使用ください。

② 泳動用緩衝液（Laemmli 泳動法もしくは Rapid Running Buffer）を作製します。p.56「Laemmli 泳動法　実験プロトコール　3. 泳動用緩衝液の作製」もしくは、p.61「Rapid Running Buffer 使用の場合　実験プロトコール　3. 泳動用緩衝液（Rapid Running Buffer）の作製」を参考に準備してください。

▶ フラットコームがない場合は、濃縮ゲルを添加後、精製水もしくは 1- ブタノールを重層することで作製することができます。

WIDE RANGE Gel Preparation Buffer(4x) for PAGE (#07831-94)
Nacalai オンラインカタログへ

Rapid Running Buffer Solution(20x) for SDS-PAGE (#12981-74)
Nacalai オンラインカタログへ

3. SDS 平衡化

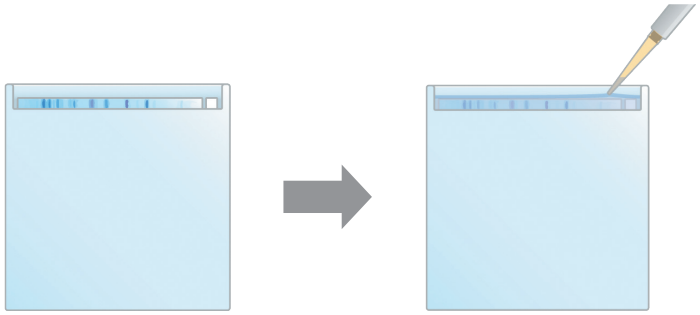
① 等電点電気泳動終了後のゲルを SDS 平衡化液 A に入れ、15 分振とうします。SDS 平衡化液 A はゲルが浸る十分な量をご使用ください。
② ①を SDS 平衡化液 B に入れ、15 分振とうします。SDS 平衡化液 B はゲルが浸る十分な量をご使用ください。

▶ 平衡化液 A、B の調製方法
→ p.110 参照

▶ SDS 平衡化後は、すみやかに SDS-PAGE へ進んでください。

4. SDS-PAGE

① （オプション）タンパク質マーカーを同時に泳動する場合
タンパク質マーカーを試料緩衝液と混合し、90℃ 以上で 5 分程度加温します。加温処理したタンパク質マーカーを 3 mm 角のろ紙にしみこませておきます。
② SDS 平衡化が終了した IPG ゲルを泳動用緩衝液に数秒浸し、ろ紙などで過剰な緩衝液を除去します。
③ SDS-PAGE ゲルに②とタンパク質マーカーをしみこませたろ紙を置き、アガロース溶液を流し込み、IPG ゲルと SDS-PAGE を密着させます。



④ 100 ～ 200 V（定電圧）にて BPB がゲル下端 5 mm 程度になるまで泳動します。

タンパク質マーカー (10 倍濃縮) (#29458-24)
Nacalai オンラインカタログへ

タンパク質マーカーの調製方法詳細は取扱説明書をご参照ください。

▶ アガロース溶液の調製方法
→ p.111 参照

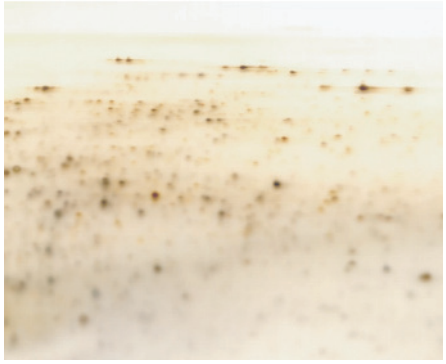
▶ 泳動時間はゲル組成や濃度、泳動用緩衝液組成や液温、室内の温度により異なります。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

二次元電気泳動

実施例 1　WIDE RANGE Gel を使用した二次元電気泳動

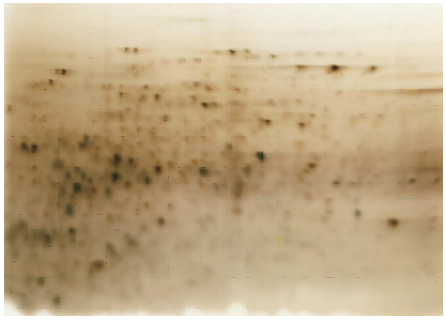
一次元目等電点電気泳動ゲルとして IPG ゲルを用い、二次元目 SDS-PAGE ゲルとして WIDE RANGE Gel を用いた二次元電気泳動を実施しました。HL-60 細胞由来タンパク質が分離され、銀染色にて検出されていることが分かります。



＜実験条件＞
サンプル：HL-60 細胞由来タンパク質
ゲル　　：［一次元目］Immobiline DryStrip pH 4-7（Cytiva）
　　［二次元目］WIDE RANGE Gel（12%）
染色　　：Sil-Best Stain One（#06865-81）
Immobiline は、Cytiva として事業を行う Global Life Sciences Solutions USA LLC およびその関連会社の商標です。

実施例 2　Rapid Running Buffer を使用した二次元電気泳動

一次元目等電点電気泳動ゲルとして IPG ゲルを用い、二次元目 SDS-PAGE ゲルとして Laemmli 法組成ゲルを用いた二次元電気泳動を実施しました。二次元目 SDS-PAGE は Rapid Running Buffer によりわずか 25 分で終了しています。



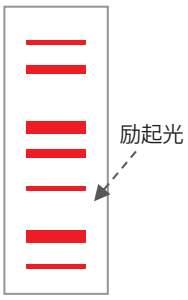
＜実験条件＞
サンプル　　：HL-60 細胞由来タンパク質
ゲル　　：［一次元目］Immobiline DryStrip pH 4-7（Cytiva）
　　［二次元目］Laemmli 法組成ゲル（10%）
泳動用緩衝液：［二次元目］Rapid Running Buffer Solution(20x) for SDS-PAGE（#12981-74）
泳動　　：［二次元目］250 V 定電圧 25 分
染色　　：Sil-Best Stain One（#06865-81）
Immobiline は、Cytiva として事業を行う Global Life Sciences Solutions USA LLC およびその関連会社の商標です。

ゲルの染色

泳動後のゲルを染色することで、タンパク質を検出します。

ゲル染色方法の比較

総タンパク質を検出するゲル染色方法として下記 4 種類を紹介します。検出感度や簡便性、検出器、染色後のアプリケーションなどにより、染色方法を選択します。

	CBB 染色	銀染色	蛍光染色	ネガティブ染色
特長	簡便	感度が高い	簡便で感度が高い	染色後に MS やウェスタンブロッティングに適用可能
染色イメージ （原理）	 タンパク質と結合する色素 CBB を用いて検出する	 銀イオンがタンパク質と反応、還元され析出することで検出する	 タンパク質と結合する蛍光色素を用いて検出する	 タンパク質以外を染色することで検出する
感度	数十 ng ～	数 ng 以下	数 ng	数 ng
簡便性	簡便	煩雑	簡便 （蛍光検出器が必要）	やや煩雑
製品群	・Bullet CBB Stain One ・CBB Stain One Super ・CBB Stain One ・Rapid Stain CBB Kit	・Sil-Best Stain One ・Sil-Best Stain-Neo	・Lumitein Protein Gel Stain（Biotium）	・Gel-Negative Stain Kit

弊社では、His-tag 融合タンパク質のみを簡便に検出できる「His-Detect In-Gel Stain(#08500)」もラインアップしています。詳細は p.115 をご参照ください。

また、目的のタンパク質のみを検出するウェスタンブロッティングは、「よく解る実験プロトコール　ウェスタンブロッティング編」をご参照ください。

CBB 染色

コマジーブリリアントブルー（Coomassie Brilliant Blue; CBB）染色はその簡便性から、電気泳動後のゲル染色として汎用されている方法です。
弊社では、CBB 染色液として以下の 4 種類の製品をラインアップしています。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

ゲルの染色

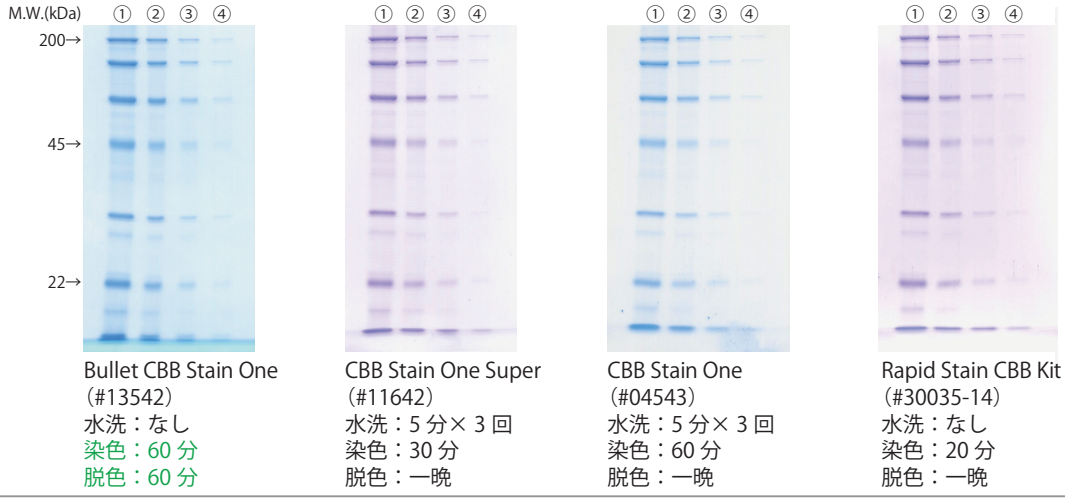
CBB 染色液の比較

CBB 染色液には、緑がかった G-250 タイプと、視認性に優れた赤みがかった R-250 タイプがあります。また染色前操作、脱色が不要で簡便性に優れた Bullet CBB Stain One も用意しています。目的に応じてご使用ください。

	Bullet CBB Stain One (#13542)	CBB Stain One Super (#11642)	CBB Stain One (#04543)	Rapid Stain CBB Kit (#30035-14)
製品イメージ				
色素	CBB G-250	CBB R-250	CBB G-250	CBB R-250
形状	・1 液タイプ ・酢酸、メタノール不含	・1 液タイプ ・酢酸、メタノール不含	・1 液タイプ ・酢酸、メタノール不含	・2 液タイプ ・酢酸含有、メタノール不含
染色前操作	不要	水洗（5 分× 3 回）	水洗（5 分× 3 回）	調製（2 液の混合）
染色時間	15 分 *	30 分	60 分	20 分
脱色時間	不要 *	1 時間以上		
検出感度	数十 ng			

* ゲルの乾燥保存など脱色後の泳動像を記録する場合は、染色は 1 時間、脱色は 1 時間以上必要です。

参考データ：脱色操作後の染色像比較



Bullet CBB Stain One は脱色を行わなくても泳動像の確認ができますが、染色 60 分、脱色 60 分を行うことで、より鮮明な泳動像が、他の染色方法よりも短時間で得られます。

本項では短時間で CBB 染色が行える Bullet CBB Stain One、および視認性に優れた R-250 タイプで 1 液製品である CBB Stain One Super のプロトコールを紹介します。
それ以外の使用方法については各製品の取扱説明書をご参照ください。CBB Stain One の使用方法については、動画もご参照ください。

＼動画はこちら！／

CBB Stain One を用いた
CBB 染色

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

ゲルの染色

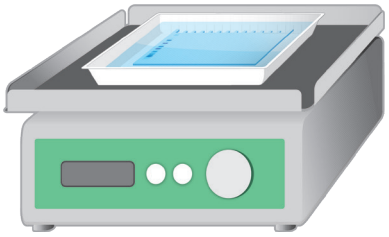
Bullet CBB Stain One

実験プロトコール

ミニゲルの染色方法を紹介します。

① 清潔なトレイ（Dispotray など）に Bullet CBB Stain One を注ぎます（ゲルが完全に浸る量をご使用ください）。

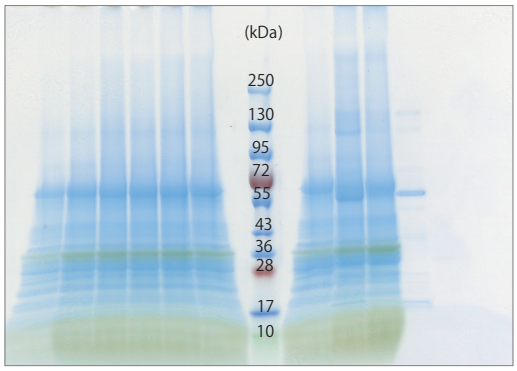
② 電気泳動後のゲルを①に移し、15 分室温でゆっくりと振とうし染色します。染色前の水洗や染色後の脱色は不要で、染色液中で泳動像が確認できます。



③ 染色後のゲルは本製品に浸した状態で、蓋をして冷蔵保存できます。精製水中で染色後のゲルを保存する場合は、染色を 1 時間行ってください。

実施例　Bullet CBB Stain One を用いた植物タンパク質の検出

Bullet PAGE One で泳動したゲルを Bullet CBB Stain One にて染色し、植物タンパク質の検出を行いました。



＜実験条件＞
サンプル　：植物（シロイヌナズナおよび小松菜）より抽出したタンパク質
ゲル　：Bullet PAGE One Precast Gel, 5-15%
泳動用緩衝液：泳動用緩衝液 (10 倍濃縮 , SDS-PAGE 用 , トリス - グリシン系)（#30329）
泳動　：400 V 定電圧 12 分
染色　：Bullet CBB Stain One(Ready To Use)（#13542）10 分染色後、脱色

使用者の評価

Bullet PAGE One および Bullet CBB Stain One を使用することにより、従来行っている方法と同様の結果を短時間で得ることができた。

データご提供：京都大学理学研究科 生物科学専攻 植物学教室 植物分子遺伝学研究室 様

▶ 染色操作は清潔な手袋を着用して行ってください。

▶ ご使用前に Bullet CBB Stain One を 2、3 回穏やかに転倒混和してください。

▶ より鮮明な泳動像を得る場合は、染色時間を 60 分まで延長し、その後精製水を用いて 60 分脱色を行ってください。

▶ 染色後のゲルを本製品に浸した状態で冷蔵保存すると白濁する場合がありますが、問題はありません。必要に応じてゲルを 30 分～ 1 時間程度洗浄してください。

Bullet CBB Stain One
(Ready To Use)
(#13542-81)

Nacalai オンラインカタログへ

Dispotray-M
(#16551-84)

Nacalai オンラインカタログへ

Dispotray-S
(#16526-82)

Nacalai オンラインカタログへ

▶ Dispotray → p.50 参照

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

ゲルの染色

CBB Stain One Super

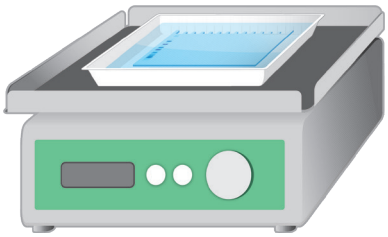
実験プロトコール

ミニゲルの染色方法を紹介します。

① 清潔なトレイ（Dispotray など）に精製水を入れ、電気泳動後のゲルを浸します。5 分振とうし、トレイから精製水を除去します。

② ①の洗浄操作をさらに 2 回行います。

③ CBB Stain One Super を注ぎます（ゲルが完全に浸る量をご使用ください）。30 分室温でゆっくりと振とうし染色します。



④ CBB Stain One Super を除去します。

⑤ 精製水を入れ、染色後のゲルを浸し振とうします。精製水を交換しながらバックグランウンドが透明になるまで洗浄を行います。

＼動画はこちら！／

CBB Stain One Super を用いた CBB 染色

▶ 染色操作は清潔な手袋を着用して行ってください。

▶ ご使用前に CBB Stain One Super を 2、3 回穏やかに転倒混和してください。

CBB Stain One Super
(Ready To Use)
（#11642-31）

Nacalai オンラインカタログへ

Dispotray-M
（#16551-84）

Nacalai オンラインカタログへ

Dispotray-S
（#16526-82）

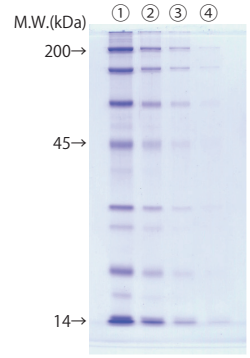
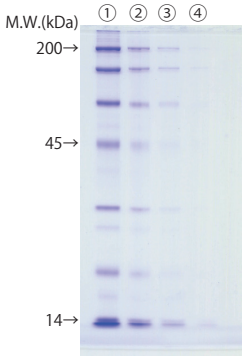
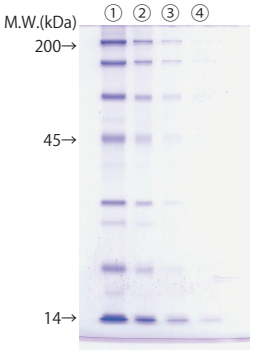
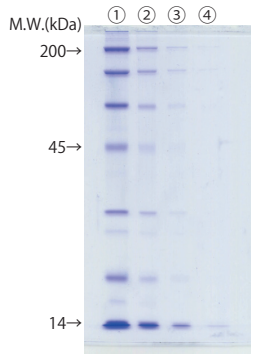
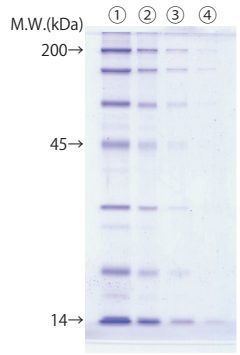
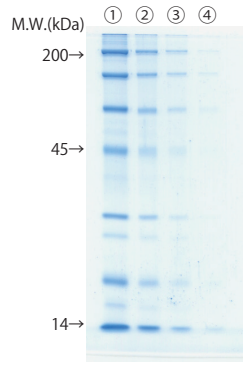
Nacalai オンラインカタログへ

▶ Dispotray → p.50 参照

ゲルの染色

実施例　他社製品との比較

本製品は、他社の R250 色素を採用している製品と比較し、同等以上の感度や視認性が得られています。また、G250 色素を採用している従来の CBB Stain One と比較し、感度は同等ですが、濃い色調で染色されるため視認性が高くなっています。

本製品	A 社製品	B 社製品
R250 色素 -1 液	R250 色素 -2 液	R250 色素 -2 液
		
C 社製品	**Rapid Stain CBB Kit**	**CBB Stain One**
R250 色素 -1 液	R250 色素 -2 液	G250 色素 -1 液
		

＜実験条件＞
サンプル：タンパク質マーカー（10 倍濃縮）（#29458-24）を①3 ×、②1 ×、③1/3 ×、④1/10 ×になるように調製し、各 2 µL 添加
ゲル　　：12% ポリアクリルアミドゲル（ミニゲル：75 mm × 90 mm × 1 mm）
染色　　：染色や脱色の操作は、各製品のプロトコールに準じています。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

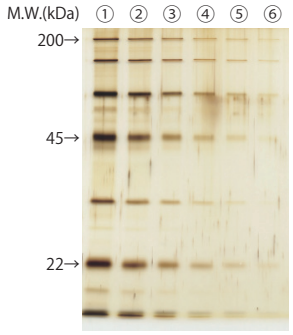
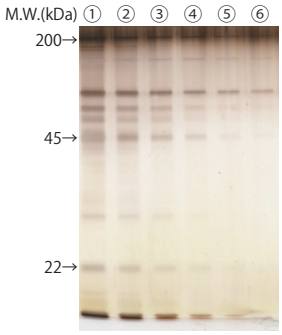
ゲルの染色

銀染色

銀染色は CBB 染色に比べ高感度にタンパク質を検出できる染色方法です。弊社では以下の 2 種類の製品をラインアップしています。

Sil-Best Stain シリーズの比較

Sil-Best Stain One は従来の銀染色法に基づいたキットです。一方、Sil-Best Stain-Neo は銀染色の改良版であり、タンパク質のみならず核酸や糖質を検出することが可能です。両キット共に質量分析を妨げるグルタルアルデヒドを使用していません。

