

電気泳動用ゲルプレート

マルチゲルIIミニ

【はじめに】

マルチゲルIIミニは、不連続緩衝液系のポリアクリルアミドゲル電気泳動法に準拠して調製したゲルプレートです。

ゲルは、サンプル処理方法及び泳動用バッファの選択により、Davisにより考案されたnative PAGEによるタンパク質の分析、Laemmliにより考案されたSDS-PAGEによる分析及び不連続電気泳動法による核酸の分析のいずれにも使用することができます。

【使用上の注意】

- ゲルプレートは冷蔵保存して下さい。凍結するとゲルが破損しますので絶対に凍結させないで下さい。
- プレートはガラス製です。取扱いの際は手などを切らぬよう、十分ご注意ください。特に破損すると危険ですのでプレート上に物を置いたり、落としたりしないようお願いいたします。
- 包装は泳動直前に開封して下さい。
- コームが抜きにくい時は、コーム周辺に泳動用バッファまたは精製水をかけてから少しずつコームをずらすようにして抜いて下さい。
- コームを抜き取った際にウェルがゆがんだ場合は、マイクロシリンジの先等で矯正して下さい。また、ウェルにゲルの薄膜ができていた場合は、ロ紙等で薄膜を取り除いて下さい。
- ゲルプレートが泳動槽に正しくセットされていないと、液もれやガラス板の破損を生ずる場合がありますので、正しくセットされているかチェックして下さい。
- ゲルプレートをカセット電気泳動槽DPE-1020(品番:303111)でご使用の際、ウェッジを差し込みすぎるとゲルプレートがゆがみ、ガラス板とゲルの間に隙間が生じることがあります。ウェッジ差し込みの目安は、ゲルプレートの上端と同じ高さです。下まで差し込まないで下さい。
- ゲルをガラス板からはがす時、ゲルに傷をつけたり破いたりしないように注意して下さい。特に2/15はウェル部分が柔らかいので取扱いに注意して下さい。
- サンプル中の塩濃度が極端に高い場合は泳動像に乱れを生ずることがありますので、透析等の処理をしてから電気泳動して下さい。

【特徴】

- レディメイドゲルですのでゲル作製の煩雑さから解放され、手間がかかりません。
- 短時間で分離の良いタンパク質、DNAの電気泳動像が得られます。
- 再現性の良いデータが得られます。
- native PAGE、SDS-PAGE、DNAの分離分析のいずれにも使用できます。

【適応】

スラブ型ポリアクリルアミドゲル電気泳動によるタンパク質及びDNAの分離・分析用。

【内容】

ゲルプレート 5枚入(1プレート:13ウェル, 17ウェル, 1ウェル(2D用))
 ゲルサイズ: 85(W)×90(L)×0.9(T)mm
 プレートサイズ: 100(W)×100(L)×3.1(T)mm

【使用法】

I. 使用器具

- メスシリンダー
- 泳動槽
- スタビライザー
- マイクロシリンジ
- ミクソバール
- 染色用バット

注) 泳動槽は、別売の専用水冷式電気泳動槽(カセット電気泳動槽「第一」)が便利です。また、一部の他社市販泳動槽にも使用できますので、お問い合わせ下さい。

II. 電気泳動条件

1. native PAGE (Davis法)

- ①サンプル処理液(別売)
Davis法**及びその変法
** 0.125mol/Lトリス-塩酸(PH6.8)、30%グリセロール、0.01%BPB
- ②泳動用バッファ(PH8.4)(別売)
0.025mol/Lトリス、0.192mol/Lグリシン
- ③泳動条件
15mA定電流(約100分)

2. SDS-PAGE (Laemmli法)

- ①サンプル処理液(別売)
Laemmli法**及びその変法
** 0.125mol/Lトリス-塩酸(PH6.8)、4.3%SDS、30%グリセロール、10%2-メルカプトエタノール、0.01%BPB
- ②泳動用バッファ(PH8.4)(別売)
0.025mol/Lトリス、0.192mol/Lグリシン、0.1%SDS
- ③泳動条件
30mA定電流(約60分)もしくは200V定電圧(約60分)

3. DNA

- ①サンプル処理液
DNA用**
** 20%グリセロール、0.25%BPB、0.25%キシレンシアノールFF、分析目的によりバッファ、EDTA、ホルムアミド等を添加する
- ②泳動用バッファ(PH8.4)(別売)
0.025mol/Lトリス、0.192mol/Lグリシン
- ③泳動条件
15mA定電流(約100分)

III. 操作法

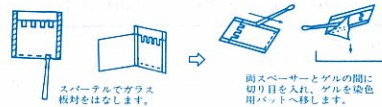
- ゲルプレートを袋から取り出し、コームを抜き取ります。



コームは両手の親指を使って、素早く上に抜き取ります。ウェル部の枠が曲がってしまった場合、チップマイクロシリンジを用いて修正してください。

- ゲルプレートを泳動槽にセットします。
- 泳動槽に泳動用バッファを満たします。(この時、バッファもれのないことを確認して下さい。)
- ゲルプレートのウェルにマイクロシリンジでサンプルをアプライします。(最大アプライ量は13ウェルタイプゲルが25μL、17ウェルタイプゲルが15μLですが、共に10μL以下のご使用をお勧めします。(2Dを除く)。また、17ウェルタイプゲルの向かって右端のウェルはマーカー用として少し狭くなっており最大10μLアプライできますが5μL以下のご使用をお勧めします。)

