

ウエスタンブロットの電気泳動

ゲル：その都度確認する。

Buffer：1×Running buffer

マーカ－： BLUUltra Maker

- 1) サンプルを冷凍庫から出し、解凍する。
 - 2) Heat Block **あるいは BLOCK INCUBATOR** で boil (95℃、5min)
※boil する際チューブのフタが開かないように黄色のキャップをつける。
Boil する時間はなるべく正確に。
 - 3) サンプルを冷まして spin down
 - 4) 超音波処理を行う。
使用機器は QSonica 、プローブは MDEL CL-188、
設定は「THUMB SWITH」、「AMPLITUDE」15
プローブの先をチューブの底から少し浮かし、1秒を5回程度、粘着性が無くならなければ再度繰り返す。
プローブの先は、予め70%エタノールで湿したプロワイプで清拭しておく。
エタノールを蒸散させてからプローブをサンプルに入れること。
Sample を変える度に、70%エタノールで湿したプロワイプで清拭する。
Spin down
- 泳動槽を準備する。
ゲルは袋から取出し、水道水ですすぐ。
- 5) ゲルをセットする。
 - 6) 一度セットしたゲルを取り外し、再度セットする。
※緑色のシールとコムを取り除く。
 - 6) 1×Running buffer を泳動槽に入れる。
使用するゲルの枚数に合わせて buffer を入れる。
※2枚ゲルを使用する時は「2Gel」のラインにあわせて buffer を入れるとゲルが浮いてしまうので、ラインの1cm下までに止める。4枚ゲルを使用する時は、ゲルの半分くらいまで(2Gelのライン辺り)入れる。

7) サンプルと Maker を apply する。

* 右端は細胞が入っていない 1x sample buffer を入れると右側のバンドが広がらない。

サンプルは 10 μ l

BLUltra Maker は 2.0 μ l Rainbow Maker は 2.5 μ l

Normal Marker は 1 μ l

8) 泳動

※泳動時間等はその都度確認。

200V、40min (PCNA 用)

200V、30min (H2AX 用)