		Sil-Best Stain One	Sil-Best Stain-Neo
製品番号		06865-81	05773-11
製品画像			
検出対象		タンパク質のみ	タンパク質・核酸・糖類
タンパク質	SDS-PAGE	◎	○
	二次元電気泳動	○	×
核酸	PAGE	×	○
染色時間		80 分	60 分
染色ステップ数		12 ステップ	6 ステップ
染色像			
		＜実験条件＞ サンプル：タンパク質マーカー (10 倍濃縮) (#29458-24) 総タンパク質量 ① 255 ng、② 130 ng、③ 50 ng、④ 26 ng、⑤ 13 ng、⑥ 5 ng ゲル　：12% ポリアクリルアミドゲル (SDS-PAGE)	

工程比較

● Sil-Best Stain One の染色ステップ

固定液 1 → 固定液 2 → 前処理液 → 洗浄 ×2 → 染色液 → 洗浄 ×3 → 現像液 → 停止液 → 洗浄

● Sil-Best Stain-Neo の染色ステップ

固定液 → 洗浄 ×2 → 染色液 → 停止液 → 洗浄

ゲルの染色

Sil-Best Stain One

実験プロトコール

製品内容

試薬名	容量	数量
前処理原液(100 ×)	20 mL	1
銀 A 溶液(20 ×)	100 mL	1
銀 B 溶液(20 ×)	100 mL	1
現像原液(20 ×)	100 mL	1

別途必要な試薬

精製水、エタノール、酢酸(試薬グレードは試薬特級もしくは用途に適したものをご使用ください。)

1. 試薬の調製

試薬の調製方法(ミニゲルの場合)

ゲルサイズによって、試薬の調製量は変わります。ゲルが十分に浸るように、調製量を調節してください。ラージゲル(200 mm × 160 mm × 1 mm)では、300 mL の液量で染色を行ってください。

試薬名	調製内容		
固定液 I	酢酸 エタノール 精製水	5 mL 45 mL 50 mL	左記を混合して固定液 I とします。
固定液 II	エタノール 精製水	10 mL 90 mL	左記を混合して固定液 II とします。
前処理液	前処理原液(100 ×) 精製水	1 mL 99 mL	左記を混合して前処理液とします。
銀染色液	銀 A 溶液(20 ×) 銀 B 溶液(20 ×) 精製水	5 mL 5 mL 90 mL	左記を混合して銀染色液とします。
現像液	現像原液(20 ×) 精製水	5 mL 95 mL	左記を混合して現像液とします。
反応停止液	酢酸 精製水	5 mL 95 mL	左記を混合して反応停止液とします。

2. 染色操作

染色操作の流れとゲル厚による反応時間

ゲル厚 1 mm 以外の場合は、ゲル厚 1 mm の各工程時間×ゲル厚(mm)を目安に染色時間を調整してください。

操作	使用液	ゲル厚(1 mm)	ゲル厚(1.5 mm)
固定	固定液 I	20 分	30 分
	固定液 II	10 分	15 分
前処理	前処理液	10 分	15 分
洗浄	精製水	5 分× 2 回	8 分× 2 回
染色	銀染色液	15 分	23 分
洗浄	精製水	2 分× 3 回	3 分× 3 回
現像	現像液	2 ～ 15 分	2 ～ 15 分
反応停止	反応停止液	15 分	15 分

Sil-Best Stain One
(#06865-81)

Nacalai オンラインカタログへ

エタノール
(#08948-25)

Nacalai オンラインカタログへ

酢酸
(#08885-45)

Nacalai オンラインカタログへ

▶ 銀染色液を調製の際は、必ず銀 A 溶液に銀 B 溶液を加えてください。この時、茶色い沈殿が生じますが問題ありません。攪拌混合することで透明な溶液になります。また、順序が異なると白い沈殿を生じることがあります。もし白く濁った場合は器具を洗浄後新しい溶液を再度調製してください。

▶ 染色液は用時調製してください。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

ゲルの染色

ゲル厚 1 mm の場合

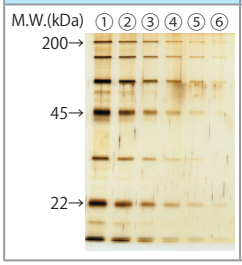
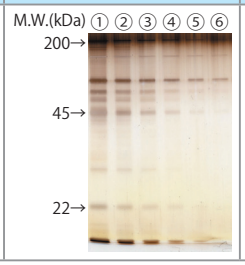
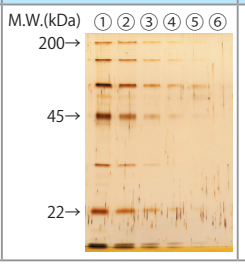
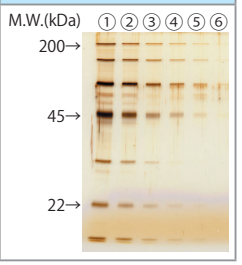
① 泳動後、ゲルを固定液 I に浸し、20 分振とうします。
② 固定液 I を捨て、固定液 II にゲルを浸し、10 分振とうします。
③ 固定液 II を捨て、前処理液にゲルを浸し、10 分振とうします。
④ 前処理液を捨て、精製水にゲルを浸し、5 分振とうします。この洗浄操作をもう一度行います。
⑤ 精製水を捨て、銀染色液にゲルを浸し、15 分振とうします。
⑥ 銀染色液を捨て、精製水にゲルを浸し、2 分振とうします。この洗浄操作をあと 2 回行います。
⑦ 精製水を捨て、現像液にゲルを浸し、振とうします。
⑧ 適当な染色像が得られたところで現像液を捨て、反応停止液にゲルを浸し、15 分振とうします。
⑨ ゲルを精製水ですすぎ、泳動像を観察します。

＼動画はこちら！／

Sil-Best Stain One を用いた銀染色

実施例 1　他社製品との比較

SDS-PAGE 後、Sil-Best Stain One、Sil-Best Stain-Neo および他社銀染色キットを用いて、タンパク質マーカーを検出しました。Sil-Best Stain One は他のキットと比べ同等以上の感度を示しています。

Sil-Best Stain One	Sil-Best Stain-Neo	A 社銀染色キット	B 社銀染色キット
			

＜実験条件＞
サンプル：タンパク質マーカー(10 倍濃縮)(#29458-24)
　　総タンパク質量 ① 255 ng、② 130 ng、③ 50 ng、④ 26 ng、⑤ 13 ng、⑥ 5 ng
ゲル　　：12% ポリアクリルアミドゲル(SDS-PAGE)

▶ 染色操作はディスポーザブル手袋などを着用し、ゲルに手を触れないでください。

▶ トレイは清潔なものをご使用ください。

Dispotray-M
(#16551-84)

Nacalai オンラインカタログへ

Dispotray-S
(#16526-82)

Nacalai オンラインカタログへ

▶ Dispotray → p.50 参照

▶ 染色液からゲルが浮いた状態での染色は、染色ムラの原因となります。染色操作はゲルを完全に溶液に浸した状態で行ってください。

▶ サンプル中のタンパク質濃度が高いと、バンドが白く抜ける場合があります。サンプル濃度を薄めてご使用ください。

▶ 過剰な銀染色によりバックグラウンドが高くなってしまった場合や、質量分析への適用の際に便利な銀除去キット Sil-Best Destain Kit も用意しています。

▶ Sil-Best Destain Kit → p.116 参照

Sil-Best Destain Kit
(#07983-30)

Nacalai オンラインカタログへ

実施例 2　二次元電気泳動への適用

二次元電気泳動後、Sil-Best Stain One および A 社銀染色キットを用いて、HL-60 細胞からの抽出タンパク質を検出しました。Sil-Best Stain One は A 社銀染色キットに比べ、感度良く検出できていることが分かります。

Sil-Best Stain One	A 社銀染色キット

＜実験条件＞
サンプル：HL-60 細胞由来タンパク質
ゲル　　：［一次元目］Immobiline DryStrip pH 3-10（Cytiva）
　　［二次元目］12% ゲル（ラージゲル）
Immobiline は、Cytiva として事業を行う Global Life Sciences Solutions USA LLC およびその関連会社の商標です。

▶ Sil-Best Stain One 染色後の質量分析への適用データは p.116「実施例 Sil-Best Destain Kit を用いた MS 適用例」ご参照ください。

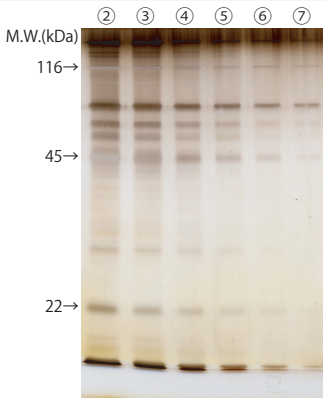
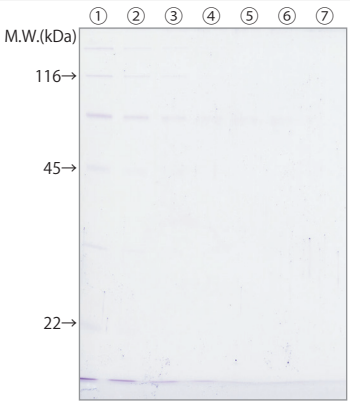
Sil-Best Stain-Neo

実験プロトコール

p.32「核酸電気泳動　ゲルの染色　Sil-Best Stain-Neo による染色」をご参照ください。

実施例　Sil-Best Stain-Neo と CBB 染色の比較

SDS-PAGE 後、Sil-Best Stain-Neo および Rapid Stain CBB Kit を用いて、タンパク質マーカーを検出しました。Sil-Best Stain-Neo は Rapid Stain CBB Kit に比べ、感度良く検出できていることが分かります。

Sil-Best Stain-Neo	Rapid Stain CBB Kit
	

＜実験条件＞
サンプル：タンパク質マーカー (10 倍濃縮) (#29458-24)
　　総タンパク質量 ① 510 ng、② 260 ng、③ 130 ng、④ 51 ng、⑤ 26 ng、⑥ 13 ng、⑦ 5 ng
ゲル　　：12% ポリアクリルアミドゲル（SDS-PAGE）

▶ 糖、糖タンパク質を検出する場合は、取扱説明書をご参照ください。

Sil-Best Stain-Neo for Protein and Nucleic Acid/PAGE
（#05773-11）

Nacalai オンラインカタログへ

▶ Sil-Best Stain-Neo は核酸の検出も可能です。検出例は p.33「核酸電気泳動　ゲルの染色　実施例　Ethidium Bromide との感度比較」をご参照ください。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

ゲルの染色

蛍光染色

タンパク質検出用の蛍光ゲル染色剤は各社からさまざまな製品が販売されています。本プロトコールでは Biotium 社 Lumitein Protein Gel Stain を用いた染色方法を紹介します。
Biotium 社 Lumitein は、他の蛍光染色試薬、一般的な CBB 染色法や銀染色法よりも簡単な操作で高感度に検出することができます。

	蛍光染色試薬			一般的な銀染色法	一般的な CBB 染色法
	Lumitein	A 社製品	B 社製品		
固定・洗浄・脱色の操作	不要	不要	必要	必要	必要
総操作時間	基本法：約 90 分 迅速法：約 30 分	約 90 分	オーバーナイト以上	約 2 時間	数時間
感度	1 ng 以下	ng オーダー	0.25 ～ 1 ng	数 ng ～ 1 ng 以下	数十 ng

※脱色・洗浄操作は不要ですがお好みで行うことができます。操作は脱色 5 分、洗浄 5 分です。
※Lumitein の染色時間は、迅速法 30 分でも染色像は確認できますが、最高感度の検出は基本法の 90 分を推奨しています。

実験プロトコール

1. 試薬の調製

Lumitein 1 ×染色液の調製（Lumitein Protein Gel Stain, 100 ×を使用の場合）

▶ Lumitein Protein Gel Stain ラインアップ
→ 別紙「試薬一覧」参照

① 清潔な容器に、Lumitein 100 ×を移します。
② 下表の割合で、試薬を加え、混合します。

Lumitein	精製水	メタノール	酢酸
2 mL（#21002）	116 mL	56 mL	26 mL
10 mL（#21002-1）	580 mL	280 mL	130 mL
50 mL（#21002-2）	2,900 mL	1,400 mL	650 mL

③ ②の溶液で、100 ×の容器中の Lumitein をリンスし、②の容器に移します。

▶ 調製した Lumitein 1 ×は遮光して室温もしくは冷蔵にて保存してください。

脱色液の調製（必要に応じて）

下表の割合で試薬を混合し、脱色液とします。

メタノール	酢酸	精製水
30 mL	15 mL	55 mL

2. ゲルの染色（80 mm × 80 mm × 1 mm ミニゲル基準）

▶ よりサイズの大きなゲルを染色する場合は、次の計算により、染色液の量を求めてください。
染色液の容量＝ 80 mL ×ゲルの面積（cm^2）÷ 64

① ゲル 1 枚あたり 80 mL の Lumitein 1 ×染色液をトレイに入れ、SDS-PAGE 後のゲルを浸します。
② 90 分振とうします。

3. ゲルの脱色（必要に応じて）

▶ 脱色液を使用せず、精製水のみでワンステップで脱色することも可能ですが、バックグラウンドは高くなります。
ワンステップ法
100 mL 以上の精製水に染色後のゲルを浸し 20 分振とうします。

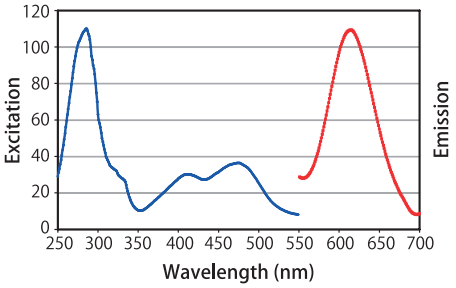
① 染色液を除去し、脱色液を 100 mL 加え 5 分振とうします。
② 脱色液を除去し、精製水を 100 mL 以上加え、5 分振とうします。

4. 観察

下表を参照し、適切な励起光源・検出フィルターを用いて検出します。

適切な励起光源・フィルター	300 nm UV, 365 nm UV, 450 ± 15（filter）, 470 nm blue LED, 473 nm laser, 480 nm excitation interference filter（epi-illumination）, 485 ± 4.5 nm（monochromator）, 488 nm laser, 532 nm laser.
適切な蛍光フィルター	**490nm longpass（best）**, 515 nm longpass, 520 nm longpass, 580 nm longpass, 590 nm longpass, 595 ± 4.5 nm（monochromator, Molecular Devices）, ethidium bromide filter, 600 nm bandpass, 600 ± 20 nm, 600 ± 35 nm, 610 nm longpass, 610 ± 35 nm, 618 nm bandpass, 620 nm bandpass, 625 ± 15 nm, 625 ± T15 nm, Texas Red filter（～ 630 nm bandpass）, 640 ± 35 nm

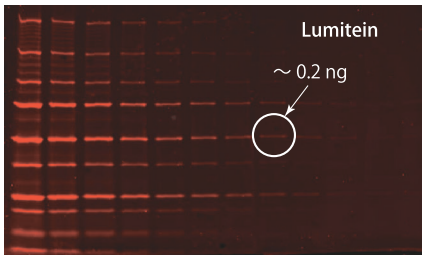
参考データ：Lumitein の励起・蛍光スペクトル



Lumitein の UV 最大励起波長は 280 nm 付近で、可視励起波長は 450 nm を中心に広範囲に及んでいます。蛍光波長は 610 nm 付近で明るい赤色の蛍光を発します。

実施例 1　Lumitein の検出限界

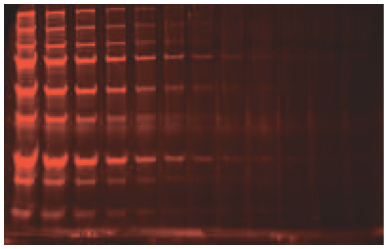
タンパク質マーカーを 2 倍希釈系列で泳動後、Lumitein（脱色・洗浄ステップあり）で染色したところ、0.2 ng 以下のタンパク質も検出できました。

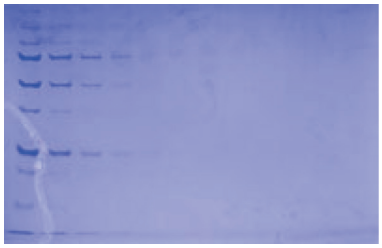


＜実験条件＞
検出：Typhoon Trio（Cytiva）532 nm で励起、610BP30 フィルターで検出

実施例 2　Lumitein と CBB 染色法の感度比較

タンパク質マーカーを 2 倍希釈系列で泳動後、Lumitein（データ左）、CBB（データ右）で染色しました。Lumitein で染色したデータは、EtBr フィルター（UVP 社）を装着した UV ボックスにより検出しました。CBB 染色したデータは、白色光コンバーター（UVP 社）を用いて検出しました。その結果、一般的な CBB 染色法よりも簡単な操作で、高感度に検出できることが示されています。





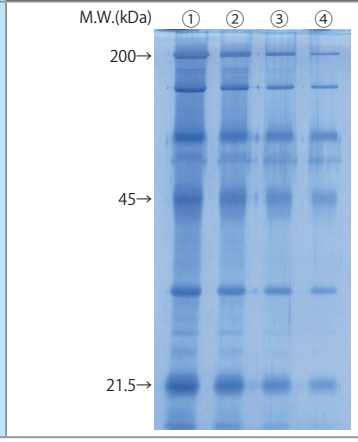
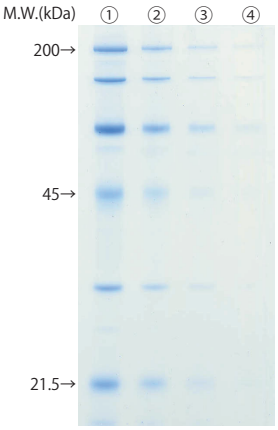
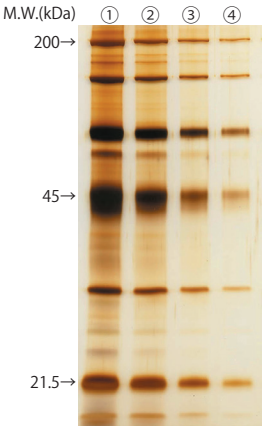
動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

ゲルの染色

ネガティブ染色

Gel-Negative Stain Kit を用いたネガティブ染色は、泳動ゲルのバックグラウンドが白濁し、タンパク質の泳動像が透明に抜ける染色法です。20 分程度の操作で銀染色に近い感度（1 ～ 10 ng 程度）で泳動像を確認できます。染色後のゲルは脱色後、ウェスタンブロッティングにも使用できるので、1 枚のゲルでサンプルの泳動像の確認とウェスタンブロッティング検出が可能です。染色後のタンパク質は質量分析への適用が可能です。

ネガティブ染色と他染色法の比較

	ネガティブ染色 （Gel-Negative Stain Kit）	CBB 染色 （CBB Stain One）	銀染色 （Sil-Best Stain One）
染色時間	約 20 分	約 75 分（染色後の洗浄含まず）	約 80 分
検出感度	1 ～ 10 ng	20 ng 程度	数 ng 程度
操作数	9	4（染色後の洗浄含まず）	12
染色像			

＜実験条件＞
サンプル：タンパク質マーカー(10 倍濃縮)(#29458-24)　総タンパク質量 ① 3.4 µg、② 1.1 µg、③ 340 ng、④ 113 ng
ゲル　　：12% ポリアクリルアミドゲル(SDS-PAGE)

実験プロトコール

製品内容

試薬名	主な成分	容量	数量
A 液原液（5×）	ラウリル硫酸ナトリウム	220 mL	1
B 液原液（5×）	硫酸亜鉛	200 mL	1
C 液原液（5×）	エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム	200 mL	1