- ゲル1枚当たり、SDS-PAGEの場合30mA、nativePAGE・DNAの場合15mA定電流で泳動します。BPBがゲルプレートの下端から0.5cm程度まで移動したとき、泳動を終了して下さい。
- バッファを捨ててからゲルプレートを泳動槽から取りはずします。
- 図の様に短いガラス板を手前にし、スバーテルなどでガラス板対をはなしてゲルを取り出します。目的に応じて色素染色・銀染色やブロッディングを行って下さい。



【参考】

1. トラブルシューティング

トラブル	チェックポイント
1) 泳動中にガラス板が割れる。	a) 電流が流れすぎているか。 b) 上部バッファ槽に液があるか。 c) ゲルプレートが泳動槽に正しくセットされているか。
2) 泳動像が乱れる。	a) バッファもれがないか。 b) サンプル中の塩濃度が高すぎないか。 c) サンプルアプライ量が多すぎないか。 d) メルカプトエタノールの影響はないか。*

* SDS-PAGEにおいて、メルカプトエタノールが入ったサンプルと入らないサンプルをとりあったレーンで同時に泳動すると、バンドのゆがみを生ずることがあります。

【貯法】

2-10℃ 凍結不可

【使用期限】

外装に記載

【参考文献】

- Davis, B. J.: Ann. N. Y. Acad. Sci., 121, 404(1964)
- Laemmli, U. K.: Nature, 227, 680(1970)
- 高木ら: 蛋白質核酸酵素, 21, 811(1976)
- "蛋白質・酵素の基礎実験法", 堀尾武一, 山下仁平編, 南江堂(1981)
- 五十嵐, 中山: 臨床検査, 26, 1508(1982)
- "電気泳動便覧", 電気泳動学会編(1983)
- Linke, R. P.: Anal. Biochem., 141, 55(1984)
- Irwin, D. et al.: Atherosclerosis, 53, 163(1984)
- 門屋ら: 分析化学, 34, 151(1985)
- 奥山ら: 生物物理化学, 29, 237(1985)

For research use only

Polyacrylamide Gel for Electrophoresis

MULTIGEL II Mini

for Cassette Electrophoresis Unit

[Cautions]

1. Gel cassette should be stored in refrigerator but should not be frozen.
2. Gel cassette should be handled carefully because its support plate is breakable glass.
3. Gel cassette should be taken out of package just before use.
4. If the comb is hard to remove, wet the comb area with running buffer or distilled water and gently slide the comb upward with thumbs.
5. If a gel cassette is not properly mounted on the apparatus, leakage of buffer or breakage of glass plate may occur.
6. If the shape of well is deformed when the comb is removed, fix it with the tip of microsyringe. Also if thin layer of gel is formed around a well, remove it.
7. When mounting gel plates on the Cassette Electrophoresis Unit, (Model DPE-1020; Cosmo Bio Catalog No. 303111) do not insert the top of the wedge below the top of the gel plate. Inserting the wedge too far can warp the gel plate, causing a gap between the glass plate and gel.
8. Special care must be taken when removing gel off the cassette. Do not damage the gel. Especially, 2/15 gel has soft wells and requires care during handling.
9. If salt content of sample is too high, it may disturb migration of sample on the gel. In that case, dialize the sample prior to electrophoresis.

[Intended use]

MULTIGEL II Mini is designed for polyacrylamide gel electrophoresis with the discontinuous buffer system.

- Protein/SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) with Laemmli's discontinuous buffer system.
- Protein/native-PAGE with Davis's discontinuous buffer system.
- Deoxyribo nucleic acid/PAGE with discontinuous buffer system.

[Features]

1. No special preparation required (ready-to-use form)
2. High resolution in short time
3. Excellent reproducibility
4. Can be used for all of native-PAGE, SDS-PAGE, and Deoxyribo nucleic acid analysis.

[Contents]

Package : 5 gel plates per pack (13 wells, 17 wells, 1 well (for 2D))
Gel dimensions : 85(W)×90(L)×0.9(T)mm
Cassette size : 100(W)×100(L)×3.1(T)mm

[Operation]

I. Required Equipments

- Graduated cylinder
- Microsyringe
- Microspatula
- Staining tray
- Power supply (constant current)

II. Electrophoresis condition

Note: Optimum electrophoresis conditions shall be determined according to user's apparatus and experimental purposes.