1. 試薬の調製（ミニゲルの場合）

試薬名	調製内容
A 液	A 液原液（5×）　10 mL　左記を混合して A 液とします。 精製水　40 mL
B 液	B 液原液（5×）　10 mL　左記を混合して B 液とします。 精製水　40 mL
C 液	C 液原液（5×）　10 mL　左記を混合して C 液とします。 精製水　40 mL
保存液	A 液原液（5×）　200 µL　左記を混合して保存液とします。 精製水　50 mL

Gel-Negative Stain Kit for SDS-PAGE
（#16660-41）

Nacalai オンラインカタログへ

▶ ゲルサイズによって試薬の調製量は変わります。ゲルが十分浸るように、調製量を調節してください。

ゲルの染色

2. ゲルの染色

通常法と簡易法

「簡易法」は、「通常法」より約 1/2 に感度低下しますが、バックグラウンドがより白く染色され、バンドの判別が容易になります。

操作	使用液	通常法	簡易法
洗浄	精製水	10 分	―
前処理	A 液	5 分	10 分
洗浄	精製水	10 秒× 3 回	10 秒× 3 回
染色	B 液	30 ～ 90 秒	30 ～ 90 秒
洗浄	精製水	30 秒× 3 回	30 秒× 3 回

▶ 染色法は厚さ 1 mm ゲルを基準としています。ゲル厚が異なる場合は、必要に応じて予備検討を行ってください。

通常法

① SDS-PAGE 後のゲルを、精製水 50 mL の入ったトレイに浸して 10 分振とうします。

② 精製水を捨て、A 液 50 mL を加えて 5 分振とうします。

③ A 液を捨て、精製水 50 mL で 3 回水洗（約 10 秒振とう）し、ゲル表面の A 液を洗い落とします。水洗時間を長くすると、染色が弱まることがあるのでご注意ください。

④ 先とは別のトレイに B 液 50 mL を加え、③まで処理したゲルを浸して 30 ～ 90 秒振とうします（この時点で泳動像の確認ができます）。B 液に 90 秒以上長く浸しておくと、泳動像が不鮮明になる可能性がありますのでご注意ください。

⑤ 泳動像が確認できたら直ちに水洗します。水洗は③で使用したトレイに精製水 50 mL を入れ、3 回（30 ～ 60 秒振とう）以上行ってください。

⑥ 染色したゲルはタンパク質以外の部分が白く濁ります。泳動像の確認は、光にかざす、もしくは黒色を背景として観察してください（泳動像を記録する場合は、この時点で行うことを推奨します）。

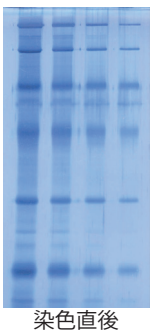
⑦ 泳動像を保存する場合は、密閉された清潔な容器内で保存液に浸して保存してください。

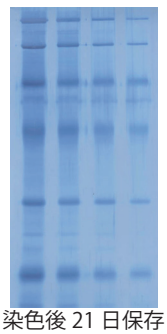
▶ ゲルの取り扱い操作は、ディスポーザブル手袋を着用して行ってください。

▶ B 液処理後は直ちに精製水で十分に水洗してください。水洗が不十分な場合、泳動像が経時的に不鮮明となったり、保存液に浸すと白色の析出物が多く確認されることがあります。

▶ 本製品で染色した泳動像は、BioDesignGelWrap などのラップによる乾燥保存ができません。

参考データ：泳動像の保存


染色直後


染色後 21 日保存

簡易法

SDS-PAGE 後のゲルを、A 液 50 mL の入ったトレイに浸して 10 分振とうします。次に「通常法」③の操作を行い、以降は「通常法」と同様に行ってください。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

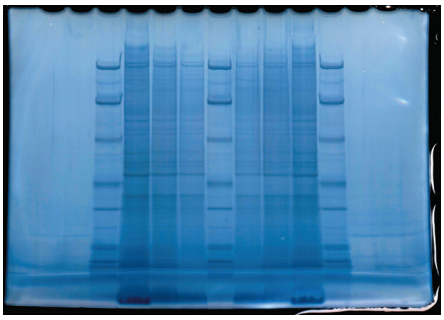
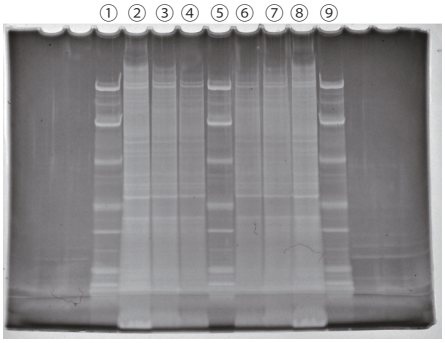
ゲルの染色

3. ゲルの観察・記録

泳動像の記録方法には、研究用画像解析装置、カラーコピーや市販のスキャナーによる簡易な画像取り込みなどがあります。市販のスキャナーで記録する場合は、透明なバンドと白色のバックグラウンドが鮮明に見分けられるように、黒色プラスチック製シートをゲルの背後に置くと、鮮明に画像を記録できます。

（参考文献）Bricker, Terry M.; Green-Church, Kari B.; Limbaugh, Patrick A.; Frankel, Laurie K. Anal. Biochem. 2000, 278, p. 237-239.

参考データ：ゲルの記録

スキャナー使用	研究用画像解析装置使用
黒色プラスチック板を 背後に置いて記録	ChemiDoc Touch MP （バイオ・ラッド ラボラトリーズ）で記録
① ② ③ ④ ⑤ ⑥ ⑦ ⑧ ⑨	① ② ③ ④ ⑤ ⑥ ⑦ ⑧ ⑨
	

＜実験条件＞
サンプル：①⑤⑨ タンパク質マーカー（10 倍濃縮）（#29458-24）を 1/10 ×になるように調製し 10 µL 添加
②〜④、⑥〜⑧ CHO 細胞懸濁液 ②⑧ 4 µg、③⑦ 2 µg、④⑥ 1 µg
ゲル　：Bullet PAGE One Precast Gel, 5-15%, 13wells（#13079-84）
泳動　：400 V 定電圧
染色　：Gel-Negative Stain Kit for SDS-PAGE（#16660-41）
観察　：［スキャナー使用］
スキャナー（セイコーエプソン）にて黒色プラスチックをゲルの背後において画像を取得
［研究用画像解析装置使用］
ChemiDoc Touch MP（バイオ・ラッド ラボラトリーズ）（露光時間は AUTO にて検出）
（白色透過、590 / 110 nm スタンダードフィルターで検出）

4. ゲルの脱色

（同ゲルでウェスタンブロッティングなど他のアプリケーション実施の場合）

① 「通常法」⑤の精製水を捨て、C 液 50 mL を加えて 6 分ほど振とうし、ゲルが透明になることをご確認ください。

② C 液を捨て、精製水 50 mL で 3 回（30 秒振とう）以上水洗します。

③ 以後はウェスタンブロッティング法の操作に従い、転写緩衝液に浸すなどの操作に移ってください。

▶ C 液処理後は、十分に水洗してください。不十分な場合、ウェスタンブロッティングのタンパク質転写効率が悪くなる可能性があります。

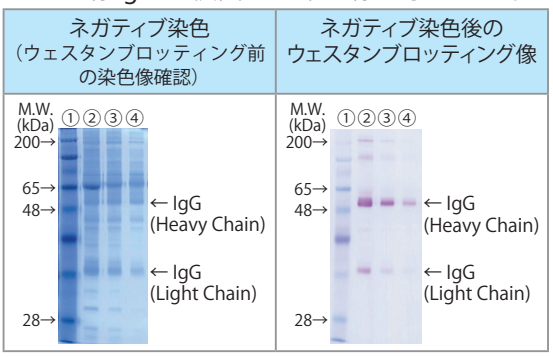
＼動画はこちら！／

ネガティブ染色

ゲルの染色

実施例 1　ネガティブ染色後のウェスタンブロッティング

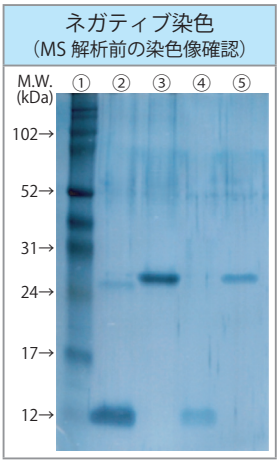
SDS-PAGE 後、ウェスタンブロッティングを行う前に泳動ゲルをネガティブ染色すると、一時的にサンプルの泳動像を確認することができます。染色後のゲルはキット添付の脱色液（C 液）で、約 8 分の脱色操作を行った後、ウェスタンブロッティングを行うことができます。以下に、ヒト血清を SDS-PAGE 後ネガティブ染色した泳動像と、その泳動ゲルからウェスタンブロッティングによりヒト血清 IgG を検出した染色像を示します。



＜実験条件＞
SDS-PAGE：12% ゲル
サンプル　：① Pre-stained Protein Markers (Broad Range)（販売終了）5 µL
② ヒト血清（1/60）2 µL
③ ヒト血清（1/200）2 µL
④ ヒト血清（1/600）2 µL
↓
Gel-Negative Stain Kit による染色
（泳動像の記録）
↓
キット添付の C 液による脱色・水洗
↓
転写（PVDF メンブレン）
↓
一次抗体　：Anti-Human IgG（Goat）25,000 倍希釈
二次抗体　：POD 標識 Anti-Goat IgG 10,000 倍希釈
メンブレン
染色　　：ペルオキシダーゼ染色キット（#26652-70）

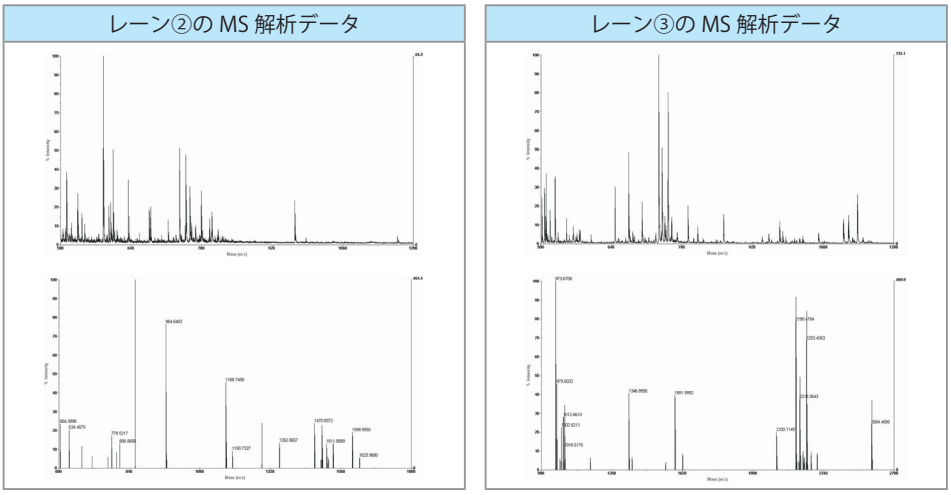
実施例 2　ネガティブ染色後の MS 解析

ネガティブ染色で泳動ゲルを確認、ゲルを切り出し、脱色後 MS 解析が可能です。



＜実験条件＞
SDS-PAGE：15% ゲル
サンプル　：各 10 µL アプライ
① 分子量マーカー、② Cytochrome C　1.0 µg
③ Carbonic Anhydrase 2　1.0 µg、④ Cytochrome C　0.1 µg
⑤ Carbonic Anhydrase 2　0.1 µg
↓
Gel-Negative Stain Kit による染色
↓
ゲル切り出し（約 1 mm 四方 3 分割）
↓
キット添付の C 液による脱色・水洗
C 液 500 µL 6 分振とう → 液除去 →
（イオン交換水 500 µL 30 秒振とう → 液除去）×3 回
↓
脱水 → 還元アルキル化 → トリプシン消化 → ペプチド抽出 →
ZipTip（メルク株式会社メルクミリポア事業本部）精製 → ESI-MS

ZipTip は Merck KGaA の登録商標です。



データご提供：京都大学大学院 農学研究科 応用生命科学専攻　植田 充美 教授 / 小林 謙吾 様

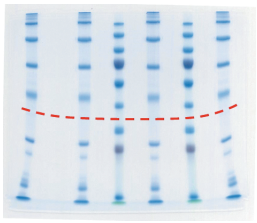
動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

トラブルシューティング

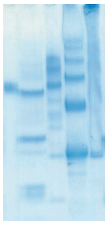
本項目ではタンパク質電気泳動におけるトラブルおよびその原因、解決方法について説明します。

レーンやバンドの形・分離に問題がある

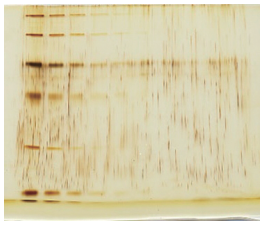
1 ゲル全体が湾曲する
▶ p.92



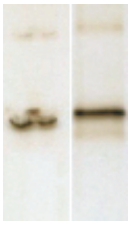
2 レーンがゆがむ / 幅が不均一
▶ p.93



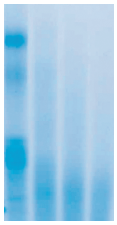
3 レーンに筋が入る
▶ p.94 ～ 95



4 バンドの形がおかしい
▶ p.96



5 バンドがスメアになる / ぼやける
▶ p.97

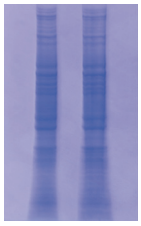


6 バンドの分離が悪い / おかしい
▶ p.98

検出に問題がある

7 シグナルが検出されない / 弱い
▶ p.99 ～ 100

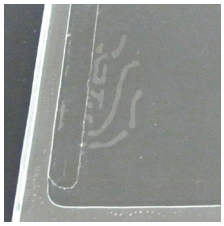
8 バックグラウンドが高い
▶ p.101



上記以外で問題がある

9 ゲルが固まらない / 固まるのが遅い
▶ p.102

10 ゲルにアリの巣のような気泡が入る
▶ p.102



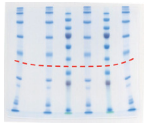
11 通電ができない
▶ p.103

12 いつもより泳動時間が速い / 遅い
▶ p.103

13 電気泳動中の異常な発熱
▶ p.104

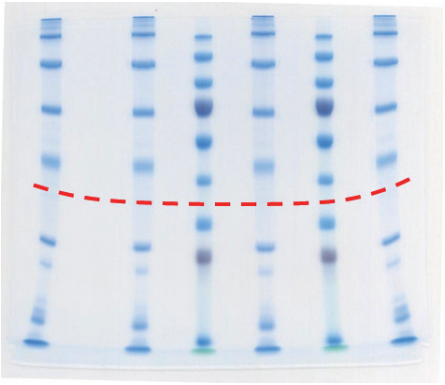
トラブルシューティング

1. ゲル全体が湾曲する



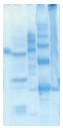
実験操作	原因	解決策
ゲル作製	電流の漏れ	外側に向かって広がっている場合、両端から電流が漏れている可能性があります。ゲル作製時にガラスプレートをはさむクリップが弱かったり、ずれていたりしないかご確認ください。
	ゲルの凍結	冷気が直接あたってしまうなど冷蔵庫の空調によっては、ゲルが部分的に凍ってしまう場合があります。ゲルの保存環境を再度ご確認ください。
	長期間保存したアクリルアミドゲルを使用した	乾燥してしまっているなどアクリルアミドゲルの保存が不適切だと、ゲルが湾曲する場合があります。新しいゲルをご使用ください。
アプライ	高塩濃度や界面活性剤を多量に含むサンプルをアプライしている	隣のレーンとの間に塩濃度差があると起こりやすくなります。両端のレーンやダミーレーンに試料緩衝液（精製水で 1 × にしたもの）を添加することで改善する場合があります。
電気泳動	通電時の発熱ムラ	通電時に発生したジュール熱の放熱ムラにより、ゲル中央と両端で温度差が生じ起こります。低い通電条件で泳動を行い、泳動中の発熱量を抑えることで改善する場合があります。また、泳動槽を適したものに変更することで改善する場合もあります。

DATA　Laemmli 法組成ゲル（12%）　400 V にて泳動



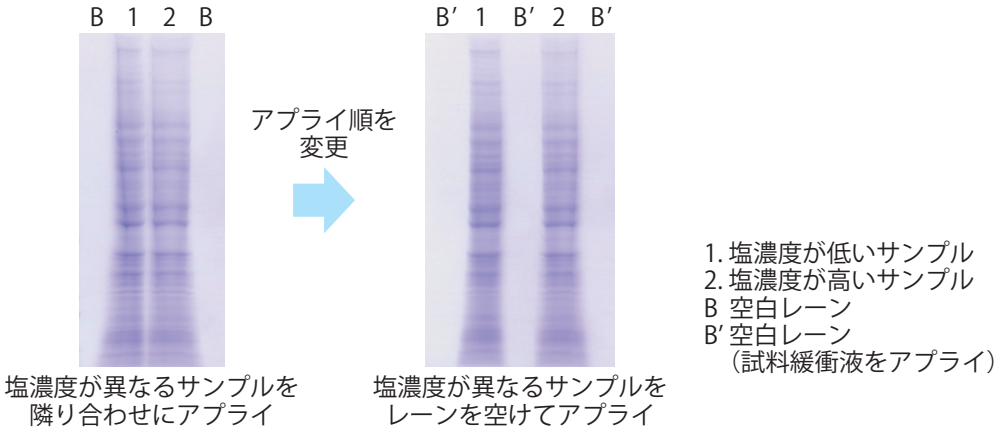
動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

2. レーンがゆがむ / 幅が不均一



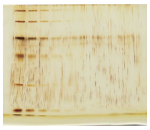
実験操作	原因	解決策
ゲル作製	ゲルの凍結	冷気が直接あたってしまうなど冷蔵庫の空調によっては、ゲルが部分的に凍ってしまう場合があります。ゲルの保存環境を再度ご確認ください。
サンプル調製	サンプルに非イオン性界面活性剤（Triton X、Tween 20、NP-40 など）を含んでいる	非イオン性界面活性剤がサンプルに含まれると、泳動中に SDS とミセルを形成し、SDS とタンパク質の結合が崩れてしまいます。PAGE Clean Up Kit でサンプルを精製する、もしくは非イオン性界面活性剤を SDS の 1/10 量となるように希釈してください。
アプライ	サンプル間の組成に差がある	サンプル間で還元剤含有 / 不含、塩濃度、タンパク質濃度およびアプライ量に差があると、レーンがゆがんだり、幅が不均一になったりする場合があります。 PAGE Clean Up Kit で精製する、もしくはレーンを一つ空けるなどアプライ順を工夫してください。また、レーンを空ける場合は、試料緩衝液（精製水で 1 × にしたもの）を空白レーンに添加することをお薦めします。

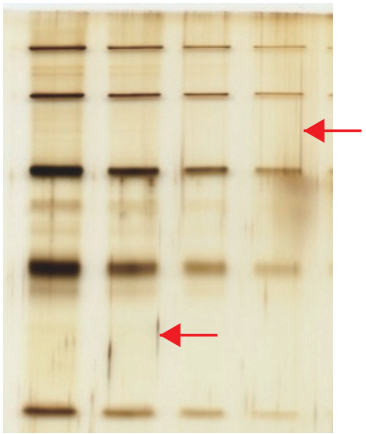
DATA



Triton はユニオン・カーバイド・コーポレーション、Tween はクローダ インターナショナル ピーエルシーの登録商標です。

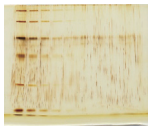
3. レーンに筋が入る



実験操作	原因	解決策
サンプル調製	サンプルが十分に溶解されていない	サンプルが十分に溶解されていないと、縦筋が入る場合があります。アプライ前に遠心を行い上清のみをアプライするなど、サンプル調製条件を見直してください。
	サンプルが変性剤などを含み高塩濃度である、もしくは界面活性剤を多量に含んでいる	PAGE Clean Up Kit などを用いてサンプルを精製してください。
	DATA 飽和硫酸アンモニウム中のサンプルを泳動 	
	(銀染色で検出する場合) サンプルに 2- メルカプトエタノールが含まれている	銀染色の場合、2- メルカプトエタノール含有試料緩衝液の使用により筋が観察される場合があります。ゲルへのサンプル添加量を減らす、還元剤として DTT を使用することで改善します。
	DATA 	
ゲル作製 / アプライ	隣のレーンのサンプルがコンタミしている	ガラスプレートがゲルから剥離していたり、サンプル量が多かったりすると、隣のレーンにサンプルがコンタミし筋のようなものが観察される場合があります。ゲルが正しく作製されているか、ゲルへのサンプル添加量が適切かご確認ください。

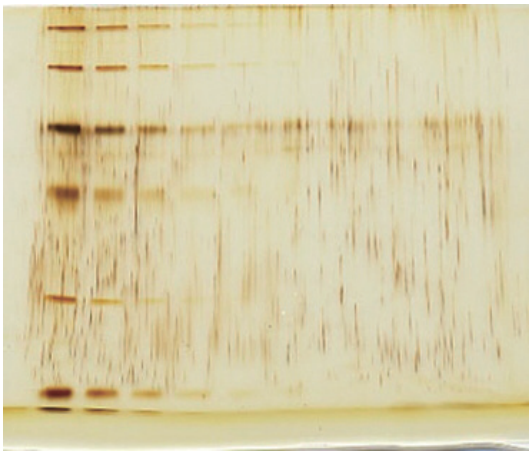
動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

3. レーンに筋が入る
つづき



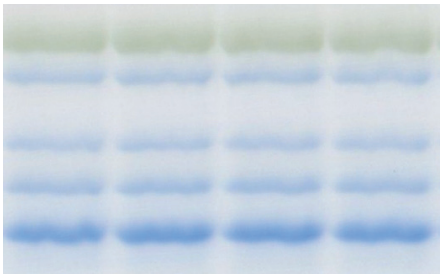
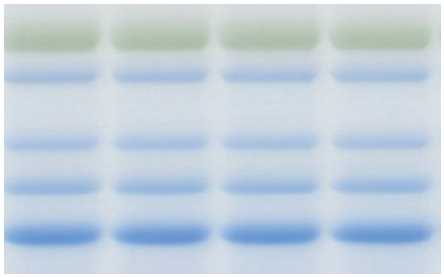
実験操作	原因	解決策
ゲル作製	ガラスプレート、コームが汚れている	ガラスプレートやコームが汚れていると、筋やドットが観察される場合があります。精製水やエタノールで拭き取り、清潔なものを使用するようにしてください。器具類を素手で触ることによりケラチンなどのタンパク質混入の可能性があるため、必ず作業中は手袋を着用してください。

DATA



全体的に筋が入っています。
これらはガラスプレートやコームの汚れに起因します。

4. バンドの形がおかしい

実験操作	原因	解決策
ゲル作製	ゲルの凍結	冷気が直接あたってしまうなど冷蔵庫の空調によっては、ゲルが部分的に凍ってしまう場合があります。ゲルの保存環境を再度ご確認ください。
	DATA  一度凍結してしまったゲル  正常なゲル	
サンプル調製	サンプルが変性剤などを含み高塩濃度である、もしくは界面活性剤を多量に含んでいる	PAGE Clean Up Kit などを用いてサンプルを精製してください。
	DATA　6M グアニジン塩酸塩溶液中のサンプルを泳動 PAGE Clean Up Kit で精製 	
アプライ	ウェルに未重合のアクリルアミドやゲル片が残っている	アプライ前にウェルの洗浄を行い、未重合のアクリルアミドやゲル片を除去してください。
電気泳動	ゲルの下端に気泡が残っている	ゲルを泳動槽へセットした際に、ゲルの下端に気泡が残っていると、気泡部分のみ通電が妨害され、バンドがゆがむ場合があります。ゲルの下端に気泡がないかご確認ください。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

5. バンドがスメアになる / ぼやける

実験操作	原因	解決策
サンプル調製	タンパク質の還元が不十分	試料緩衝液に含まれている還元剤が劣化または不足していると、タンパク質の還元が不十分となりバンドがスメアになる場合があります。試料緩衝液を新しいものに調製しなおしてください。
	DATA 2- メルカプトエタノールによる還元サンプルを泳動 	
	タンパク質量が多い	泳動するタンパク質量を減らしてください。
	サンプルが分解している	サンプル調製時にプロテアーゼ阻害剤カクテル、ホスファターゼ阻害剤カクテルをご使用ください。

6. バンドの分離が悪い / おかしい

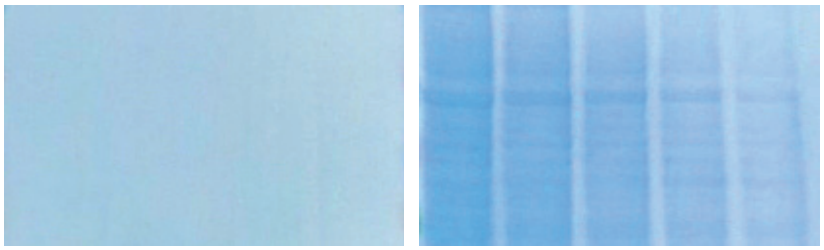
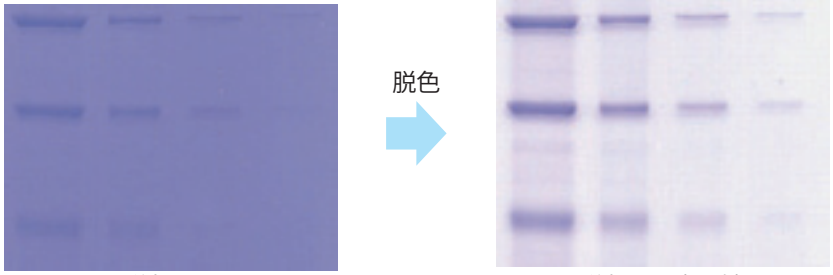
実験操作	原因	解決策
ゲル作製	アクリルアミド濃度が間違っている	サンプルに適切なアクリルアミド濃度のゲルをご使用ください。
	長期間保存したアクリルアミドゲルを使用した	乾燥してしまっているなどアクリルアミドゲルの保存が不適切であったり、保存期間が長期となることにより、分離パターンが乱れる場合があります。また、Laemmli 法組成ゲルの場合、分離ゲルがアルカリ性のため、保存中に加水分解が起こり分離パターンが乱れることがあります。
	ゲルの凍結	冷気が直接あたってしまうなど冷蔵庫の空調によっては、ゲルが部分的に凍ってしまう場合があります。ゲルの保存環境を再度ご確認ください。
アプライ	還元剤含有サンプルと不含サンプルを同時に泳動している	還元剤含有サンプルと還元剤不含サンプルを同時に泳動すると、泳動中に還元剤不含サンプルが還元されてしまう場合があります。必ず、数レーン空けてアプライしてください。
電気泳動 / ゲル作製	ゲル、泳動用緩衝液の組成が異なる	ゲルの組成や pH、および泳動用緩衝液の組成、pH が間違っていないかご確認ください。

DATA　Protein Ladder One, Multi Color（販売終了）を Laemmli 法組成ゲル（12%）にて泳動

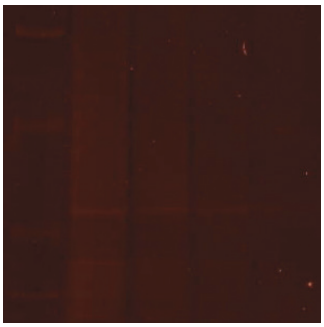
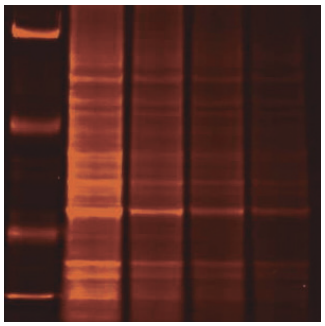
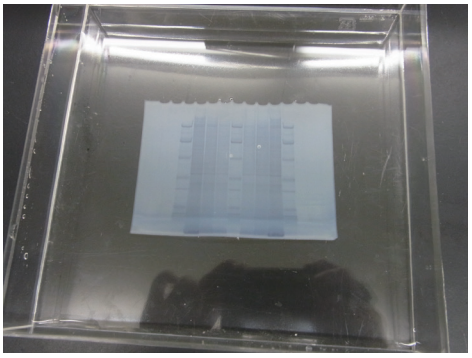
ゲル緩衝液濃度が通常の1/10　　ゲル緩衝液濃度が正しい

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

7. シグナルが検出されない / 弱い

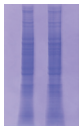
実験操作	原因	解決策
電気泳動 / 検出	アプライしたタンパク質量と検出方法の感度が適切でない	検出する方法により感度が異なります。泳動するタンパク質量に適した検出方法を選択してください。総タンパク質量として、CBB 染色では 5 ～ 10 µg、銀染色では 0.5 ～ 1 µg、Lumitein を用いた蛍光染色では 1 ～ 2 µg、ネガティブ染色では 1 ～ 2 µg を目安に泳動してください。
検出	(CBB 染色) CBB 染色前の洗浄が不十分	CBB 染色前の洗浄が不十分だと、ゲルから SDS が除去されず、CBB 染色を阻害します。CBB 染色前の洗浄は十分に行ってください。なお、Bullet CBB Stain One および Rapid Stain CBB Kit の場合は本工程は不要です。
	DATA　A 社 CBB 染色液 (CBB-G250) で染色  前洗浄なし　前洗浄あり	
	(CBB 染色) CBB 染色後の脱色が不十分	CBB 染色後の脱色が不十分だと、バックグラウンドに埋もれて、シグナルが観察できない場合があります。脱色時間を延長してください。脱色液の交換頻度を上げるとより効率的に脱色を行うことができます。
	DATA　CBB Stain One Super で染色  脱色 脱色なし　脱色あり (一晩)	
	(銀染色) 染色工程、試薬の調製が間違っている	銀染色は工程数が多く、必要な試薬の種類も多くなります。工程、試薬を間違えていないかご確認ください。
	(銀染色) ゲルが厚い	ゲル厚により各工程の反応時間を調整する必要があります。Sil-Best Stain One および Sil-Best Stain-Neo の場合は各取扱説明書をご確認ください。

7. シグナルが検出されない / 弱い
つづき

実験操作	原因	解決策
検出	(蛍光染色) 励起波長、蛍光波長が間違っている	ご使用の蛍光染色剤に適した励起波長、蛍光波長で観察してください。
	DATA Lumitein Protein Gel Stain による検出  誤った検出条件 (LED / 518 ～ 546 nm) 蛍光フィルターを正しいものに変更  正しい検出条件 (LED / 535 ～ 645 nm) (励起 / 蛍光波長) ※露光時間 AUTO	
	(ネガティブ染色) タンパク質が SDS と結合していない	前処理後の洗浄を過剰に行うと、感度が低下する場合があります。洗浄が正しく行われているかご確認ください。
	(ネガティブ染色) ゲルや泳動用緩衝液にキレート剤が含まれている	ゲルや泳動用緩衝液にキレート剤が含有されると、感度が低下する可能性があります。キレート剤を含まないゲルや泳動用緩衝液へ変更する、もしくは前処理前の洗浄回数を増やしてください。
	(ネガティブ染色) 観察方法が不適切	本染色方法ではシグナル(バンド)以外が白く濁ることで検出するため、ゲルの背景が白色だと観察しづらくなります。光にかざすか、黒色を背景として観察してください。
	DATA 白色トレイ (Dispotray)  透明トレイ 実験台(黒色)の上において観察	

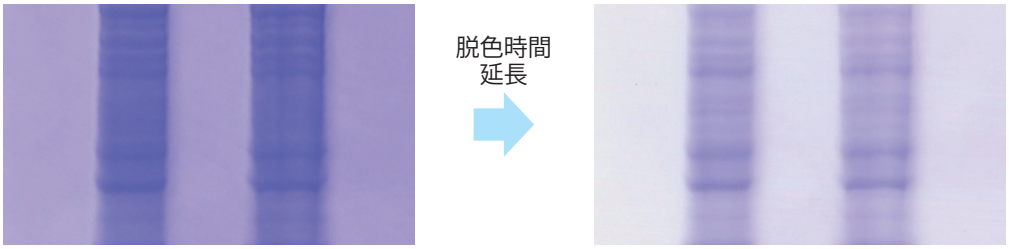
動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

8. バックグラウンドが高い



実験操作	原因	解決策
検出	(CBB染色) CBB 染色後の脱色が不十分	染色後の脱色が不十分だとバックグラウンドが高くなります。脱色時間を延長してください。脱色液の交換頻度を上げるとより効率的に脱色を行うことができます。

DATA　CBB Stain One Super で染色



	(銀染色) 現像時間が過剰、現像液の温度が高い	現像液の温度が高い、もしくは現像時間が長いとバックグラウンドが高くなります。現像中は目を離さず、適切なシグナルが得られたらすぐに反応停止液へ交換してください(少しシグナルが弱い程度で反応を止めることがコツです)。バックグラウンドが高い場合は、Sil-Best Destain Kit(p.116)をお試しください。

DATA

	(銀染色；Sil-Best Stain-Neo の場合) グラジエントゲルを染色した	Sil-Best Stain-Neo の場合、グラジエントゲルを染色するとアクリルアミドの濃度に従いグラジエント様のバックグラウンドが観察される場合があります。Sil-Best Stain One をご使用ください。

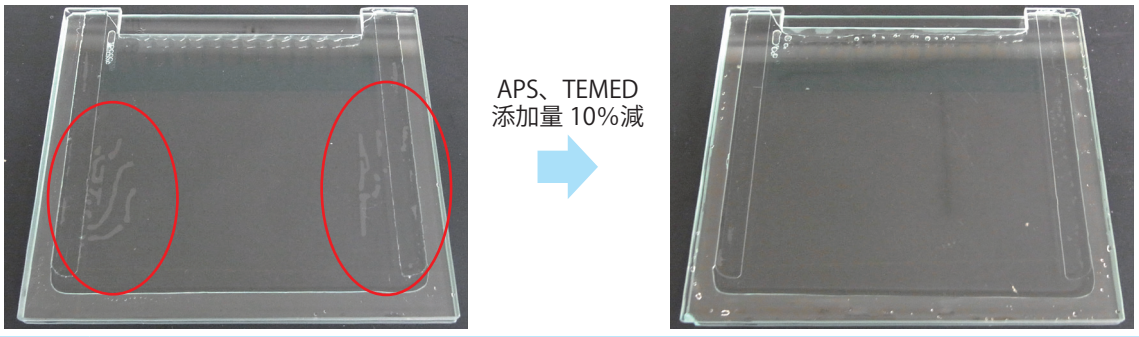
9. ゲルが固まらない / 固まるのが遅い

実験操作	原因	解決策
ゲル作製	APS および TEMED の添加忘れ、添加量の間違い	APS および TEMED を正しい量で添加したかご確認ください。また、APS 溶液が古くなっていないか、凍結融解を繰り返していないかご確認ください。
	ガラスプレートが汚れている	ガラスプレートやコームの汚れがアクリルアミドの重合化を妨げている場合があります。エタノールや精製水で拭き取り、清潔なものをご使用ください。
	温度が低い	ゲルの重合は温度の影響を受けます。冷蔵庫に保存していた試薬は室温に戻してからご使用ください。
	脱気をしていない	ゲルの重合は溶存酸素の影響を受けます。脱気を行うことで、ゲルの固化を早めることができます。
	アクリルアミド濃度が低い	一般的にアクリルアミド濃度が低いほど、固化はしづらくなります。APS や TEMED 添加量を適当量（10%程度）増やすことで改善される場合があります。

10. ゲルにアリの巣のような気泡が入る

実験操作	原因	解決策
ゲル作製	ゲルがガラスプレートから部分的に剥離している	アクリルアミド濃度が高い場合に起こりやすくなります。APS や TEMED 添加量を適当量（10%程度）減らすことで改善する場合があります。

DATA　Laemmli 法組成ゲル（15%）



　動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

11. 通電ができない

実験操作	原因	解決策
電気泳動	ゲル下部のシーリングが付いたまま	ゲルを自家調製する際に使用するシリコンガスケットや、プレキャストゲルの一部に使用されているシーリングテープをゲル下部から外してください。なお、Bullet PAGE One および Extra PAGE One にはシーリングテープは付いていません。コームを抜いた後、すぐに泳動槽へセットすることができます。
	陰極と陽極の泳動用緩衝液が触れている	陰極と陽極の泳動用緩衝液が触れていると電気の逃げ道となってしまい、ゲルへ通電されません。必ず、陰極と陽極の泳動用緩衝液が触れないように、それぞれの緩衝液量が適切かご確認ください。
	陰極側（内部側）の緩衝液が漏れている	泳動槽のセットをやり直してください。
電気泳動 / ゲル作製	ゲル組成、泳動用緩衝液の組成が異なる	ゲルの組成や pH および泳動用緩衝液の組成や pH が間違っていないかご確認ください。
電気泳動	電極が正しくセットされていない	陰極と陽極が正しくセットされているかご確認ください。また、お使いの泳動槽とパワーサプライにより変換パーツが必要となる場合もあります。お使いの泳動槽とパワーサプライの取扱説明書などでご確認ください。

12. いつもより泳動時間が速い / 遅い

（10 分（5%）程度のずれならば問題ありません）

実験操作	原因	解決策
電気泳動	泳動条件が間違っている	泳動条件が適切かご確認ください。定電流で設定している場合、ゲル 1 枚および 2 枚では設定する電流値が異なります（例えばゲル 1 枚 20 mA 定電流の場合は、ゲル 2 枚では 40 mA 定電流で設定します）。また、パワーサプライの仕様によっては、制限がかかり設定している条件で泳動できていない場合もあります。パワーサプライの仕様を再度ご確認ください。
電気泳動 / ゲル作製	ゲル組成、泳動用緩衝液の組成が異なる	ゲルの組成や pH および泳動用緩衝液の組成や pH が間違っていないかご確認ください。

13. 電気泳動中の異常な発熱

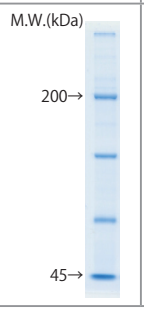
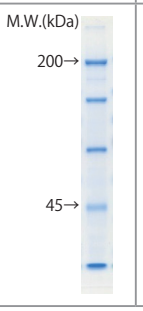
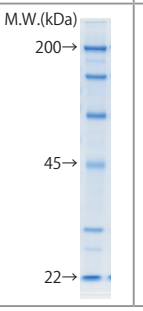
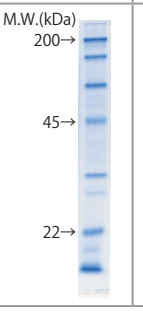
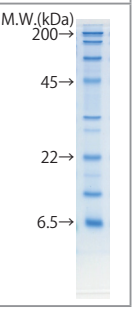
（Extra PAGE One や Bullet PAGE One では高電圧で泳動を行うため、20℃ 程度の温度上昇が起こりますが、異常ではありません）

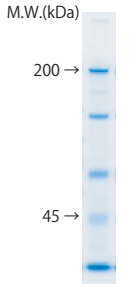
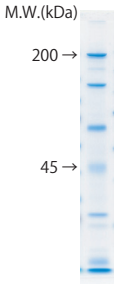
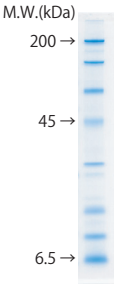
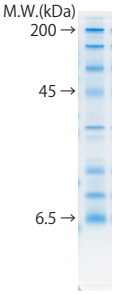
実験操作	原因	解決策
電気泳動 / ゲル作製	ゲル組成、泳動用緩衝液の組成が異なる	ゲルの組成や pH および泳動用緩衝液の組成や pH が間違っていないかご確認ください。