1. Native PAGE (Davis's method)
 - ① Loading buffer (for Davis's method and its modified methods) (PH6.8)
 - 0.125mol/L Tris-HCl
 - 30% Glycerol
 - 0.01% BPB
 - ② Electrode buffer (PH8.4)
 - 0.025mol/L Tris
 - 0.192mol/L Glycine
 - ③ Running condition
 - 15mA constant current (per each gel cassette)
 - Approx. 100 minutes (Typical time. This may vary.)
2. SDS-PAGE (Laemmli's method)
 - ① Loading buffer (for Laemmli's method and its modified methods) (PH6.8)
 - 0.125mol/L Tris-HCl
 - 4.3% SDS
 - 30% Glycerol
 - 10% 2-Mercaptoethanol
 - 0.01% BPB
 - ② Electrode buffer (PH8.4)
 - 0.025mol/L Tris
 - 0.192mol/L Glycine
 - 0.1% SDS
 - ③ Running condition
 - 30mA constant current (per each gel cassette), approx. 60 minutes (Typical time. This may vary.) or 200V constant voltage, approx. 60 minutes (Typical time. This may vary.)
3. Deoxyribo nucleic acid
 - ① Loading buffer
 - 20% Glycerol
 - 0.25% BPB
 - 2.5% Xylenecyanol FF
 - Add buffer, EDTA, formamide, or the like to fit purpose of the analysis.
 - ② Electrode buffer (PH8.4)
 - 0.025mol/L Tris
 - 0.192mol/L Glycine
 - ③ Running condition
 - 15mA constant current (per each gel cassette)
 - Approx. 100 minutes (Typical time. This may vary.)

III. General procedure

- 1) Open the package.
- 2) Take the gel cassette out of the package and remove the comb from gel.



Use thumbs to remove comb in one smooth, steady motion.
Use pipette tip or syringe needle to straighten wells as required.

- 3) Set the gel cassette to the electrophoresis device.
- 4) Fill the cathode buffer chamber with running buffer, confirming that buffer is not leaking. Repeat the gel plate attachment if leakage is

observed. Cathode buffer should be filled to about 5mm above top of sample well to immerse gel completely.

- 5) Fill the anode buffer chamber with running buffer. Confirm that air bubbles are not trapped under the gel cassette. (Small quantity of air bubble can be ignored.)
- 6) Apply sample to the wells with microsyringe. Although each well can contain as much as 25μL (13 well gel) and 15μL (for 17 well) of sample solution, recommended amount for the best result is up to 10μL/well for both types, except for 2D. As to 17 well version, the rightmost well is made narrower for marker application whose capacity is 10μL and recommended volume is 5μL.
- 7) Attach the electrodes to the device with the positive (red) lead connecting to the anode buffer chamber.
Note: Always make sure that electric power is "off" before attaching the receptacle with cover to the apparatus.
- 8) Run electrophoresis at 30mA of constant current per each gel cassette for SDS-PAGE. In case of native-PAGE or Deoxyribo nucleic acid/PAGE, run at 15mA of constant current per gel cassette.
- 9) After turning off the power, remove the electrode receptacle from device with one hand.
Note: Make sure that power is turned "off" before pulling the receptacle out.
- 10) Take the cathode buffer chamber from the anode buffer chamber, and discard the electrode buffer.
- 11) Remove the gel cassette from device.
- 12) Use a microspatula to gently open the gel cassette, and cut the gel along the spacers. Remove the gel off the cassette to the detection procedures.



[Trouble shooting]

Trouble	Probable Cause
Glass plates crack during electrophoresis	1) Current is too high 2) Buffer is not in cathode buffer chamber 3) Gel cassette is not mounted properly
Disturbed migration pattern	1) Buffer is leaking 2) Salt content of sample is too high 3) Applied sample quantity is too high 4) Sample contains mercaptoethanol*

* Migration disturbance may occur if sample contained mercaptoethanol is run next to sample which does not contain it.

[Storage]

2 ~ 10°C (Do not freeze)

[Expiration date]

Printed on the package

[References]

- 1) Davis, B.J.: Am. N. Y. Acad. Sci., 121, 404 (1964)
- 2) Laemmli, U.K.: Nature, 227, 680 (1970)
- 3) Takagi et al.: Protein Nucleic Acid Enzyme, 21, 811 (1976)
- 4) Basic Experimental Methods of Proteins and Enzymes: Ed. Horio, T. and Yamashita, J., Nankodo Press (1981)
- 5) Igarashi and Nakayama: J. Med. Technol., 26, 1508 (1982)
- 6) Electrophoresis Data Book: Ed. The Society of Electrophoresis (1983)
- 7) Linke, R.P.: Anal. Biochem., 141, 55 (1984)
- 8) Irwin, D. et al.: Atherosclerosis, 53, 163 (1984)
- 9) Kadoya et al.: Bunsekikagaku, 34, 151 (1985)
- 10) Okuyama et al.: The Physico-Chemical Biology, 29, 237 (1985)

[Limited Warranty]

DAIICHI warrants that its polyacrylamide gradient gel shall be free from defects in material and workmanship at the time of shipment. The sole and exclusive remedy of the customer for any liability of DAIICHI of any kind including liability based upon warranty is limited to replacement of the goods or the refund of the invoice price of the goods. DAIICHI shall not in any case be liable for special, incidental or consequential damages of any kind. The data contained herein is based on reliable information, but not guaranteed to be so.



COSMO BIO CO., LTD.

URL : <http://www.cosmobio.co.jp/>