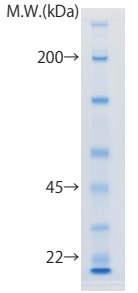
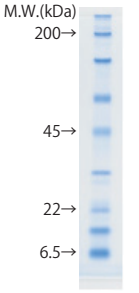
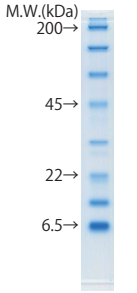
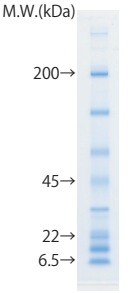
動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

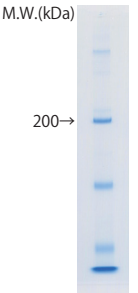
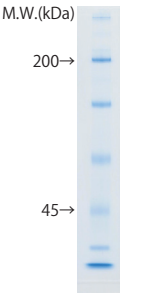
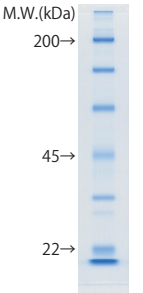
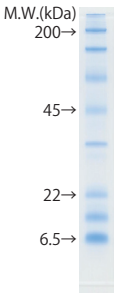
電気泳動パターン

自家調製ゲル

ゲル	Laemmli 法組成ゲル				
泳動用緩衝液	Laemmli 法組成泳動用緩衝液				
ゲル濃度	6%	8%	10%	12%	15%
泳動像					

ゲル	WIDE RANGE Gel			
泳動用緩衝液	Laemmli 法組成泳動用緩衝液			
ゲル濃度	6%	8%	10%	12%
泳動像				

ゲル	Laemmli 法組成ゲル			
泳動用緩衝液	Rapid Running Buffer			
ゲル濃度	6%	8%	10%	4 ～ 10%
泳動像				

ゲル	WIDE RANGE Gel			
泳動用緩衝液	Rapid Running Buffer			
ゲル濃度	4%	6%	8%	10%
泳動像				

WIDE RANGE Gel Preparation Buffer(4x) for PAGE
（#07831-94）

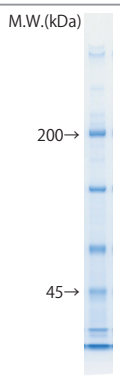
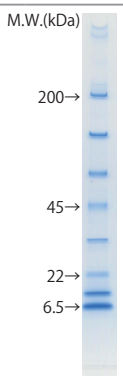
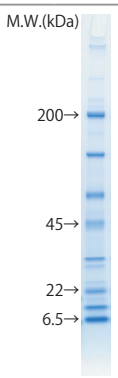
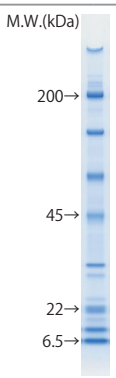
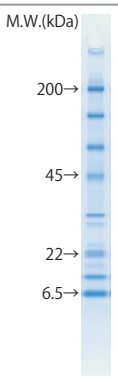
Nacalai オンラインカタログへ

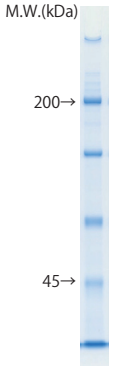
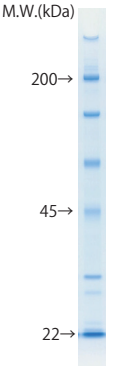
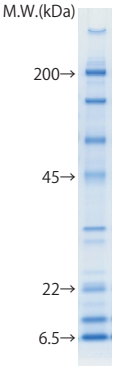
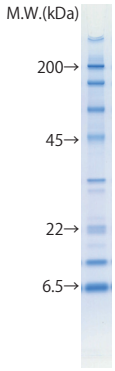
Rapid Running Buffer Solution(20x) for SDS-PAGE
（#12981-74）

Nacalai オンラインカタログへ

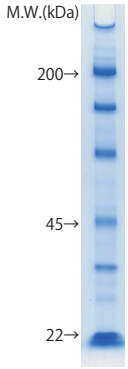
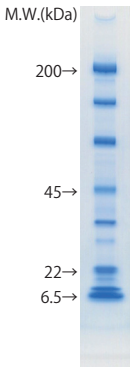
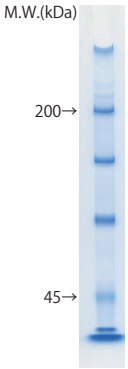
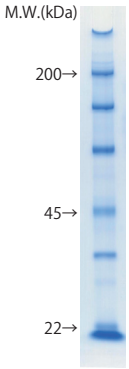
動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

プレキャストゲル

ゲル	Extra PAGE One Precast Gel				
泳動用緩衝液	Laemmli 法組成泳動用緩衝液				
ゲル濃度	グラジエントゲル				
	5 ～ 10%	5 ～ 15%	5 ～ 20%	7.5 ～ 15%	10 ～ 20%
製品番号 13 ウェル 17 ウェル	13059-44 13060-04	13061-94 13062-84	13063-74 13064-64	13065-54 13066-44	13067-34 13068-24
泳動像					

ゲル濃度	均一ゲル			
	7.5%	10%	12.5%	15%
製品番号 13 ウェル 17 ウェル	13069-14 13070-74	13071-64 13072-54	13073-44 13074-34	13075-24 13076-14
泳動像				

▶ Extra PAGE One ラインアップ
→ https://www.nacalai.co.jp/products/entry/d004020.html#lineup 参照

ゲル	Bullet PAGE One Precast Gel			
泳動用緩衝液	Laemmli 法組成泳動用緩衝液			
ゲル濃度	グラジエントゲル		均一ゲル	
	5 ～ 11%	5 ～ 15%	6%	8%
製品番号 13 ウェル 17 ウェル	13077-04 13078-94	13079-84 13080-44	13081-34 13082-24	13083-14 13084-04
泳動像				

▶ Bullet PAGE One ラインアップ
→ https://www.nacalai.co.jp/products/entry/d004019.html#lineup 参照

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

緩衝液の調製方法

＜40% アクリルアミド / ビス溶液（29:1）　500 mL＞
＜40% アクリルアミド / ビス溶液（37.5:1）　500 mL＞

アクリルアミドとビスアクリルアミドの割合が、核酸電気泳動では 19:1、タンパク質電気泳動では 29:1、37.5:1 が汎用されています。

アクリルアミド（モノマー）（#06114-95）
Nacalai オンラインカタログへ

N,N'-メチレンビスアクリルアミド（#22407-52）
Nacalai オンラインカタログへ

▶ アクリルアミドには神経毒があります。取り扱い時には手袋、ゴーグルなどの保護具を装着してください。

▶ ウォーターバスなどを用いて 37℃ 程度に加温しながら溶解させると、早く調製することができます。

● 40% アクリルアミド / ビス溶液（29:1）

38.7（w/v）% アクリルアミド、1.3（w/v）% *N,N'*- メチレンビスアクリルアミド

アクリルアミド	193.3 g
N,N'- メチレンビスアクリルアミド	6.7 g
精製水	—

● 40% アクリルアミド / ビス溶液（37.5:1）

39（w/v）% アクリルアミド、1（w/v）% *N,N'*- メチレンビスアクリルアミド

アクリルアミド	194.8 g
N,N'- メチレンビスアクリルアミド	5.2 g
精製水	—

精製水 300 mL 程度にアクリルアミド、*N,N'*- メチレンビスアクリルアミドを溶解させ、精製水で 500 mL にします。

＜Laemmli 泳動法　分離ゲル用緩衝液（4 ×）　500 mL＞

0.4（w/v）% SDS、1.5 M Tris-HCl、pH 8.8

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（Tris）（121.14 g/mol）	90.9 g
ラウリル硫酸ナトリウム（SDS）	2 g
1 mol/L- 塩酸	（pH 調整用）
精製水	—

Tris、SDS を精製水に溶解させ、精製水で 400 mL 程度にします。塩酸を用いて pH 8.8 へ調整し、その後精製水で 500 mL にします。

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（#35434-05）
Nacalai オンラインカタログへ

ラウリル硫酸ナトリウム（#08933-92）
Nacalai オンラインカタログへ

1mol/l-塩酸（#11677-75）
Nacalai オンラインカタログへ

＜Laemmli 泳動法　濃縮ゲル用緩衝液（4 ×）　100 mL＞

0.4（w/v）% SDS、0.5 M Tris-HCl、pH 6.8

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（Tris）（121.14 g/mol）	6.1 g
ラウリル硫酸ナトリウム（SDS）	0.4 g
1 mol/L- 塩酸	（pH 調整用）
精製水	—

Tris、SDS を精製水に溶解させ、精製水で 60 mL 程度にします。塩酸を用いて pH 6.8 へ調整し、その後精製水で 100 mL にします。

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（#35434-05）
Nacalai オンラインカタログへ

ラウリル硫酸ナトリウム（#08933-92）
Nacalai オンラインカタログへ

1mol/l-塩酸（#11677-75）
Nacalai オンラインカタログへ

＜10% APS　10 mL＞

10% APS

ペルオキソ二硫酸アンモニウム（APS）	1 g
精製水	—

APS を精製水に溶解させ、精製水で 10 mL にします。
-20℃ で保存してください。

ペルオキソ二硫酸アンモニウム（#06284-04）
Nacalai オンラインカタログへ

▶ 凍結融解を何度も行わないように、1 mL 程度ずつ小分けにしておくことをお薦めします。

＜Laemmli 泳動法　試料緩衝液（2 ×）　50 mL＞

4（w/v）% SDS、20（v/v）% グリセリン、0.01（w/v）% BPB、10（v/v）%-2ME*、0.125 M Tris-HCl、pH 6.8

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（Tris）（121.14 g/mol）	0.76 g
ラウリル硫酸ナトリウム（SDS）	2 g
グリセリン	10 mL
ブロモフェノールブルー（BPB）	5 mg
2- メルカプトエタノール（2-ME）	5 mL
1 mol/L- 塩酸	（pH 調整用）
精製水	—

Tris、SDS、グリセリン、BPB、2-ME を精製水に溶解させ、精製水で 40 mL 程度にします。塩酸を用いて pH 6.8 へ調整し、その後精製水で 50 mL にします。

* 還元剤を含まない試料緩衝液（2 ×）の場合は、上記調製方法から 2-ME を抜いて作製してください。

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（#35434-05）
Nacalai オンラインカタログへ

ラウリル硫酸ナトリウム（#08933-92）
Nacalai オンラインカタログへ

グリセリン（#17045-94）
Nacalai オンラインカタログへ

ブロモフェノールブルー（#05808-61）
Nacalai オンラインカタログへ

2-メルカプトエタノール（#21438-82）
Nacalai オンラインカタログへ

＜Laemmli 泳動法　泳動用緩衝液（1 ×）　1 L＞

25 mM Tris、192 mM グリシン、0.1（w/v）% SDS

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（Tris）（121.14 g/mol）	3 g
グリシン（75.07 g/mol）	14.4 g
ラウリル硫酸ナトリウム（SDS）	1 g
精製水	—

精製水 800 mL 程度に Tris、グリシン、SDS を溶解させ、精製水で 1 L にします。

※泳動用緩衝液（10 倍濃縮，SDS-PAGE 用，トリス - グリシン系）（#30329）をご使用いただくと便利です。精製水で 10 倍希釈してください。

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（#35434-05）
Nacalai オンラインカタログへ

グリシン（#17141-95）
Nacalai オンラインカタログへ

▶ pH 調整は必要ありません。

泳動用緩衝液（10倍濃縮，SDS-PAGE用，トリス -グリシン系）（#30329-61）

Nacalai オンラインカタログへ

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

＜Tris-Tricine 泳動法　ゲル緩衝液　500 mL＞

0.3（w/v）% SDS、3 M Tris-HCl、pH 8.45

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（Tris）（121.14 g/mol）	181.7 g
ラウリル硫酸ナトリウム（SDS）	1.5 g
6 mol/L- 塩酸	（pH 調整用）
精製水	—

Tris、SDS を精製水に溶解させ、精製水で 380 mL 程度にします。塩酸を用いて pH 8.45 へ調整し、その後精製水で 500 mL にします。

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（#35434-05）
Nacalai オンラインカタログへ

ラウリル硫酸ナトリウム（#08933-92）
Nacalai オンラインカタログへ

6mol/l- 塩酸 (6N)（#37313-25）
Nacalai オンラインカタログへ

＜Tris-Tricine 泳動法　試料緩衝液（2 ×）　50 mL＞

8（w/v）% SDS、24（v/v）% グリセリン、0.02（w/v）% CBB、4（v/v）%-2ME*、0.1 M Tris-HCl、pH 6.8

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（Tris）（121.14 g/mol）	0.61 g
ラウリル硫酸ナトリウム（SDS）	4 g
グリセリン	12 mL
コマジーブリリアントブルー G-250（CBB）	10 mg
2- メルカプトエタノール（2-ME）	2 mL
1 mol/L- 塩酸	（pH 調整用）
精製水	—

Tris、SDS、グリセリン、CBB、2-ME を精製水に溶解させ、精製水で 40 mL 程度にします。塩酸を用いて pH 6.8 へ調整し、その後精製水で 50 mL にします。

* 還元剤を含まない試料緩衝液（2 ×）の場合は、上記調製方法から 2-ME を抜いて作製してください。

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（#35434-05）
Nacalai オンラインカタログへ

ラウリル硫酸ナトリウム（#08933-92）
Nacalai オンラインカタログへ

グリセリン（#17045-94）
Nacalai オンラインカタログへ

コマジーブリリアントブルー G-250（#09409-42）
Nacalai オンラインカタログへ

2-メルカプトエタノール（#21438-82）
Nacalai オンラインカタログへ

＜Tris-Tricine 泳動法　泳動用緩衝液（1 ×）　1 L＞

0.1 M Tris、0.1 M Tricine、0.1（w/v）% SDS

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（Tris）（121.14 g/mol）	12.1 g
トリシン（Tricine）（179.17 g/mol）	17.9 g
ラウリル硫酸ナトリウム（SDS）	1 g
精製水	—

Tris、Tricine、SDS を精製水に溶解させ、精製水で 1 L にします。

※10 倍濃縮液を作製しておくと便利です。使用前に精製水で 10 倍希釈してください。

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（#35434-05）
Nacalai オンラインカタログへ

トリシン（#02437-24）
Nacalai オンラインカタログへ

ラウリル硫酸ナトリウム（#08933-92）
Nacalai オンラインカタログへ

▶ pH 調整は必要ありません。

＜ゲル膨潤液　25 mL＞

8 M 尿素、2% CHAPS、Ampholyte*、0.002% BPB、
18.2 mM DTT（使用直前に溶解）

尿素（60.06 g/mol）	12 g
CHAPS	0.5 g
アンフォライト（Ampholyte）*	—
ブロモフェノールブルー（BPB）	0.5 mg
精製水	—

尿素、CHAPS、Ampholyte、BPB を精製水に溶解させ、精製水で 25 mL にします。小分けにして、-20℃ で保存してください。
使用前に上記溶液 2.5 mL あたり、ジチオスレイトール（DTT）（154.25 g/mol）7 mg を溶解させご使用ください。

* ご使用になる IPG ゲルの pH レンジに応じて選択してください。使用濃度はご使用になる IPG ゲルの取扱説明書をご確認ください。

尿素（#35940-65）
Nacalai オンラインカタログへ

CHAPS（#07957-64）
Nacalai オンラインカタログへ

ブロモフェノールブルー（#05808-61）
Nacalai オンラインカタログへ

ジチオスレイトール（#14128-91）
Nacalai オンラインカタログへ

＜1 M Tris-HCl（pH 8.8）　50 mL＞（平衡化液作製に使用）

1 M Tris-HCl、pH 8.8

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（Tris）（121.14 g/mol）	6.06 g
1 mol/L- 塩酸	（pH 調整用）

Tris を精製水に溶解させ、精製水で 40 mL 程度にします。塩酸を用いて pH 8.8 へ調整し、その後精製水で 50 mL にします。

トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（#35434-05）
Nacalai オンラインカタログへ

＜平衡化液　200 mL＞

6 M 尿素、30（v/v）% グリセリン、2（w/v）% SDS、0.002% BPB、
75 mM Tris HCl（pH 8.8）、
1（w/v）% DTT（A 液：使用直前に溶解）
2.5（w/v）% ヨードアセトアミド（B 液：使用直前に溶解）

1 M Tris-HCl（pH 8.8）	15 mL
尿素（60.06 g/mol）	72.1 g
グリセリン	60 mL
ラウリル硫酸ナトリウム（SDS）	4 g
ブロモフェノールブルー（BPB）	4 mg
精製水	—

1 M Tris-HCl（pH 8.8）、尿素、グリセリン、SDS、BPB を精製水に溶解させ、精製水で 200 mL にします。小分けにして、-20℃ で保存してください。
使用前に DTT（A 液）、ヨードアセトアミド（B 液）を溶解させてください。

A 液：上記溶液 10 mL あたり、ジチオスレイトール（DTT）0.1 g を溶解
B 液：上記溶液 10 mL あたり、ヨードアセトアミド 0.25 g を溶解

尿素（#09593-35）
Nacalai オンラインカタログへ

グリセリン（#17045-94）
Nacalai オンラインカタログへ

ラウリル硫酸ナトリウム（#08933-92）
Nacalai オンラインカタログへ

ブロモフェノールブルー（#05808-61）
Nacalai オンラインカタログへ

ジチオスレイトール（#14128-91）
Nacalai オンラインカタログへ

ヨードアセトアミド（#19302-54）
Nacalai オンラインカタログへ

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

＜アガロース溶液　20 mL＞

0.5（w/v）% アガロース、泳動用緩衝液

アガロース LM Sieve（低融点）	0.1 g
泳動用緩衝液（1×）*	20 mL

アガロースに泳動用緩衝液（1 ×）を加え 、電子レンジなどを用いて加温溶解させます。1 mL 程度ずつ小分けにし、冷蔵保存してください。
使用時には 70℃ 程度に温め、再溶解してご使用ください。

* 二次元目 SDS-PAGE でご使用になる泳動用緩衝液（1 ×）を用いてください。

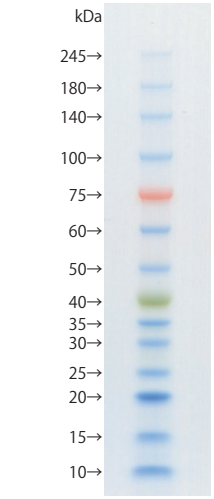
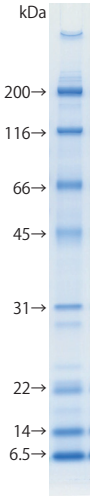
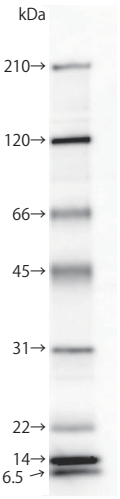
アガロース LM Sieve(低融点)
（#01651-92）

Nacalai オンラインカタログへ

タンパク質マーカーについて

弊社では下記 3 種類のタンパク質マーカーをラインアップしています。使用目的・用途に合わせてご使用ください。

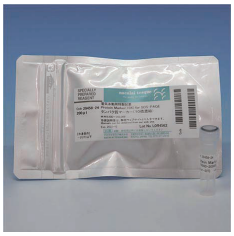
タンパク質マーカーの比較

	プレステインドマーカー	未着色マーカー	ウェスタンブロッティング用マーカー
製品名	Protein Ladder One Plus, Triple-color for SDS-PAGE	タンパク質マーカー (10 倍濃縮)	Chemi-Lumi One Markers Kit
製品番号	19593-25	29458-24	06456-70
構成タンパク質	色素標識 14 種類のタンパク質 (リコンビナント)	8 種類のタンパク質 (天然)	ビオチン標識 8 種類のタンパク質 (天然)
用途	電気泳動中の分離状況やウェスタンブロッティングでの転写効率の確認、目的タンパク質の分子量推定	CBB 染色や銀染色による目的タンパク質の分子量測定	ウェスタンブロッティングにおける目的タンパク質の分子量推定
説明	着色済みの ready to use マーカーです。 目視だけでなく、蛍光検出も可能です *。 * 添加量を 1/10 程度に減らしてください。	未着色のため、使用時には試料緩衝液を用いた調製が必要です。未着色のため、正確な分子量測定に使用できます。	使用時には試料緩衝液を用いた調製が必要です。付属の HRP 標識ストレプトアビジン使用により、HRP 検出試薬で検出可能です。
分子量範囲	10 ～ 245 kDa	6.5 ～ 200 kDa	6.5 ～ 210 kDa
泳動像			
(条件)	Extra PAGE One Precast Gel, 5-20% (5 µL 添加) 目視により観察	Extra PAGE One Precast Gel, 12.5% (5 µL 添加) CBB 染色により検出	4-20% グラジエントゲル (5 µL 添加) Chemi-Lumi One L により検出

Protein Ladder One Plus, Triple-color for SDS-PAGE (#19593-25)

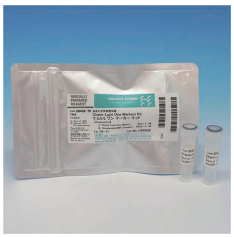
Nacalai オンラインカタログへ

タンパク質マーカー (10 倍濃縮) (#29458-24)



Nacalai オンラインカタログへ

Chemi-Lumi One Markers Kit (#06456-70)



Nacalai オンラインカタログへ

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

サンプルの濃縮・妨害物質除去試薬　PAGE Clean Up Kit

SDS-PAGE や二次元電気泳動時において、分析するタンパク質サンプルの濃縮や分析妨害物質の除去に使用します。アセトン、トリクロロ酢酸、共沈剤をベースとしており、本製品により沈殿させたタンパク質を使用目的に応じたサンプル溶液に再懸濁することで、タンパク質サンプルの濃縮や分析妨害物質の除去を行います。透析では難しい µL レベルの少量処理が可能です。

PAGE Clean Up Kit
（#06441-50）

Nacalai オンラインカタログへ

実験プロトコール

製品内容

試薬名	主成分	容量	数量	貯法
Solution A	トリクロロ酢酸	10 mL	1	冷蔵
Solution B	共沈剤	5 mL	1	冷蔵
Solution C	アセトン	100 mL	1	室温

① 100 µL のサンプルに Solution A を 100 µL 添加、混合後、さらに Solution B を 30 µL 添加し混合します。

② 4℃ で 12,000 × g、5 分、遠心分離した後、沈殿物を吸い取らないように上清液を除去します。十分に液を除去するために、さらに 4℃ で 12,000 × g、10 秒、遠心分離し、沈殿物を吸い取らないように上清液を除去します。

③ Solution B を 20 µL 添加し、沈殿物を十分に攪拌混合します（この時沈殿物は完全に溶解しません）。

④ 4℃ で 12,000 × g、5 分、遠心分離した後、沈殿物を吸い取らないように上清液を除去します。

⑤ 冷凍庫であらかじめ冷やしておいた Solution C を 1 mL 添加し、沈殿物を十分に攪拌混合します。

⑥ 冷凍庫で 30 分、静置してください。

⑦ 4℃ で 12,000 × g、5 分、遠心分離した後、沈殿物を吸い取らないように上清液を除去します。十分に液を除去するために、さらに 4℃ で 12,000 × g、10 秒、遠心分離し、沈殿物を吸い取らないように上清液を除去します。

⑧ 室温で 5 分程度、風乾します。

⑨ 電気泳動の試料緩衝液など、使用目的に応じたサンプル溶解液を添加し、十分に溶解してください。

実施例 1　タンパク質濃縮（SDS-PAGE）

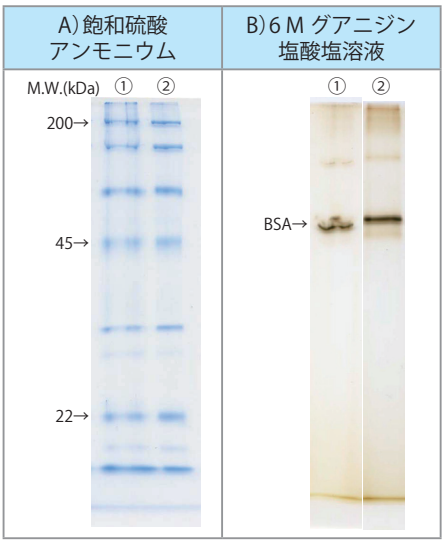
本製品を用いて、タンパク質抽出に汎用される高濃度の尿素、グアニジン塩酸、SDS を含有する BSA 溶液を濃縮しました。従来の TCA 法やアセトン法では回収率が悪い一方、本製品による沈殿法では高い収率で回収できています。

6 M 尿素溶液	6 M グアニジン塩酸塩溶液	2% SDS 溶液
① ② ③	① ② ③	① ②

＜実験条件＞
サンプル：BSA（100 ng）100 µL
沈殿処理：① 本製品使用、② TCA 沈殿法を使用、③ 10 倍量アセトン沈殿法を使用
ゲル　　：12% ポリアクリルアミドゲル（SDS-PAGE）
染色　　：Sil-Best Stain One（#06865-81）

実施例 2　分析妨害物質の除去（SDS-PAGE）

硫酸アンモニウムおよびグアニジン塩酸塩を含有するタンパク質溶液を、そのままもしくは本製品による処理後、SDS-PAGE を行いました。本製品処理により妨害物質が除去され、泳動像が改善されています。



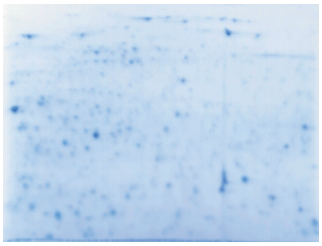
＜実験条件＞
サンプル：A）タンパク質マーカー（10 倍濃縮）（#29458-24）、
　　B）BSA（100 ng：非還元）
沈殿処理：① 本製品未使用、② 本製品使用
ゲル　　：12% ポリアクリルアミドゲル（SDS-PAGE）
染色　　：A）CBB Stain One(Ready To Use)（#04543）、
　　B）Sil-Best Stain One（#06865-81）

※収率はサンプル溶解液の組成やタンパク質濃度などにより異なる場合があります。予備検討の上、ご使用ください。

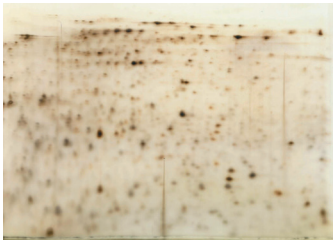
実施例 3　二次元電気泳動における実施例

本製品もしくは A 社類似製品により精製したサンプルを二次元電気泳動により分離しました。本製品および A 社類似製品で同等の泳動像が得られました。本製品は二次元電気泳動の前処理としてもご使用いただけます。

● CBB 染色結果

PAGE Clean Up Kit	A 社製品
	

● 銀染色結果

PAGE Clean Up Kit	A 社製品
	

＜実験条件＞
サンプル：HL-60 細胞由来タンパク質（RIPA Buffer（#08714-04）抽出）
ゲル　　：［一次元目］Immobiline DryStrip pH 4-7（Cytiva）
　　［二次元目］12% ポリアクリルアミドゲル（SDS-PAGE）
染色　　：［CBB 染色］CBB Stain One(Ready To Use)（#04543）
　　［銀染色］Sil-Best Stain One（#06865-81）

Immobiline は、Cytiva として事業を行う Global Life Sciences Solutions USA LLC およびその関連会社の商標です。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

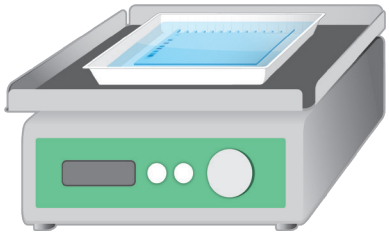
His-tag 融合タンパク質用染色液　His-Detect In-Gel Stain

His-Detect In-Gel Stain は、電気泳動後のゲル中の His-tag 融合タンパク質を短時間、簡便な操作で目視により確認できる染色液です。His-tag にコバルトが配位することを利用し、His-tag 融合タンパク質を色素により染色します。
約 30 pmol（30 kDa のタンパク質では 900 ng に相当）の His-tag 融合タンパク質を検出することができます。

実験プロトコール

（100 mm × 100 mm × 1 mm ミニゲル基準）

① 電気泳動後のゲルを清潔なトレイ（Dispotray）に移し、本製品を 50 mL 加え 30 分振とうします。

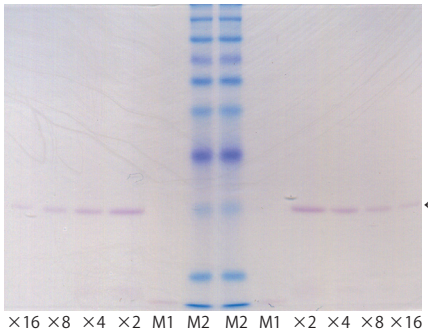


② トレイから本製品を除去し、精製水 100 mL で 10 分ゲルを洗浄します。さらにこの操作を 2 回行います。

実施例　His-Detect In-Gel Stain とウェスタンブロッティングの比較

DHFR-His を発現させた大腸菌ライセートを段階希釈し SDS-PAGE を行った後、本製品で His-tag 融合タンパク質の染色を行いました（図 1）。
染色後、同一ゲルからウェスタンブロッティングを行い、化学発光法および発色法で His-tag 融合タンパク質を検出しました（図 2、図 3）。
本製品での染色結果はウェスタンブロッティングでの検出結果と一致していることが分かります。

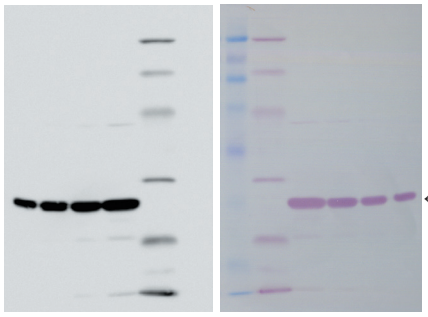
図 1. His-Detect In-Gel Stain による染色



M1：Chemi-Lumi One Markers Kit（#06456-70）
M2：プレステインドマーカー

図 2.
化学発光による検出

図 3.
発色法による検出



＜ウェスタンブロッティング条件＞
一次抗体：抗 6xHis（マウス IgG1-κ）, モノクローナル (HI192), AS（#04428）
二次抗体：goat anti-mouse IgG-HRP（Santa Cruz #sc-2005）
検出　：［化学発光］Chemi-Lumi One L（#07880）　［発色］ペルオキシダーゼ染色キット（#26652-70）

▶ 2- メルカプトエタノール以外の還元剤（特に DTT や TCEP）を使用して電気泳動用サンプルを還元した場合、ゲルが一部変色することがあります。本製品による染色操作を行う前に、精製水でゲルを 10 分（× 2 回）洗浄することでゲルの変色が改善されます。

▶ 本製品は、金属結合性のタンパク質を染色する色素を用いているため、サンプルによっては非特異的なバンドが検出される場合があります。

▶ 染色を行うゲルの面積および厚さに応じて染色液を増減してください（例：180 mm × 180 mm × 1 mm のラージゲルでは 250 mL の本製品使用をお薦めします）。染色液が少ない場合、検出感度が低下しますのでご注意ください。

His-Detect In-Gel Stain
（#08500-94）

Nacalai オンラインカタログへ

Dispotray-M
（#16551-84）

Nacalai オンラインカタログへ

Dispotray-S
（#16526-82）

Nacalai オンラインカタログへ

▶ Dispotray → p.50 参照

銀染色時の銀除去キット　Sil-Best Destain Kit

Sil-Best Destain Kit を用いると、タンパク質の SDS-PAGE などにおいて、銀染色後のゲルから銀を除去できます。銀染色後のタンパク質を質量分析に用いる際の前処理に使用したり、過剰な銀染色によりバックグラウンドが高くなったゲルを脱色することで最適な染色像に改善したりできるため、貴重なサンプルを有効に活用できます。

Sil-Best Destain Kit
(#07983-30)

Nacalai オンラインカタログへ

▶ 本製品で脱色したサンプルを質量分析する場合、予備実験などにより解析結果への影響を確認の上ご使用ください。

実験プロトコール(銀染色後のバンドからの銀の除去)

1. 試薬の調製

下表に従い脱色液 -1 を調製してください。

試薬名	調製内容
脱色液 -1	A 液　10 µL　左記を混合して脱色液 -1 とします。 B 液　10 µL 精製水　180 µL

2. 脱色操作

① ゲルの切り出し
銀染色によりタンパク質が検出されたゲルを切り出し、マイクロチューブなどに移します。

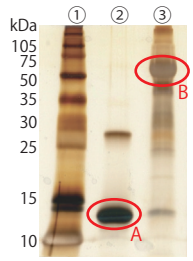
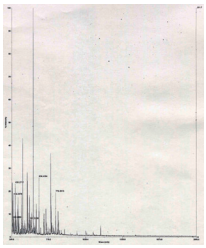
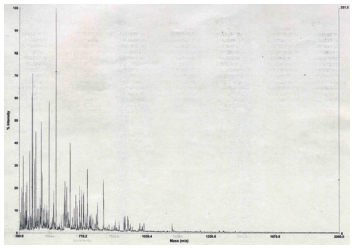
② 脱色
ゲルの入ったチューブに 100 ～ 200 µL の脱色液 -1 を加え、脱色されるまで(10 分程度)振とうします。

③ 洗浄
チューブから脱色液 -1 を除去し、精製水を 500 µL 加えます。15 分振とう後、チューブから精製水を除去してください。この操作をさらに 2 回行います。

脱色操作後は、必要に応じて処理(例：プロテアーゼ消化)を行い、質量分析などにご使用ください。

実施例　Sil-Best Destain Kit を用いた MS 適用例

Sil-Best Stain One で染色したバンドを切り出し、本製品で脱色後、MS 解析を行いました。銀が除去され、問題なく解析できていることが分かります。

電気泳動像 (Sil-Best Stain One 染色)	バンド A の MS スペクトルデータ	バンド B の MS スペクトルデータ
		

＜実験条件＞
サンプル：① 分子量マーカー、② Cytochrome C(分子量 12,000)、③ Albumin(分子量 67,000)
1 µg/µL　各 10 µL 添加
ゲル　：15% ポリアクリルアミドゲル(SDS-PAGE)
染色　：Sil-Best Stain One(#06865-81)

プロトコール概要

1. SDS-PAGE
↓
2. 銀染色(Sil-Best Stain One(#06865-81))
↓
3. ゲルの切り出し
↓
4. 脱色(Sil-Best Destain Kit(#07983-30))
↓
5. 脱水
↓
6. 還元アルキル化
↓
7. トリプシン消化
↓
8. ペプチド抽出
↓
9. ZipTip(メルク株式会社メルクミリポア事業本部)精製
↓
10. ESI-MS

ZipTip は Merck KGaA の登録商標です。

データご提供：京都大学大学院 農学研究科 応用生命科学専攻　植田 充美 教授 / 森坂 裕信 研究員

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

実験プロトコール（過剰な染色像からの最適化）

1. 試薬の調製（100 mm × 100 mm × 1 mm ミニゲルの場合）

別途必要な試薬

酢酸（試薬グレードは試薬特級もしくは用途に適したものをご使用ください。）
下表に従い脱色液 -2 および停止液を調製してください。

試薬名	調製内容
脱色液 -2	A 液　200 µL　左記を混合して脱色液 -2 とします。 B 液　200 µL 精製水　50 mL
停止液	酢酸　10 mL　左記を混合して停止液とします。 精製水　90 mL

2. 脱色操作

① 洗浄
トレイに精製水を 100 mL 加え、過剰に染色されたゲルを破損しないように浸します。穏やかに振とうさせて 5 分洗浄し、トレイ中の精製水を除去します。この洗浄をもう一度行います。

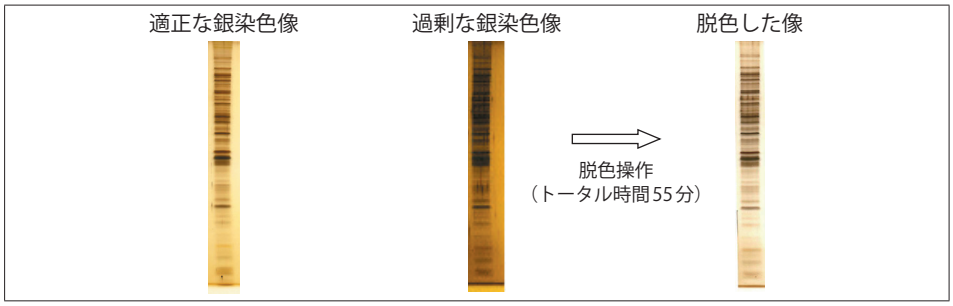
② 脱色
トレイに脱色液 -2 をゲルが十分浸る程度加え、振とうさせて 5 ～ 60 分程度脱色します。

③ 脱色停止
トレイから脱色液 -2 を除去し、停止液に 15 分浸します。

④ 洗浄
トレイから停止液を除去し、100 mL 以上の精製水で 10 分程度洗浄してください。

実施例　過剰な銀染色改善例

本製品を用いて過剰な銀染色を脱色しました。最適な染色像に改善できるため、実験のやり直しを行う必要がなく、貴重なサンプルを有効に活用できます。



＜実験条件＞
サンプル：大腸菌抽出タンパク質
ゲル　　：12% ポリアクリルアミドゲル（SDS-PAGE）
染色　　：Sil-Best Stain One（#06865-81）

酢酸
（#08885-45）

Nacalai オンラインカタログへ

- 脱色時間や脱色の程度は、A 液と B 液の添加量を調節することにより変更できます。少しだけバックグラウンドを下げたい場合は、A 液と B 液の添加量を減らしてご使用ください。
- 過剰な脱色を防ぐために、脱色の停止は、得られる染色像が最適と思われる状態より少し手前で行ってください。また必要に応じてあらかじめ脱色前にスキャナーなどで染色像を保存しておいてください。
- 極端にバックグラウンドが高い過剰染色ゲルでは、バックグラウンドの脱色に要する時間が長くなり、タンパク質バンドも必要以上に脱色される場合があります。
- グラジエントゲル使用の際、銀染色後のバックグラウンドが不均一な場合は、均一に脱色されないことがあります。

タンパク質抽出試薬　RIPA Buffer

RIPA Buffer は界面活性剤を含んだタンパク質抽出用の緩衝液で、タンパク質の可溶化・抽出に使用されます。抽出されたタンパク質は、ウェスタンブロッティングや免疫沈降などのアプリケーションに使用できます。

RIPA Buffer の製品比較

RIPA Buffer の基本組成で構成される 1 ×調製済み（ready to use タイプ）の製品と、プロテアーゼ阻害剤カクテルを含有し、免疫沈降時に悪影響を与える可能性のある SDS を別添付した 10 倍濃縮タイプの 2 製品を販売しています。

製品名	RIPA Buffer	RIPA Buffer(10x)
製品番号	16488-34	08714-04
製品イメージ		
濃縮	1×（ready to use）	10×
プロテアーゼ阻害剤カクテル	不含	含有
SDS	含有	不含（1% SDS 溶液を添付）
保存	冷蔵	冷凍
組成	・50 mmol/L Tris-HCl Buffer（pH 7.6） ・150 mmol/L NaCl ・1% Nonidet P40 Substitute ・0.5% Sodium Deoxycholate ・0.1% SDS	1×溶液調製後（SDS 添加） ・50 mmol/L Tris-HCl Buffer（pH 7.6） ・150 mmol/L NaCl ・1% Nonidet P40 Substitute ・0.5% Sodium Deoxycholate ・Protease Inhibitor Cocktail（1×） ・（0.1% SDS）
容量 / セット内容	100 mL	・RIPA Buffer（10x）：2 mL × 5 本 ・SDS Solution（1% SDS）：2 mL × 5 本

Nonidet は、シェル ブランズ インターナショナル アクチェンゲゼルシャフトの登録商標です。

実施例 1　RIPA Buffer を用いて抽出した細胞懸濁液のウェスタンブロッティング

RIPA Buffer（#16488-34）にホスファターゼ阻害剤カクテル（#07574-61）を添加することにより、HL-60 細胞由来のリン酸化タンパク質は、ホスファターゼによる影響を回避することができました。

① ②

＜実験条件＞
サンプル　：① 1% ホスファターゼ阻害剤を添加した RIPA Buffer を用いてタンパク質抽出を行った HL-60 細胞懸濁液
② RIPA Buffer を用いてタンパク質抽出を行った HL-60 細胞懸濁液
ゲル　：Bullet PAGE One Precast Gel, 5-15%, 17wells（#13080-44）
泳動　：400 V 10 分
転写　：Bullet Semi-dry Transfer One（#15353-01）25 V 10 分
ブロッキング：Blocking One-P（#05999-84）20 分
抗体　：p-Tyr 抗体 (PY20) HRP（Santa Cruz #sc-508 HRP）2,000 倍希釈　60 分
検出　：Chemi-Lumi One Super（#02230）

RIPA Buffer
（#16488-34）
Nacalai オンラインカタログへ

RIPA Buffer(10x)
（#08714-04）
Nacalai オンラインカタログへ

プロテアーゼ阻害剤カクテル
(動物細胞抽出物用)
（#25955-11）
Nacalai オンラインカタログへ

プロテアーゼ阻害剤カクテル
(一般用)(100 倍濃縮)
（#04080-11）
Nacalai オンラインカタログへ

プロテアーゼ阻害剤カクテル
(EDTA フリー)(100 倍濃縮)
（#03969-21）
Nacalai オンラインカタログへ

ホスファターゼ阻害剤カクテル
（#07574-61）

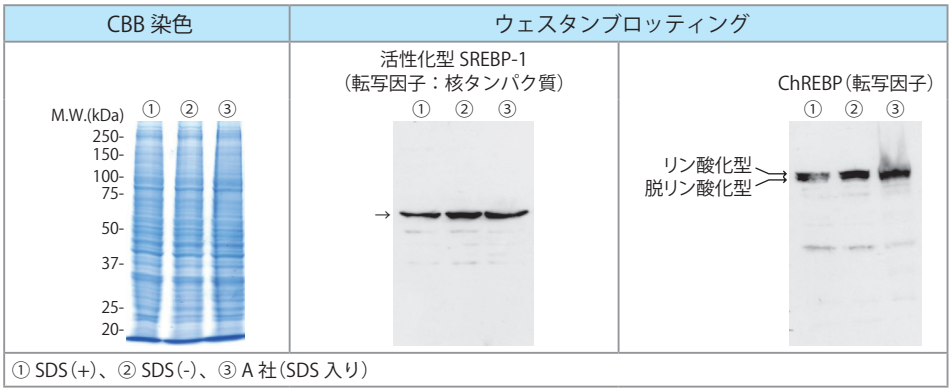
Nacalai オンラインカタログへ

ホスファターゼ阻害剤カクテル
(EDTA フリー)
（#07575-51）
Nacalai オンラインカタログへ

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

実施例 2　RIPA Buffer(10x) を用いて抽出したタンパク質溶液のウェスタンブロッティング

RIPA Buffer(10x) により細胞質や核などさまざまなタンパク質を抽出後、転写因子 SREBP-1、ChREBP について Chemi-Lumi One L により検出しました。



＜実験条件＞
染色　　：CBB Stain One(Ready To Use) (#04543)
-- 以下ウェスタンブロッティング --
ブロッキング：Blocking One (#03953)
検出　　：Chemi-Lumi One L (#07880)

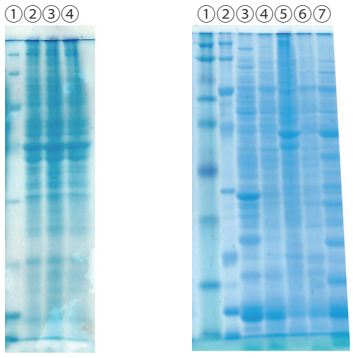
細胞質や核などに存在している抽出しにくいタンパク質が、効率良く抽出できました。

データご提供：近畿大学 農学部 応用生命化学科 応用細胞生物学研究室　森山 達哉 准教授

実施例 3　RIPA Buffer(10x) を用いて抽出したタンパク質溶液の免疫沈降

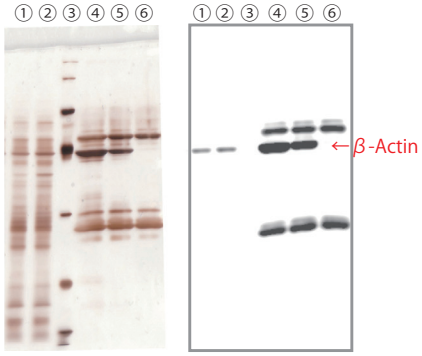
細胞や組織溶解用の弊社 RIPA Buffer(10x) を用いて抽出したサンプルを免疫沈降後、Chemi-Lumi One L により検出した例を示します。弊社 RIPA Buffer(10x) は、免疫沈降に悪影響を与える可能性のある SDS を別添付した製品です。
抽出時の細胞溶解性は SDS (+) の方が高く、どのような組織でも問題なく抽出できています。一方、免疫沈降は、SDS (-) の方が効率良く行えています。このように、本製品では SDS を含まない条件でもご使用いただけます。

● 抽出



＜実験条件＞
抽出　　：冷 PBS で洗浄した組織切片 100 mg に対して、RIPA Buffer 300 µL を氷上で 30 分処理
サンプル：[左図]
①タンパク質マーカー (10倍濃縮) (#29458-24)
マウスの胃から各 RIPA を用いてタンパク質を抽出した溶液
② SDS (-) RIPA、③ SDS (+) RIPA、④ B 社 RIPA (SDS 入り)
[右図]
① Pre-stained Protein Markers (Broad Range) (販売終了)
②タンパク質マーカー (10倍濃縮) (#29458-24)
各組織から SDS (+) RIPA を用いてタンパク質を抽出した溶液
③ Mouse Liver
④ Mouse Kidney
⑤ Mouse Stomach
⑥ Mouse Brain
⑦ Mouse Heart
染色　　：CBB Stain One(Ready To Use) (#04543)

● 免疫沈降



＜実験条件＞
抽出　　：Jurkat Cell 1.0 × 10^7 個に対して、RIPA Buffer 1 mL を氷上で 15 分処理
サンプル：① SDS (-) RIPA を用いてタンパク質を抽出した溶液
② SDS (+) RIPA を用いてタンパク質を抽出した溶液
③ タンパク質マーカー (10倍濃縮) (#29458-24)
④ SDS (-) RIPA を用いてタンパク質を抽出した溶液から免疫沈降した溶液
⑤ SDS (+) RIPA を用いてタンパク質を抽出した溶液から免疫沈降した溶液
⑥ アガロースコントロール
一次抗体：β-Actin抗体 (C4) (Santa Cruz #sc-47778)
二次抗体：goat anti-mouse IgG-HRP (Santa Cruz #sc-2005)
左図染色：Sil-Best Stain One (#06865-81)
右図検出：Chemi-Lumi One L (#07880)

プロテインアッセイシリーズ

タンパク質実験において、タンパク質の濃度を常に把握しておくことはとても重要です。タンパク質の定量法は数多くありますが、弊社では、その中でも汎用性の高い CBB 法（Bradford 法）、ビシンコニン酸（BCA）法、Lowry 法に対応した試薬および検量線用標準液である BSA 溶液（アルブミン (ウシ血清) 溶液 (2mg/ml)（#00653-31））をラインアップしています。

プロテインアッセイシリーズの特徴比較

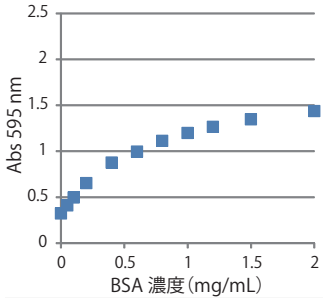
		CBB 法（Bradford 法）		CBB 法 前処理	BCA 法	BCA 法 前処理	Lowry 法
製品番号		11617-71	29449	11611-60	06385-00	21014-80	29470-60
製品名		CBB 溶液 (Ready To Use)	CBB 溶液 (5 倍濃縮)	CBB クリーンアップキット 妨害物質除去キット CBB 溶液と一緒にご使用ください	BCA キット	BCA 還元剤アダプト試薬 還元剤適応試薬 BCA キットと一緒にご使用ください	Lowry キット
測定波長		595 nm (580 ～ 610 nm*)			562 nm (540 ～ 590 nm*)		750 nm (650 ～ 750 nm*)
迅速性		◎	○	△	△	△	×
直線性・測定範囲		△			◎		○
タンパク質の種類による反応差		△			○		○
夾雑物の影響	界面活性剤	×	×	◎	○	○	△
	還元剤	○		○	×	◎	×

* 記載している範囲で測定は可能です。ただし、吸収極大波長からずれるため、感度が低下します。

夾雑物の共存可能濃度表を各製品の取扱説明書に記載しています。

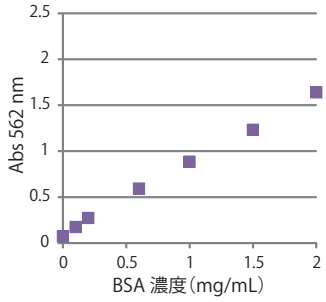
各プロテインアッセイの BSA 測定例の比較

CBB 法（Bradford 法）



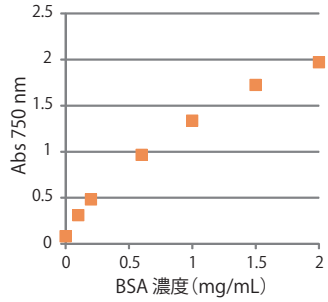
スタンダード法（マイクロプレート）にて測定

BCA 法



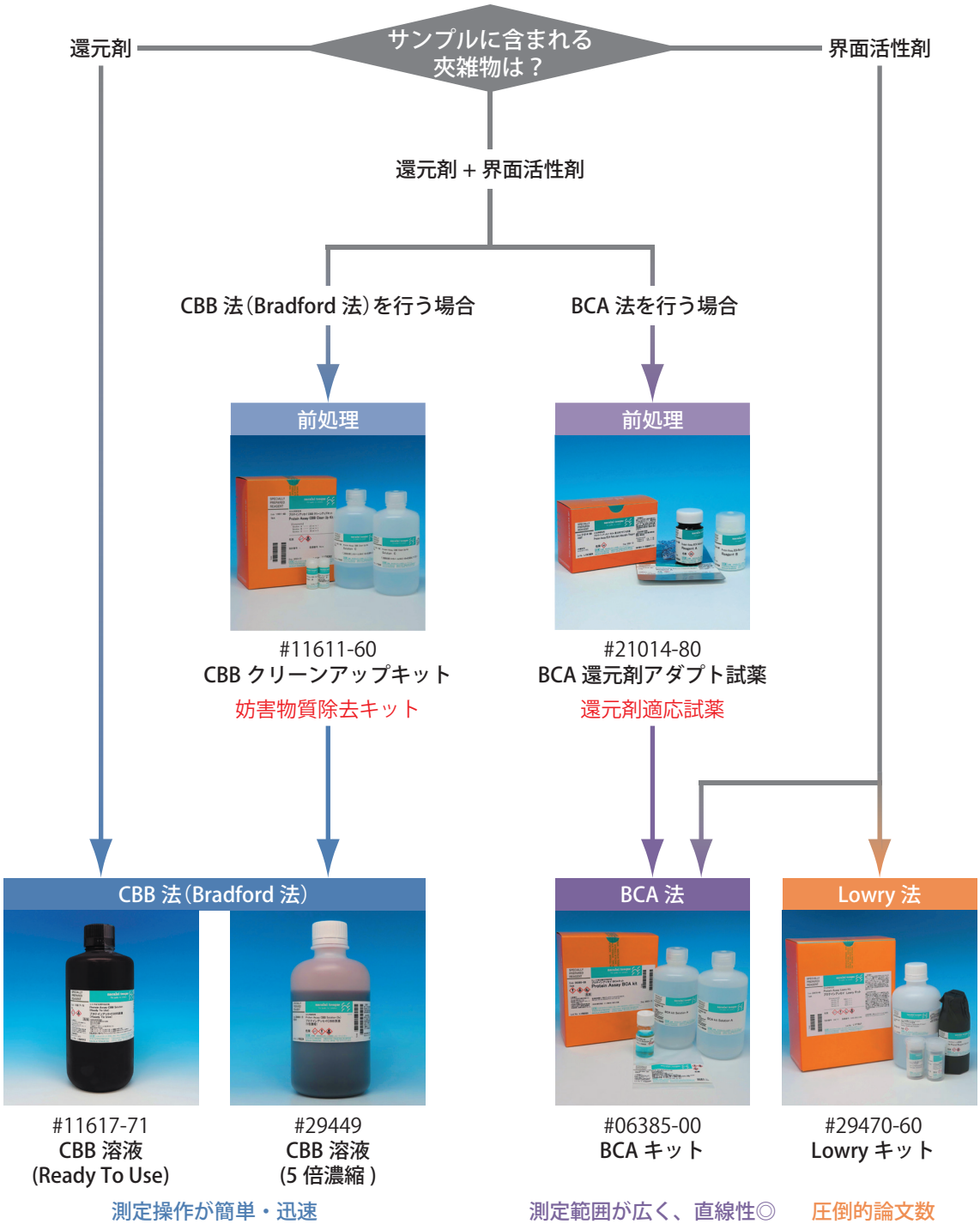
標準法（マイクロプレート）にて測定

Lowry 法



動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

プロテインアッセイセレクションガイド



ゲルの保存　BioDesignGelWrap を用いたゲルの乾燥・保存

BioDesign Inc. of New York 社の BioDesignGelWrap は、電気泳動後の各種ポリアクリルアミドゲルやアガロースゲルを、短時間で簡単に乾燥させ、長期保存させるためのメンブレンです。ゲル中の水分は、BioDesignGelWrap の膜の細孔を通して容易に蒸発します。BioDesignGelFrame で固定することによって、ゲルは曲がったり、ひび割れたりすることなく、乾燥したゲルは 2 枚の BioDesignGelWrap に密封されます。

BioDesignGelWrap
（#G101）
Nacalai オンラインカタログへ

実験プロトコール

① BioDesignGelFrame と同じ大きさに切った BioDesignGelWrap を 2 枚用意します。

② BioDesignGelWrap を精製水に浸し、湿らせます。BioDesignGelWrap は数秒で湿気をおび半透明になります。

▶ BioDesignGelWrap は 1 分以上水に浸さないでください。ねじれて取り出しが困難になることがあります。

③ 湿らせた BioDesignGelWrap を BioDesignGelFrame（下部パーツ）の上に 1 枚のせ、気泡を除去します。

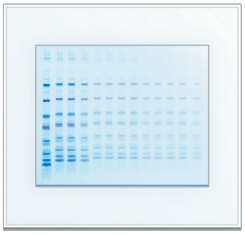
▶ 気泡は完全に除去してください。

BioDesignGelFrame
15.3 cm × 17.8 cm
（#04854-81）
Nacalai オンラインカタログへ

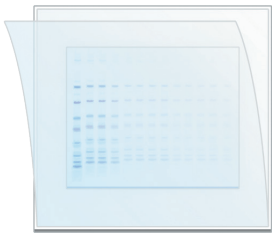
BioDesignGelFrame
20 cm × 20 cm
（#G103）
Nacalai オンラインカタログへ

BioDesignGelFrame
30.5 cm × 30.5 cm
（#G105）
Nacalai オンラインカタログへ

④ 乾燥させたいゲルをその上に置きます。

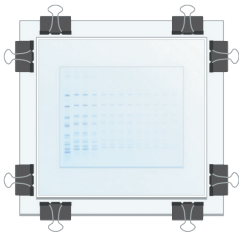


⑤ さらにその上から、湿らせたもう 1 枚の BioDesignGelWrap を重ね、もう一度気泡を除去します。



⑥ 最後に BioDesignGelFrame（上部パーツ）を上から重ね合わせ、付属のクリップで 4 カ所を固定し、そのまま自然乾燥させます。

▶ 厚さ 1 mm 以上のゲル、アガロースゲル、10% 濃度以上のアクリルアミドゲルなどは乾燥に時間を要することがあります。



⑦ ゲルが乾くと、ゲルと BioDesignGelWrap は完全に透明になります。BioDesignGelFrame のクリップを外し、取り出します。フレームにはさまれた未乾燥部分の BioDesignGelWrap を切り取れば完了です。

▶ ゲルが完全に乾燥するまで、フレームから BioDesignGelWrap を外したり、動かしたりしないでください。ゲルのひび割れ、曲がり、しわの原因となります。

動画アイコン付きプロトコールの末尾に記載の QR コードをクリック、またはスマートフォンなどで読み取ると、動画をご視聴いただけます。

ゲルの保存　アクリルアミドゲル割れ防止液を用いたゲルの保存

アクリルアミドゲル割れ防止液は、電気泳動、染色後の SDS-PAGE ゲルや PAGE ゲルの乾燥保存に使用します。

別途必要なもの

乾燥用フィルム、器材など

実験プロトコール

（100 mm × 100 mm × 1 mm ミニゲルの場合）

① 清潔なトレイに本液 50 mL を注ぎ込み、ゲルを浸して 20 ～ 25 分振とうします。本製品はゲルが完全に浸る量をご使用ください。

② 乾燥用フィルムの準備は、ゲル処理の終了 5 ～ 10 分前に行います。

③ 乾燥用フィルムを精製水に浸して湿らせた後、下部フレームに気泡が入らないように装着します（気泡が入る場合は、下部フレーム上に精製水約 10 mL をのせてフィルムを端から密着させる要領で装着してください）。

④ 精製水 50 mL を入れた別のトレイにゲルを浸し、約 5 秒水洗します。水洗時間を長くするとゲル割れ防止効果が失われますのでご注意ください。

⑤ 下部フレームに装着した乾燥用フィルム上に水洗したゲルを気泡が入らないように重ねます。そして、精製水 10 ～ 20 mL をゲル上にのせます。

⑥ ゲルの上に重ねる乾燥用フィルムを精製水に浸して湿らせた後、気泡が入らないようにフィルムの端から密着させる要領でゲル上に重ねます。そして、指でなでる要領で、フィルム間の余分な水分をフィルム外へ十分除去します。

⑦ 上部フレームを装着し、上部と下部のフレームをクリップなどの固定器具でしっかりと固定します。組み立てたフレームは、そのまま立てかけ 1 ～ 2 日室温放置します（立てかけたフレームの下にペーパータオルなどを置き、たれ落ちる水分を吸収させることを推奨します）。

⑧ 1 ～ 2 日放置後、ゲルが完全に乾燥してからフレームの固定器具を取り外し、端からはがす要領でフレームからフィルムにはさまれたゲルを取り外します。不要部分のフィルムをハサミなどで切り取り、ゲルを保存してください。台紙などに固定して保存することを推奨します。

（参考文献）Juang, R. H.; Chang, Y. D.; Sung, H. Y.; Su, J. C. Anal. Biochem. 1984, 141, p. 348-350.

▶ 本製品はエタノールを含んでいます。火気を避けて換気の良い場所で操作してください。

▶ CBB 染色は通常の使用方法でも少々脱色される場合があります。

▶ ゲルの厚さにより、本製品に浸す時間は異なります。過剰時間の処理は CBB 染色像の脱色、ゲルの過剰収縮、乾燥後のゲル白濁の原因になりますので避けてください。

▶ ④～⑥は、約 2 分で終了する要領で素早く操作してください。

アクリルアミドゲル割れ防止液
（#00860-11）

Nacalai オンラインカタログへ

QR コードは株式会社デンソーウェーブの登録商標です。

ご注意　試験・研究用以外には使用しないでください。

※掲載内容は予告なく変更になる場合があります。

ナカライテスク株式会社

〒604-0855　京都市中京区二条通烏丸西入東玉屋町 498

ウェブサイト　**https://www.nacalai.co.jp/**

価格・納期のご照会　試薬はここに ***0120-489-552***

製品に関する技術的なご照会　https://www.nacalai.co.jp/ss/Contact/

TEL:075−211−2703

■販売取扱店

よく解る 実験プロトコール 電気泳動 ver. 4.0 試薬一覧

製品名	毒劇物	規格・メーカー名	製品番号	容量	価格
Acetic Acid	—	SP（分子生物学用）	08885-45	500 mL	3,250
Acrylamide(monomer)	劇	SP（分子生物学用）	06114-24	100 g	3,200
			06114-95	500 g	9,900
			06114-11	1 kg	16,200
30(w/v)%-Acrylamide/Bis Mixed Solution(19:1), Nuclease tested	劇	SP（電気泳動用）	07175-75	500 mL	10,500
40(w/v)%-Acrylamide/Bis Mixed Solution(19:1), Nuclease tested	劇	SP（電気泳動用）	06140-45	500 mL	13,500
30(w/v)%-Acrylamide/Bis Mixed Solution(29:1)	劇	SP（電気泳動用）	06141-35	500 mL	10,500
40(w/v)%-Acrylamide/Bis Mixed Solution(29:1)	劇	SP（電気泳動用）	06119-45	500 mL	13,500
30(w/v)%-Acrylamide/Bis Mixed Solution(37.5:1)	劇	SP（電気泳動用）	06144-05	500 mL	10,500
40(w/v)%-Acrylamide/Bis Mixed Solution(37.5:1)	劇	SP（電気泳動用）	06121-95	500 mL	13,500
Acrylamide Gel Crack-proof Solution	—	SP（電気泳動用）	00860-11	1 L	9,000
Agarose for ≧ 1kbp fragment	—	SP（核酸電気泳動用）	01163-92	25 g	5,900
			01163-76	100 g	16,200
			01163-05	500 g	69,500
Agarose for ≧ 1kbp fragment(Fine Powder)	—	SP（核酸電気泳動用）	02468-24	10 g	2,100
			02468-66	100 g	16,500
			02468-95	500 g	75,500
Agarose-RE for ≧ 1kbp fragment, for Restriction and Ligation	—	SP（核酸電気泳動用）	01149-92	25 g	10,200
			01149-76	100 g	28,000
			01149-05	500 g	101,500
Agarose for 150~1,500bp fragment	—	SP（核酸電気泳動用）	01153-22	25 g	18,400
			01153-64	100 g	46,100
Agarose for 50~800bp fragment	—	SP（核酸電気泳動用）	01147-12	25 g	20,600
			01147-96	100 g	57,600
Agarose -LM Plaque for ≧ 1kbp fragment	—	SP（核酸電気泳動用）	01650-02	25 g	23,550
			01650-86	100 g	63,500
Agarose -LM Sieve for ≦ 1kbp fragment	—	SP（核酸電気泳動用）	01651-92	25 g	15,100
			01651-76	100 g	38,500
Albumin, Bovine Serum, Solution(2mg/ml) for Protein Assay	—	SP（生化学研究用）	00653-31	10 X 1 mL	8,600
Ammonium Peroxodisulfate	—	SP（分子生物学用）	06284-04	10 g	2,050
10(w/v)%-Ammonium Peroxodisulfate Solution	—	SP（電気泳動用）	02634-34	10 mL	4,000
BioDesignGelFrame, outer dimension 6 x 7 inches (15.3 cm x 17.8 cm)	—	BioDesign Inc. of New York	04854-81	1 set	9,000
BioDesignGelFrame, outer dimension 8 x 8 inches (20 cm)	—	BioDesign Inc. of New York	G103	1 set	15,000
BioDesignGelFrame, outer dimension 12 x 12 inches (30.5 cm)	—	BioDesign Inc. of New York	G105	1 set	20,000
BioDesignGelWrap 12 inch x 75 foot roll (30.5 cm x 23 m)	—	BioDesign Inc. of New York	G101	1 rol	16,000
Boric Acid	—	SP（分子生物学用）	05241-55	500 g	3,700
Bromophenol Blue	—	JIS 試薬特級	05808-61	1 g	2,500
			05808-32	25 g	7,000
Bullet Blocking One for Western Blotting	—	SP（免疫化学用）	13779-56	50 mL	2,000
			13779-14	200 mL	4,800
			13779-01	1 L	19,700
Bullet CBB Stain One(Ready To Use)	—	SP（電気泳動用）	13542-94	50 mL	5,500
			13542-65	500 mL	27,000
			13542-81	1 L	44,000
Bullet ImmunoReaction Buffer	—	SP（免疫化学用）	18439-85	500 mL	18,000

製品名	毒劇物	規格・メーカー名	製品番号	容量	価格
Bullet PAGE One Precast Gel, 5-11%, 13wells	—	SP（電気泳動用）	13077-04	10 sheets	21,000
Bullet PAGE One Precast Gel, 5-11%, 17wells	—	SP（電気泳動用）	13078-94	10 sheets	21,000
Bullet PAGE One Precast Gel, 5-15%, 13wells	—	SP（電気泳動用）	13079-84	10 sheets	21,000
Bullet PAGE One Precast Gel, 5-15%, 17wells	—	SP（電気泳動用）	13080-44	10 sheets	21,000
Bullet PAGE One Precast Gel, 6%, 13wells	—	SP（電気泳動用）	13081-34	10 sheets	21,000
Bullet PAGE One Precast Gel, 6%, 17wells	—	SP（電気泳動用）	13082-24	10 sheets	21,000
Bullet PAGE One Precast Gel, 8%, 13wells	—	SP（電気泳動用）	13083-14	10 sheets	21,000
Bullet PAGE One Precast Gel, 8%, 17wells	—	SP（電気泳動用）	13084-04	10 sheets	21,000
Bullet Semi-dry Transfer One	—	SP（免疫化学用）	15353-01	1 L	9,000
1-Butanol	—	JIS 試薬特級	06016-85	500 mL	1,270
CBB Stain One(Ready To Use)	—	SP（電気泳動用）	04543-51	1 L	13,000
			04543-64	5 L	55,000
CBB Stain One Super(Ready To Use)	—	SP（電気泳動用）	11642-44	100 mL	2,500
			11642-31	1 L	14,500
CHAPS	—	SP（難溶性タンパク質研究用）	07957-51	1 g	2,800
			07957-64	5 g	11,000
			07957-22	25 g	38,000
Chemi-Lumi One Markers Kit	—	SP（免疫化学用）	06456-70	1 kit	27,000
Coomassie Brilliant Blue G-250	—	SP（電気泳動用）	09409-42	25 g	6,800
Dispotray-M	—	—	16551-84	20 pieces	2,000
Dispotray-S	—	—	16526-82	25 pieces	2,000
Dispotray-SS	—	—	19386-74	40 pieces	2,000
Dithiothreitol	—	SP（分子生物学用）	14128-46	100 mg	2,600
			14128-91	1 g	8,400
			14128-04	5 g	24,400
			14128-62	25 g	36,600
DNA Ladder One(Broad Range)(Ready To Use)	—	SP（核酸電気泳動用）	08362-85	500 µL	15,000
100bp DNA Ladder One(Ready To Use)	—	SP（核酸電気泳動用）	07908-75	500 µL	14,000
1kbp DNA Ladder One(Ready To Use)	—	SP（核酸電気泳動用）	08232-85	500 µL	12,000
Dual Green Nucleic Acid Stain	—	SP（核酸電気泳動用）	20599-54	100 µL	3,000
			20599-41	1 mL	20,000
0.5mol/l-EDTA Solution(pH 8.0)	—	SP（分子生物学用）	14347-21	1 L	7,000
Ethanol(99.5)	—	SP（分子生物学用）	08948-54	100 mL	2,100
			08948-25	500 mL	5,200
Ethidium Bromide Solution(10mg/ml)	—	SP（核酸電気泳動用）	14631-94	10 mL	8,300
Ethidium Bromide Solution(0.44mg/ml)	—	SP（核酸電気泳動用）	02393-94	10 mL	5,400
Extra PAGE One Precast Gel, 5-10%, 13wells	—	SP（電気泳動用）	13059-44	10 sheets	19,500
Extra PAGE One Precast Gel, 5-10%, 17wells	—	SP（電気泳動用）	13060-04	10 sheets	19,500
Extra PAGE One Precast Gel, 5-15%, 13wells	—	SP（電気泳動用）	13061-94	10 sheets	19,500
Extra PAGE One Precast Gel, 5-15%, 17wells	—	SP（電気泳動用）	13062-84	10 sheets	19,500
Extra PAGE One Precast Gel, 5-20%, 13wells	—	SP（電気泳動用）	13063-74	10 sheets	19,500
Extra PAGE One Precast Gel, 5-20%, 17wells	—	SP（電気泳動用）	13064-64	10 sheets	19,500
Extra PAGE One Precast Gel, 7.5-15%, 13wells	—	SP（電気泳動用）	13065-54	10 sheets	19,500
Extra PAGE One Precast Gel, 7.5-15%, 17wells	—	SP（電気泳動用）	13066-44	10 sheets	19,500
Extra PAGE One Precast Gel, 10-20%, 13wells	—	SP（電気泳動用）	13067-34	10 sheets	19,500
Extra PAGE One Precast Gel, 10-20%, 17wells	—	SP（電気泳動用）	13068-24	10 sheets	19,500
Extra PAGE One Precast Gel, 7.5%, 13wells	—	SP（電気泳動用）	13069-14	10 sheets	19,500
Extra PAGE One Precast Gel, 7.5%, 17wells	—	SP（電気泳動用）	13070-74	10 sheets	19,500
Extra PAGE One Precast Gel, 10%, 13wells	—	SP（電気泳動用）	13071-64	10 sheets	19,500
Extra PAGE One Precast Gel, 10%, 17wells	—	SP（電気泳動用）	13072-54	10 sheets	19,500
Extra PAGE One Precast Gel, 12.5%, 13wells	—	SP（電気泳動用）	13073-44	10 sheets	19,500
Extra PAGE One Precast Gel, 12.5%, 17wells	—	SP（電気泳動用）	13074-34	10 sheets	19,500
Extra PAGE One Precast Gel, 15%, 13wells	—	SP（電気泳動用）	13075-24	10 sheets	19,500
Extra PAGE One Precast Gel, 15%, 17wells	—	SP（電気泳動用）	13076-14	10 sheets	19,500
Formaldehyde Solution	劇	JIS 試薬特級	16223-55	500 g	900

製品名	毒劇物	規格・メーカー名	製品番号	容量	価格
Formamide	―	SP（分子生物学用）	02020-64	100 mL	4,600
GelGreen Nucleic Acid Gel Stain, 10,000X in DMSO	―	Biotium, Inc.	41004	0.5 mL	22,000
GelGreen Nucleic Acid Gel Stain, 10,000X in Water	―	Biotium, Inc.	41005-T	0.1 mL	5,000
			41005	0.5 mL	24,000
			41005-1	10 mL	366,000
Gel-Negative Stain Kit for SDS-PAGE	―	SP（電気泳動用）	16660-41	1 kit	14,000
GelRed Nucleic Acid Gel Stain, 10,000X in DMSO	―	Biotium, Inc.	41002	0.5 mL	24,000
			41002-1	10 mL	392,000
GelRed Nucleic Acid Gel Stain, 10,000X in Water	―	Biotium, Inc.	41003-T	0.1 mL	6,000
			41003	0.5 mL	25,000
			41003-1	10 mL	412,000
GelRed Nucleic Acid Gel Stain, 3X in Water	―	Biotium, Inc.	41001	4 L	50,000
Glycerol	―	SP（分子生物学用）	17045-94	100 mL	3,150
			17045-65	500 mL	6,400
Glycine	―	SP（分子生物学用）	17141-24	100 g	2,150
			17141-95	500 g	4,550
His-Detect In-Gel Stain	―	SP（電気泳動用）	08500-94	100 mL	4,800
			08500-65	500 mL	16,800
6mol/l-Hydrochloric Acid	劇	容量分析用	37313-25	500 mL	1,550
1mol/l-Hydrochloric Acid	―	SP（バイオテクノロジーグレード）	11677-75	500 mL	3,450
Iodoacetamide	―	SP（SH 基タンパク質研究用）	19302-54	5 g	8,700
Loading Dye Brilliant Color(6x)	―	SP（電気泳動用）	11943-91	1 mL	1,000
Lumitein Protein Gel Stain 1X	―	Biotium, Inc.	21001	200 mL	16,000
			21001-1	1 L	46,000
			21001-2	5 L	198,000
Lumitein Protein Gel Stain 100X	―	Biotium, Inc.	21002	2 mL	12,000
			21002-1	10 mL	34,000
			21002-2	50 mL	154,000
2-Mercaptoethanol	毒	SP（分子生物学用）	21438-82	25 g	2,650
Methanol	劇	SP（分子生物学用）	06068-44	100 mL	2,150
			06068-15	500 mL	2,700
N,*N*'-Methylenebisacrylamide	―	SP（分子生物学用）	22407-52	25 g	5,000
MOPS	―	SP（分子生物学用）	23438-64	100 g	10,800
			23438-35	500 g	35,900
MOPS Buffer Stock Solution(10x)(pH 7.0)	―	SP（分子生物学用）	23442-81	1 L	14,000
Orange G	―	EP	25401-22	25 g	5,400
PAGE Clean Up Kit	―	SP（電気泳動用）	06441-50	1 kit	39,000
Phosphatase Inhibitor Cocktail	―	SP（生化学研究用）	07574-61	1 mL	16,000
Phosphatase Inhibitor Cocktail(EDTA free)	―	SP（生化学研究用）	07575-51	1 mL	16,000
Protease Inhibitor Cocktail(EDTA free)(100x)	―	SP（生化学研究用）	03969-21	5 X 1 mL	25,500
			03969-34	15 X 1 mL	72,000
Protease Inhibitor Cocktail for General Use(100x)	―	SP（生化学研究用）	04080-24	1 mL	7,000
			04080-11	5 X 1 mL	25,500
Protease Inhibitor Cocktail for Use with Mammalian Cell and Tissue Extracts	―	SP（生化学研究用）	25955-24	1 mL	8,500
			25955-11	5 X 1 mL	31,000
Protein Assay BCA Kit	―	SP（生化学研究用）	06385-00	1 kit	15,000
Protein Assay BCA Reductant Adaptable Reagent	―	SP（生化学研究用）	21014-80	1 kit	15,000
Protein Assay CBB Clean Up Kit	―	SP（生化学研究用）	11611-60	1 kit	9,700
Protein Assay CBB Solution(Ready To Use)	―	SP（生化学研究用）	11617-71	1 L	13,500
Protein Assay CBB Solution(5x)	―	SP（生化学研究用）	29449-44	100 mL	5,800
			29449-15	500 mL	23,000
Protein Assay Lowry Kit	―	SP（生化学研究用）	29470-60	1 kit	12,000
Protein Ladder One Plus, Triple-color for SDS-PAGE	―	SP（電気泳動用）	19593-25	500 µL	19,500
Protein Markers(M.W. 6,500~200,000)(10x) for SDS-PAGE	―	SP（電気泳動用）	29458-24	200 µL	28,000

製品名	毒劇物	規格・メーカー名	製品番号	容量	価格
Rapid Running Buffer Solution(20x) for SDS-PAGE	—	SP（電気泳動用）	12981-74	250 mL	5,200
Rapid Stain CBB Kit	—	SP（電気泳動用）	30035-14	1 set	9,500
RIPA Buffer(10x)	—	SP（タンパク質研究用）	08714-04	1 set	14,500
RIPA Buffer	—	SP（タンパク質研究用）	16488-34	100 mL	10,500
RNase Quiet	—	SP（分子生物学用）	09147-14	475 mL	3,900
RNase Quiet for Replacement	—	SP（分子生物学用）	09477-94	475 mL	3,600
Running Buffer Solution(10x) for PAGE	—	SP（電気泳動用）	30340-91	1 L	5,500
Running Buffer Solution(10x) for SDS-PAGE, Tris-Glycine	—	SP（電気泳動用）	30329-61	1 L	5,700
			30329-74	5 L	24,000
Sample Buffer Solution with 2-ME(2x) for SDS-PAGE	毒	SP（電気泳動用）	30566-22	25 mL	5,700
Sample Buffer Solution without 2-ME(2x) for SDS-PAGE	—	SP（電気泳動用）	30567-12	25 mL	5,600
Sample Buffer Solution with Reducing Reagent(6x) for SDS-PAGE	—	SP（電気泳動用）	09499-14	5 mL	6,200
Sample Buffer Solution without Reducing Reagent(6x) for SDS-PAGE	—	SP（電気泳動用）	09500-64	5 mL	5,600
10%-SDS Solution	—	SP（生化学研究用）	30562-04	100 mL	6,300
Separating Gel Buffer Solution(4x) for SDS-PAGE	—	SP（電気泳動用）	30651-05	500 mL	8,000
Sil-Best Destain Kit	—	SP（電気泳動用）	07983-30	1 kit	7,500
Sil-Best Stain-Neo for Protein and Nucleic Acid/PAGE	—	SP（電気泳動用）	05773-11	1 set	14,500
Sil-Best Stain One	—	SP（電気泳動用）	06865-81	1 set	11,500
Sodium Acetate	—	SP（分子生物学用）	31137-12	25 g	1,900
			31137-25	500 g	3,600
1mol/l-Sodium Hydroxide Solution	—	SP（バイオテクノロジーグレード）	11678-65	500 mL	3,850
Sodium Lauryl Sulfate	—	SP（分子生物学用）	08933-92	25 g	3,050
			08933-34	100 g	5,750
			08933-05	500 g	16,900
Stacking Gel Buffer Solution(4x) for SDS-PAGE	—	SP（電気泳動用）	32158-25	500 mL	8,600
Stacking Gel Buffer Solution(4x) with Dye for SDS-PAGE	—	SP（電気泳動用）	09268-34	100 mL	3,600
N,*N*,*N'*,*N'*-Tetramethylethylenediamine	—	SP（電気泳動用）	33401-72	25 g	2,000
Tricine	—	SP（バイオテクノロジーグレード）	02437-24	100 g	9,900
Tris-Acetate-EDTA Buffer(10x)	—	SP（核酸電気泳動用）	35430-61	1 L	5,800
			35430-74	5 L	18,000
Tris-Acetate-EDTA Buffer(50x)	—	SP（核酸電気泳動用）	32666-81	1 L	12,000
Tris-Borate-EDTA Buffer(5x)	—	SP（核酸電気泳動用）	35432-41	1 L	5,800
Tris-Borate-EDTA Buffer(10x)	—	SP（核酸電気泳動用）	35440-31	1 L	7,000
			35440-44	5 L	19,000
Tris(hydroxymethyl)aminomethane	—	SP（分子生物学用）	35434-76	100 g	4,250
			35434-05	500 g	10,500
			35434-21	1 kg	16,400
Urea	—	SP（分子生物学用）	35940-65	500 g	6,350
Water deionized & sterilized	—	SP（バイオテクノロジーグレード）	06442-95	500 mL	2,200
WIDE RANGE Gel Preparation Buffer(4x) for PAGE	—	SP（電気泳動用）	07831-94	250 mL	11,500
Xylene Cyanol FF	—	JIS 試薬特級	36629-64	5 g	10,500

ご注意　試験・研究用以外には使用しないでください。

※掲載内容は予告なく変更になる場合があります。
※掲載価格は 2023 年 4 月現在のものです（消費税は含まれていません）。

ナカライテスク株式会社

■販売取扱店

〒604-0855　京都市中京区二条通烏丸西入東玉屋町 498

URL　**https://www.nacalai.co.jp/**

価格・納期のご照会　試薬はここに **0120-489-552**

製品に関する技術的なご照会　https://www.nacalai.co.jp/ss/Contact/
TEL:075-211-2703